



FAV

UNRC

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO

FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

Trabajo Final presentado para optar al Grado de Médico Veterinario

Modalidad: Proyecto de investigación y desarrollo tecnológico.

“Resistencia a los antiparasitarios en equinos naturalmente infectados, en establecimientos de la región centro de Argentina”.

Peñafort Raimundo

DNI: 38.477.661

Director: Méd. Vet. Motta Carlos Eugenio

Codirector: Méd. Vet. Lombardelli Joaquín

Río Cuarto - Córdoba

Junio, 2019

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA
CERTIFICADO DE APROBACIÓN**

Título del Trabajo Final: Resistencia a los antiparasitarios en equinos naturalmente infectados, en establecimientos de la región centro de Argentina.

Autor: Peñafort Raimundo

DNI: 38477661

Director: Méd. Vet. Motta Carlos Eugenio

Co-Director: Méd. Vet. Lombardelli Joaquín

Aprobado y corregido de acuerdo con las sugerencias de la Comisión Evaluadora:

MSc. M.V. Losinno Santiago _____

MSc. M. V. Lovera Hernán _____

Fecha de Presentación: ____/____/____.

Secretario Académico

DEDICATORIA

A mi Mama y Papa por su amor, reflejado en darme la vida, en su apoyo incondicional a toda hora, en su esfuerzo diario para que, desde chiquito, nunca me falte nada, en educarme, en sus caricias, sus consejos, su confianza, sus besos y abrazos, en dar siempre todo para que sea feliz. Por educarme en valores, que hoy son mi mejor currículum. Por ser testimonios y ejemplos de vida.

A mis hermanos, por su compañía, sus risas, su cariño y su amor. Por siempre regalarme un ratito de su tiempo para compartirlo conmigo. Por cuidarme.

A mis abuelos, el Tata y la Aidé, que siempre me están a mi lado, por sus consejos, enseñanzas y su amor. Por tener siempre los nietos en primer lugar. Por preocuparse para siempre verme feliz.

A toda mi hermosa familia...

A mis amigos, por compartir tantas cosas conmigo, en especial, su tiempo. Por siempre sacarme una sonrisa.

¡GRACIAS! Sin ustedes, este sueño no hubiese sido posible.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, que me regaló esta vida.

De manera especial al M.V Carlos Motta, mi Director de trabajo final de grado, por su compromiso, dedicación y enseñanza continúa. Por ocuparse de mi crecimiento académico y como persona. Por su calidad humana.

A los Profes Joaquín Lombardelli y Hernán Lovera, por sus valiosos aportes científicos, en especial por el acompañamiento y enseñanza continuas.

A mi amigo, el M.V Santiago José Losinno, por ser pilar fundamental en mi formación profesional desde el inicio de la carrera, y mucho más allá del aula.

A mis amigos, compañeros de Universidad y a los docentes, por ayudarme desinteresada y generosamente con la elaboración de esta tesis.

A Vivian Martin y Guillermo Bagnis, que me acompañan desde la infancia, aconsejándome y enseñándome más allá de los contenidos disciplinares.

A los propietarios (en especial a la familia Beacon) y personal de trabajo de todos los establecimientos visitados, por abrirme las puertas para investigar los animales que aportaron a la ciencia.

A la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Nacional de Río Cuarto por apostar a la formación integral de los ciudadanos que necesita nuestro país y por darme la posibilidad de concretar mi sueño profesional.

Y en especial, este agradecimiento A TODOS MIS SERES QUERIDOS por construirme como persona, incentivándome a cumplir mi sueño y convertirme en lo que ahora soy...

$$VP = (C + H) \times A$$

Victor Küppers

ÍNDICE

DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTOS	II
RESUMEN	IV
INTRODUCCIÓN	2
HIPÓTESIS.....	9
OBJETIVOS	9
MATERIAL Y MÉTODOS.....	11
RESULTADOS:	14
1. ENCUESTA.....	14
2. DIAGNÓSTICO COPROPARASITOLÓGICO	15
3. CULTIVO DE LARVAS.....	17
4. TEST DE REDUCCIÓN DEL CONTEO DE HUEVOS. (TRCH).....	18
DISCUSIÓN:	20
ENCUESTA:	20
DIAGNÓSTICO COPROPARASITOLÓGICO:	21
CULTIVO DE LARVAS:	22
RESISTENCIA ANTIHELMINTICA:	23
CONCLUSIONES	27
BIBLIOGRAFIA	29
ANEXO 1: Encuesta:.....	36
ANEXO 2: Técnicas parasitológicas:	37

RESUMEN

Los nemátodos son patógenos importantes y afectan principalmente el tracto gastrointestinal de los caballos. Dentro de ellos, se encuentran la subfamilia Strongylinae (grandes estróngilos) y Cyathostominae (pequeños estróngilos). De los grandes estróngilos, *S. vulgaris* es considerado el más patógeno, produciendo arteritis verminosa. En Argentina existen escasos reportes sobre su prevalencia a campo. Los pequeños estróngilos son los parásitos equinos de mayor prevalencia. Los signos clínicos son muy variables incluyendo malestar, anorexia, pérdida de peso y diarrea. La resistencia antihelmíntica de estos está muy generalizada en mundo. En Argentina la información es fragmentaria, pero hay reportes de resistencia a Benzimidazoles, y disminución del período de reaparición de huevos en tratamientos con Ivermectina. El objetivo de este estudio fue evaluar la resistencia antihelmíntica en establecimientos hípicos en la región central de Argentina, para lo cual se realizó una encuesta para conocer las medidas de control y antiparasitarios empleados en los establecimientos, se cuantificó la eliminación de huevos en la materia fecal de los equinos en los establecimientos visitados, se identificaron las especies y/o géneros parasitarias del Orden Strongylida y finalmente se realizó el test de reducción de conteo de huevos. Los resultados obtenidos concluyen en que las medidas de control utilizadas en los establecimientos estudiados se basan en desparasitar a sus equinos a tiempo fijo, principalmente cada cambio de estación. Esta decisión es tomada en la mayoría de los casos por el propietario o encargado del establecimiento. Un 20% de los encuestados realizan recuentos de huevos por gramo, y ninguno realizó un test de prueba de eficacia antihelmíntica. La mayoría de los establecimientos tiene caballos con moderada (200-500 hpg) a alta (>500) eliminación de huevos sugiriendo sistemas más contaminados y que las medidas de control llevadas a cabo no están siendo eficientes. Todas las muestras de materia fecal presentaban larvas correspondientes a Pequeños Estróngilos. En el 33% de los establecimientos se observaron larvas de *Stongilus vulgaris* (SV). El número total de cultivos positivos a *S. vulgaris* fue 6 representando el 5%. De acuerdo a los resultados del TRCH se observó resistencia antiparasitaria de los pequeños estróngilos al Febendazol en los establecimientos hípicos visitados de la región central de Argentina y la eficacia antihelmíntica de Ivermectina se mantiene.

INTRODUCCIÓN

“Si un hombre desconoce qué puerto es el que busca, cualquier viento puede ser el adecuado”.

Séneca

INTRODUCCIÓN

Datos concretos del SENASA afirman que Argentina es el 3° productor de caballos de carrera y el 1° productor de caballos de polo del mundo. A pesar de que en nuestro país no se consume carne equina, se encuentra entre los principales países exportadores mundiales en la materia. Según el relevamiento del Sistema Integrado de Gestión de Sanidad Animal (SIGSA) en 2015, Argentina cuenta con 2.545.240 caballos distribuidos en 194.196 establecimientos.

La provincia de Córdoba representa el 7% de la existencia nacional de equinos (170.370 caballos), se ubica en el cuarto lugar después de Buenos Aires, Corrientes y Chaco. En esta provincia los caballos están distribuidos en 21.128 establecimientos, de los cuales la mayoría solo posee hasta 5 cabezas de existencia, pero el 17% del total se encuentra en establecimientos cuya existencia varía entre 40 a 51 equinos (SIGSA–SENASA).

Si bien el parasitismo es un estado normal y natural para los caballos y estos han evolucionado durante millones de años con sus parásitos (Stratford *et al.*, 2011) uno de los problemas que puede afectar a la producción equina son las enfermedades de origen parasitario. Son muchas variedades de parásitos internos que los caballos pueden albergar, desde especies unicelulares de protozoos hasta los multicelulares como céstodos y nemátodos. Los nemátodos son los patógenos más importantes y afectan principalmente el tracto gastrointestinal de los caballos (Matthews, 2011). A causa de este grupo de afecciones se producen principalmente cuadros subclínicos que provocan pérdidas en el desarrollo corporal y en el rendimiento de los animales (Lamberti *et al.*, 2008).

Dentro de los parásitos del phylum Nematode, los de mayor importancia en la producción son los que pertenecen a la familia Strongilidae, especialmente subfamilia Strongylinae (grandes estróngilos) y Cyathostominae (pequeños estróngilos) (Lichtenfels, 1975; Jub *et al.*, 1985; Lombardero, 1990; Colahan *et al.*, 1998; Sievers y Valenzuela, 1998).

El ciclo de los estróngilos se clasifica como ciclo directo, los huevos de éstos son eliminados junto a las heces y se incuban en condiciones ambientales favorables de humedad, temperatura y oxigenación. Todas las especies exhiben tres estados larvarios secuenciales, primero (L1), segundo (L2) y tercero (L3). Las L3 se desarrollan dentro de la vaina de las L2. Esta cubierta protectora ayuda a las L3 a resistir distintas condiciones ambientales y es la etapa infestiva de todos los nemátodos intestinales de los equinos. La infección ocurre por ingestión inadvertida durante el pastoreo. De aquí en adelante dependiendo la especie de la cual estemos hablando, el ciclo puede continuar de diferentes formas. Entre las especies que parasitan a los equinos de la subfamilia Strongylinae (grandes estróngilos) se encuentran tres especies principales: *Strongylus vulgaris* (Looss, 1900), *S.*

edentatus (Looss, 1990), *S. equinus* (Müller, 1780). Los estadios adultos poseen una gran cápsula bucal, provocando grandes lesiones en la mucosa intestinal y sustrayendo un volumen sanguíneo considerable (Falcón, 2002). Cada especie se diferencia por la migración que realizan las larvas luego de ser ingeridas, siendo *S. vulgaris* es el más patógeno debido a las lesiones que ocasiona durante su migración por las paredes de las arterias mesentéricas, causando trombos y émbolos, asociados a inflamaciones hemorrágicas y produciendo arteritis verminosa (Barriga 2002). La mayor incidencia de cólicos por estos parásitos se presenta durante y al final del invierno (Prada Sanmiguel, 2008). Debido a su mayor frecuencia que el resto de los grandes estróngilos, *S. vulgaris* se debe tomar siempre en cuenta en el diagnóstico de cólicos en los caballos (Kornas *et al.*, 2009). *S. edentatus* y *S. equinus* son parásitos más grandes que *S. vulgaris*, pero sus larvas son consideradas menos patógenas. Las larvas de *Strogylus edentatus* luego de su ingestión se trasladan a través del sistema porta, al hígado, donde mudan a L4 y se mantienen migrando dentro del mismo, luego pasan al peritoneo para su regreso al intestino. El período prepatente es de 11 meses. Las larvas de *S. equinus* llegan al hígado donde deambulan por 2 meses para luego migrar al páncreas o cavidad abdominal y regresar posteriormente al intestino grueso. El período prepatente es de 8 a 9 meses. (Reinemeyer y Martin 2013).

Durante su crecimiento y madurez ocasionan diferentes lesiones: a) Menor crecimiento, debido a disturbios en la digestión y nutrición; apetito caprichoso, emaciación, fiebre. b) Diarrea, debido a la irritación, alteración de la permeabilidad de la mucosa (absorción y excreción) y al proceso inflamatorio como consecuencia del daño de la mucosa intestinal (enteritis granulomatosas). c) Anemia por pérdida de sangre (Fuse *et al.*, 2013).

La otra subfamilia que parasita a los equinos son los Cyathostominos (también conocidos como pequeños estróngilos) comprenden más de 50 especies identificadas (Tolosa *et al.*, 1996). Actualmente y en todo el mundo son considerados los parásitos equinos de mayor prevalencia y prácticamente todos los caballos en pastoreo adquieren este nemátode. (Brady y Nichols, 2009; Nielsen *et al.*, 2014 a; Scott *et al.*, 2015). En nuestro país, por ejemplo, los análisis coproparasitológicos equinos para determinar el número de huevos por gramo de heces (hpg) muestran que más del 97% de los huevos observados en animales mayores de dos años son parte de los pequeños estróngilos (Laboratorios de Parasitología Veterinaria de la Universidad Nacional de Rosario, Universidad Católica de Córdoba y EEE INTA Rafaela; datos no publicados).

Su diferencia con los grandes estróngilos radica en que L3 no realizan migraciones extra intestinales, las larvas invaden la mucosa o submucosa del ciego y/o colon pudiendo mudar a L 4 y regresar a la luz, o enquistarse en L3 y persistir en la submucosa durante un año o dos, posteriormente bajo condiciones favorables mudar a L4 y emerger a la luz del intestino grueso. El periodo de prepatencia es de 5 semanas después de la infección, pero

debido al desarrollo detenido, algunas completan su maduración hasta más de 2 años después de la infección inicial del huésped (Gibson 1953).

La infección por cyathostominos puede resultar en signos clínicos que incluyen malestar, cólicos, pérdida de peso, reducción en la tasa de crecimiento, pelo áspero, debilidad y anorexia (Peregrine *et al.*, 2014), es decir altamente no específicos, por lo tanto su diagnóstico clínico no es válido. Pueden causar un severo síndrome clínico denominado ciatostomiasis larval que se relaciona con una masiva y sincronizada reactivación de las larvas inhibidas lo que produce inflamación y severas alteraciones de la mucosa con diarreas profusas y a veces fatales (Love *et al.*, 1999). Los caballos en riesgo generalmente tienen menos de 5 años de edad y han sido tratados recientemente con un fármaco no larvicida durante una temporada cuando la transmisión activa es mínima. En otras palabras, tiende a ocurrir cuando la mayor parte de la carga de ciatostominos se compone de larvas enquistadas. También puede estar asociado a la estación del año siendo más frecuente a fines del invierno, principios de primavera. Teniendo en cuenta que prácticamente todos los caballos están infectados con pequeños estróngilos, esta complicación es un evento poco frecuente.

Aunque existe una variación reconocida en el recuento de huevos por gramo en la materia fecal (HPG) y la carga parasitaria real del caballo, el valor de HPG es el método más común usado para evaluar la infestación parasitaria.

Cuando una gran parte de la población de vermes se expone con frecuencia y repetidamente a los antihelmínticos, la presión de selección para el desarrollo de resistencia es muy alta. Esta descripción se ajusta a dosis de intervalos bastante breves, especialmente cuando se utilizan productos larvicidas.

Desde el advenimiento de los antiparasitarios sistémicos de amplio espectro la prevalencia de los grandes estróngilos ha disminuido progresivamente (Reinemeyer *et al.*, 1984; Herd, 1990; Love *et al.*, 1999; Hinney *et al.*, 2011). Si bien existen numerosos reportes a nivel mundial que confirman que la prevalencia de *S. vulgaris* ha disminuido drásticamente, en Argentina no existen reportes sobre su prevalencia a campo. Asimismo nuestro grupo de investigación observó la presencia de arteritis verminosa en la raíz mesentérica en numerosos caballos sacrificados en los frigoríficos de la ciudad Río Cuarto (datos no publicados).

Por otro lado, las estrategias de tratamiento antihelmíntico supresor diseñadas originalmente para controlar *S. vulgaris* en caballos fueron extremadamente exitosas en la reducción de morbilidad y mortalidad para esta enfermedad parasitaria. Desafortunadamente, el uso de esta estrategia resultó que, inadvertidamente, se seleccionaran especies resistentes de pequeños estróngilos a los fármacos, siendo considerados ahora como los parásitos patógenos principales de los caballos (Kaplan, 2002). Por lo tanto las metas u objetivos de un

programa integral de control de parásitos para caballos de países desarrollados, con climas templados, están dirigidos principalmente a su control (Monahan, 2002).

En la actualidad, en Argentina prácticamente existen sólo dos clases de antihelmínticos para controlar a estos parásitos, los benzimidazoles y las lactonas macrocíclicas. El Pirantel, un medicamento de uso común en otras partes del mundo como antiparasitario en equinos, prácticamente no se ha utilizado en Argentina con este fin (Ardusso *et al.*, 2016). El febendazole (Bz) de las familias de los benzimidazoles es efectivo contra grandes estróngilos, *Oxiurus equi*, *Parascaris equorum* adultos y pequeños estróngilos. A mayor dosis (10mg/kg por 5 días) es efectivo contra larvas de pequeños estróngilos enquistadas. La ivermectina (IV) de las familias de las lactonas macrocíclicas es efectiva contra grandes estróngilos (adultos y larvas migratorias), pequeños estrongilidos (adultos y L4), *P. equorum*, *O. equi*, *Habronema* spp., *Gastrophilus* spp. y *Strongyloides Westeri*. (Reinemeyer y Martin; 2013)

Varios regímenes de tratamiento con estos quimioterápicos han sido recomendados y con frecuencia se establecen los intervalos de administración sin tener en cuenta sus propiedades farmacológicas, edad de los caballos o la epidemiología de los parásitos (Goñi Alvarez de Elaute, 2012). La mayoría de los veterinarios siguen recomendando programas de tratamientos para los caballos que derivan de los conocimientos y conceptos de hace más de 40 años (Kaplan y Nielsen, 2010). Otra práctica habitual para la dosificación de antihelmínticos en los caballos, es la estimación visual de su peso, llevando muchas veces a errores significativos en el cálculo de la dosis del fármaco.

En una encuesta realizada en Argentina se concluyó que hay poca participación y planificación del profesional veterinario en relación con el control de parásitos internos en caballos. Realizar pruebas coprológicas es una práctica no habitual en nuestra región. Las prácticas de manejo de parásitos parecen reducirse casi exclusivamente a la administración de medicamentos antihelmínticos en momentos fijos, a menudo indiscriminadamente (Losinno *et al.*, 2018).

La resistencia antihelmíntica (RA) es la capacidad heredable de los parásitos de sobrevivir a tratamientos con drogas antihelmínticas, que a dosis terapéuticas, normalmente causan inhibición del crecimiento o la muerte del mismo (Stratford, 2011). Existe una selección muy amplia de genes dentro de cualquier especie de parásitos, algunos de estos, pueden codificar mecanismos que se manifiestan como RA.

Cada vez que se administra un tratamiento de desparasitación se elimina el $\geq 99.9\%$ de la población que es susceptible al medicamento, y no puede reanudar la diseminación de sus genes hasta que el período de reaparición de huevos (PRH) expire. Sin embargo, debido a que los parásitos resistentes no son eliminados por el tratamiento, pueden continuar reproduciéndose en todo este periodo en ausencia total de competencia con otros vermes. De

esta manera, los parásitos resistentes pueden contribuir con más descendientes a la población, y los genes resistentes aumentan de manera incremental dentro de la misma (R. Reinemeyer and Martin K. 2013). Se cree que la resistencia es multigénica, por lo que los pocos genes identificados hasta la fecha pueden ser la punta del iceberg (Beech et al. 2011).

Para determinar la resistencia a un antihelmíntico existen diferentes pruebas, por ejemplo, a campo una de la más recomendada es el *Test de reducción del conteo de huevos (TRCH)* en la materia fecal. Esta prueba compara muestras fecales tomadas inmediatamente antes del tratamiento antihelmíntico, con muestras fecales tomadas de 7 a 14 días postratamiento (Brady y Nichols, 2009). Se define como resistencia parasitaria cuando el valor de TRCH es menor al 90%, 95% y 85% para Fenbendazole(BZ)/Oxibendazole, Ivermectina(IV) / Moxidectina y Pyrantel respectivamente (AAEP, 2013).

La RA se ha vuelto tan frecuente en los parásitos equinos que es probable que haya resistencia en todas las manadas de caballos del mundo (Reinemeyer y Martin, 2013), (Tabla 1).

Tabla 1. Niveles actuales de resistencia en parásitos nemátodos a tres clases de antihelmínticos en manadas de todo el mundo.

CLASE DE DROGA	PEQUEÑOS ESTRÓNGILOS	GRANDES ESTRÓNGILOS	PARÁSCARIS EQUORUM
Benzimidazoles	Extensa	No	No
Pirimidinas	Común	No	Primeras indicaciones
Lactonas macrolíticas	Primeras indicaciones	No	Extensa

Esta resistencia a los benzimidazoles, especialmente al tiabendazol y al fenbendazol, fue reportada por Lyons *et al.* (2007) en estudios realizados durante más de 40 años en Kentucky, EE.UU. En Alemania, Drogemuller *et al.* (2004) realizaron 45 TRCH con fenbendazole aumentando gradualmente la dosis entre 7,5 y 30 mg / kg y, en todos los resultados, la eficacia fue inferior al 90%. En el Reino Unido, Alemania e Italia, la resistencia al fenbendazole también fue reportada por Traversa *et al.* (2009). La resistencia al fenbendazol se encontró en el 76,9% de los establecimientos en Suecia (Lind *et al.*, 2007). Von Samson-Himmelstjerna *et al.*, (2002) informaron la resistencia a los benzimidazoles utilizando TRCH (27%; 26.5% y 83.9%) en tres establecimientos en Chile. En Brasil, Molento *et al* (2008) informó también una baja eficacia del fenbendazol. Según una revisión realizada por Peregrine *et al* (2014) en 14 países del mundo ya se ha informado resistencia a los benzimidazoles.

Ardusso *et al.* (2016), reportaron que de acuerdo al TRCH la población de pequeños estróngilos resistentes a benzimidazoles se encuentra ampliamente distribuida en toda la Argentina. También observó que más del 80% de los establecimientos de producción estudiados, mostraron resistencia a estos fármacos y el uso de benzimidazoles todavía es una práctica común.

Con respecto al uso de lactonas macrocíclicas existen escasos reportes de poblaciones de cyathostomas resistentes. En Argentina a pesar de más de 30 años de uso de estos medicamentos en el país, no hay investigaciones que afirmen resistencia de los pequeños estróngilos. Sin embargo, en los últimos años, aparecieron informes de que el período de reaparición de huevos (PRH) es menor luego del tratamiento con ivermectina o moxidectina (Lyons *et al.*, 2008, 2011). Sangster (1999) ha sugerido que el acortamiento del PRH es la primera indicación del desarrollo de resistencia antihelmíntica. Esta hipótesis es alarmante a la luz de dos estudios recientes en los que los PRH más cortos después del tratamiento con ivermectina o moxidectina se asociaron con la supervivencia de larvas de cuarta etapa (L4) en el lumen del intestino en caballos jóvenes (Lyons *et al.*, 2009, 2010).

Debido a la aparición de poblaciones parasitarias resistentes a los fármacos comúnmente utilizados, los médicos veterinarios deberían evaluar la presencia de resistencia antihelmíntica en los establecimientos antes de establecer un programa de control de parásitos. El TRCH, a pesar de sus limitaciones, debe ser utilizado al menos una vez al año para monitorear cualquier programa de control parasitario para el uso racional y sostenible de antihelmínticos (Ardusso *et al.*, 2016).

Por lo antes mencionado, en este estudio se propone evaluar la presencia de especies parasitarias resistentes a los antihelmínticos en establecimientos hípicas de la región central de Argentina. Para ello, se realizará una encuesta para conocer las medidas de control y antiparasitarios empleados en los establecimientos, se determinará la presencia de nematodos intestinales de forma cualitativa y cuantitativa en la materia fecal y se clasificarán taxonómicamente mediante cultivo de larvas. Finalmente para determinar la resistencia a Febendazole e Ivermectina mediante el TRCH, recomendado por la AAEP.

HIPÓTESIS

Y

OBJETIVOS

“La esperanza está en los sueños, en la imaginación y en el coraje de los que se atreven a hacerlos realidad.”

Jonas Salk

HIPÓTESIS

- Los establecimientos hípicos presentan nemátodos resistentes a los antiparasitarios comúnmente utilizados en la República Argentina.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

- Evaluar la resistencia parasitaria de nemátodos a los antihelmínticos en establecimientos hípicos de la región central de Argentina.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir las medidas de control y antiparasitarios empleados en los establecimientos hípicos.
- Determinar cuantitativamente la eliminación de huevos en la materia fecal de los equinos en los establecimientos visitados.
- Identificar las especies parasitarias del Orden Strongylida.
- Determinar la presencia de resistencia al antiparasitario empleado en caballos naturalmente infestados.



Figura1. Establecimiento de estudio “Los Pinos”

MATERIALES

Y

MÉTODOS

*“La lógica te llevará desde A a B, la imaginación te
llevará donde sea”*

Albert Einstein

MATERIAL Y MÉTODOS

Se visitaron 23 establecimientos hípicos de la región centro de Argentina (Figura 2). En cada visita se realizó una encuesta para caracterizar los establecimientos, de acuerdo al tipo de explotación, las drogas y métodos de control parasitario utilizados (ANEXO 1). Para evaluar la misma se realizó un análisis estadístico descriptivo.

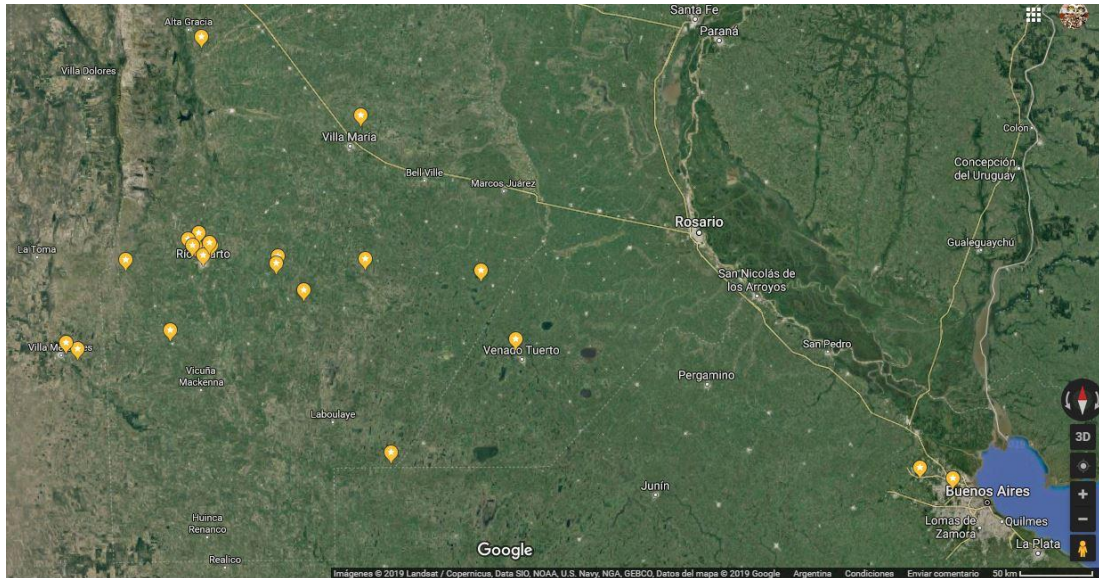


Figura 2. Establecimientos muestreados en la región central de Argentina.

En cada establecimiento se muestrearon todos los equinos adultos en existencia, que el productor ponía a nuestra disposición. La materia fecal de cada equino fue extraída directamente del recto o del suelo inmediatamente después de la defecación. Se almacenaron en bolsas plásticas de polietileno a las cuales se le extrajo el aire antes de cerrarlas para retardar la maduración y eclosión de los huevos, posteriormente se rotularon y conservaron a 8°C.

En el laboratorio de parasitología las muestras se procesaron mediante tres técnicas, la Técnica de Teuscher, McMaster modificada (Roberts y O'Sullivan, 1949) y se realizaron cultivos de larvas según la técnica de Henriksen y Korsholm (1983). Detalles de las técnicas pueden ser consultadas en el ANEXO 1.

Posteriormente, los caballos fueron clasificados de acuerdo a la cantidad de huevos por gramo (hpg) en materia fecal de la siguiente manera: bajos (≤ 200 hpg), moderados (201-500 hpg) y altos contaminadores (> 500 hpg) (Kaplan y Nielsen, 2010; AAEP, 2013). De igual manera, los establecimientos fueron clasificados según su valor promedio de hpg en: establecimientos con baja, moderada y alta contaminación de huevos (Kaplan y Nielsen, 2010; AAEP, 2013).

Del total de establecimientos hípicos visitados (23) y en común acuerdo con los propietarios, se realizó un test de reducción del conteo de huevos (TRCH) para evaluar la

eficacia antihelmíntica en nueve establecimientos. Luego de realizar la clasificación anteriormente citada, se seleccionaron los caballos que obtenían recuentos de huevos por encima de 400 hpg para realizar los ensayos terapéuticos (TRCH).

Cada uno de los nueve ensayos realizados fueron independientes uno del otro. Se utilizaron los siguientes dos antihelmínticos en las dosis y vías indicadas:

- Fenbendazole (benzimidazoles). Dosis 5,7 mg/kg Oral.
- Ivermectina (lactonas macrolíticas). Dosis 1,1 mg/kg Oral.

Todas las administraciones de los fármacos fueron realizadas por la misma persona.

Para estimar de manera más precisa el peso corporal y administrar la dosis indicada, se utilizó una cinta métrica para medir el perímetro torácico y la longitud desde la articulación escapulo-humeral hasta la tuberosidad isquiática (Carroll y Huntington, 1988). Estas medidas se incorporaron en una ecuación donde el resultado es una aproximación del peso real del caballo.

A los 14 días se regresó al establecimiento y se tomaron muestras a los caballos tratados para conocer su hpg y así realizar el TRCH. Para el cálculo se utilizó la fórmula recomendada por la AAEP (2013): $TRCH = 100 \times [(HPG \text{ antes del tratamiento} - HPG \text{ post del tratamiento}) / HPG \text{ antes del tratamiento}]$. Aquellas muestras que resultaban positivas (con huevos) se les realizó cultivo de larvas para verificar cual era el parásito presente.

Los puntos de corte para determinar resistencia a Febendazole fue por debajo del 90% y para Ivermectina 95% (Kaplan *et al.*, 2010).



Figura 3. Diagnóstico coproparasitológico a campo, en establecimiento “La Laguna”.

RESULTADOS

“Nadie obtiene mayores resultados que lo que sus relaciones le permiten”.

Alejandro Marchesán

RESULTADOS:

1. ENCUESTA

En los 23 establecimientos hípicos se pudo obtener toda la información que fue solicitada.

Del total de encuestas realizadas un 39,2%, 21,7% y 38,1% fueron contestados por el veterinario asesor, el encargado y el propietario, respectivamente.

En cuanto al tipo de establecimientos, un 47,8% son haras, un 8,7% clubes hípicos y el 43,5% restante son de otro tipo, pudiendo ser éstos últimos centros de doma y de caballos de paseo. La mayoría de los establecimientos visitados están ubicados en la Provincia de Córdoba (18/23), el resto de los mismos se ubican en las provincias de Buenos Aires (2/23), San Luis (2/23) y Santa Fé (1/23). Del total de establecimientos visitados un 21,7% posee entre 5 y 20 equinos, un 34,8% entre 20 y 40, un 26,1% entre 40 y 60 y el 17,4% más de 90 equinos.

Una de las preguntas realizadas durante la visita fue si se realizaba diagnóstico parasitológico, la mayoría (83%) no realizaban ningún tipo de diagnóstico (Gráfico 1). Dentro del grupo de establecimientos que si realizaba diagnóstico parasitológico, en un 75% de los mismos lo realizaba cada 6 meses y el resto cada 3 meses (Gráfico 1).

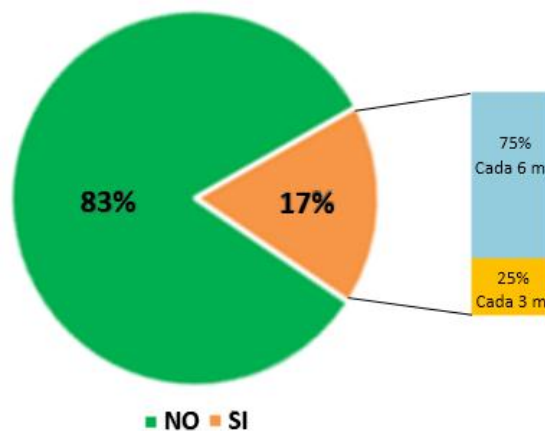


Gráfico 1. Porcentaje de encuestados que realizan diagnóstico parasitario y su frecuencia de ejecución.

En el 39% de los establecimientos la decisión de cuándo y cómo desparasitar era tomada por el veterinario. Por el contrario, en un 61% de los establecimientos los encargados y propietarios eran los que decidían cuando y como se desparasitaban los equinos.

En la mayoría de los establecimientos (52%), las desparasitaciones se realizan por cambio de estación y signos clínicos. En un 18% se decide desparasitar por cambio de estación y se tiene en cuenta el hpg de los animales. El 30% restante tiene en cuenta solo uno de los factores (Gráfico 2).

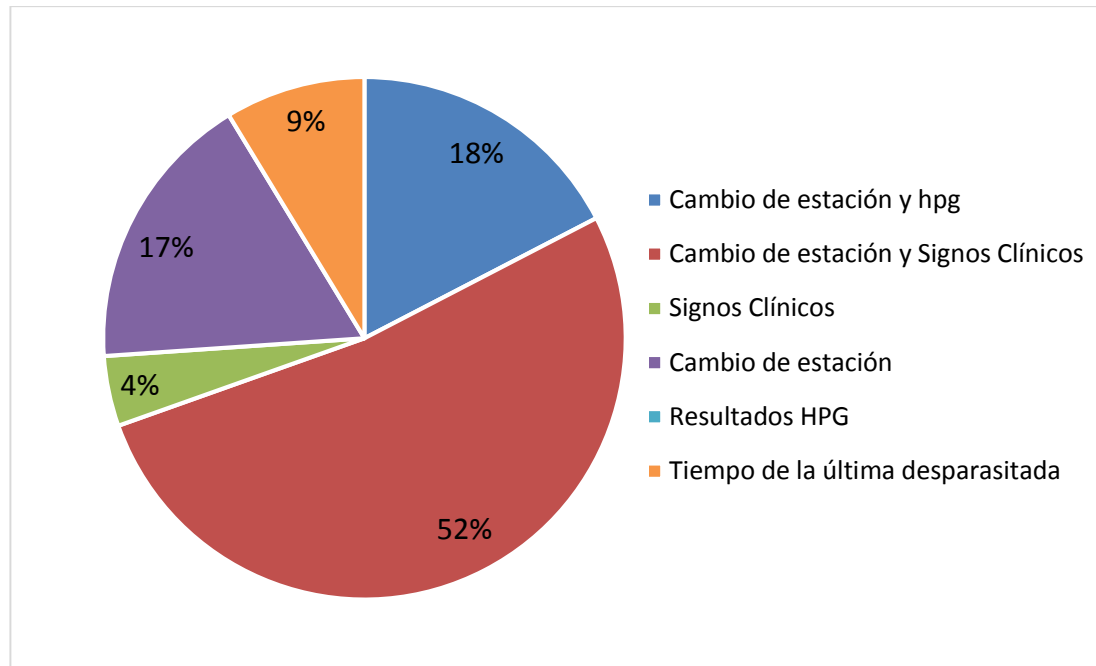


Gráfico 2. Criterios que se tienen en cuenta en los establecimientos visitados (23) en cuanto a la decisión de desparasitar a los equinos.

En relación a las drogas antiparasitarias utilizadas, en un 43,5% de los establecimientos utilizan ivermectina y benzimidazoles. En un 52,2% de los mismos sólo utilizan ivermectina y solamente un 4,3% utiliza moxidectin.

En la gran mayoría de los establecimientos (56,5%) realizan desparasitaciones cada 4 meses. Los intervalos son cada 3 meses y cada 6 meses en un 26,1% y 17,4% de los 23 establecimientos, respectivamente. El 56,5% de los mismos no cambia los antiparasitarios entre aplicaciones.

En la totalidad de los establecimientos visitados no se realizan ningún tipo de prueba de eficacia antihelmíntica. Solamente en un 39% de los mismos tienen conocimiento de la existencia de las pruebas de eficacia antihelmíntica.

2. DIAGNÓSTICO COPROPARASITOLÓGICO:

Se analizaron en total 517 muestras de materia fecal de equinos pertenecientes a los 23 establecimientos visitados. El 98% de las muestras se observaron con características normales, el resto fueron materias fecales de consistencia blanda, sin presencia de sangre.

Técnica de Teusher:

Los resultados que derivan de la técnica de Teuscher se encuentran en la

Tabla 2 y 3. En las mismas se puede observar que el tipo de huevo más frecuente es el tipo estrongilido.

Tabla 2. Porcentaje de muestras positivas de acuerdo al tipo de huevo encontrado en establecimientos y en la población de caballos (% sobre los 517)

Tipos de huevos	% Establecimientos	% Caballos
Tipo Strongylido	100	91,3
Tipo Ascarís	39	6,6
Strongyloides	4	0,4
Oxiurus	9	0,6
Eimeria	4	0,2

Nota al pie: El 100% de los establecimientos presentaron huevo tipo estrongilido. El 39% además de huevo tipo estrongilido presento huevos tipo áscaris.

Tabla 3. Porcentaje de caballos a los distintos tipos de huevos de acuerdo a la técnica de Teusher.

Establecimientos	Estrongilido	Ascarís	Oxiurus	Eimeria	Strongyloides
A	100		11,8		
B	95,2				
C	89,6				
D	100				
E	7,7				
F	100	29			
G	100				
H	100				
I	100				
J	100				
K	92	12			
L	100				
M	97,7	9			
N	100				
O	88,9				
P	100	6			
Q	91,7	14		5,6	
R	100	24			
S	100				
T	63,6	9		4,5	
U	84	4			
V	73,3				
W	96,9	9			3,1

Nota al pie: Por ejemplo, en el establecimiento Carreros, el 100% de los caballos muestreados presentaron huevos tipo estrogilido y un 29% del total de caballos presentaba huevos tipo áscaris.

Técnica de Mc Master:

Del total de los individuos, los recuentos de hpg tuvieron un rango entre 0 y 3.780.

De acuerdo a los resultados, obtenidos los caballos y los establecimientos fueron clasificados según su nivel de eliminación de huevos. Los resultados obtenidos se expresan en la Tabla 4 y 5. Podemos notar que el mayor porcentaje de los establecimientos tiene caballos con moderada a alta eliminación de huevos.

Tabla 4. Distribución de los animales con distintos niveles de postura

Clasificación por HPG x Animal	n	%
Baja (0-200 hpg)	212	41%
Moderada (200-500 hpg)	142	27%
Alta (>500 hpg)	163	32%

Tabla 5. Clasificación de los establecimientos según la media de hpg de todos sus caballos.

Clasificación por HPG x Establecimiento	n	%
Baja (0-200 hpg)	4	17%
Moderada (200-500 hpg)	13	57%
Alta (>500 hpg)	6	26%

3. CULTIVO DE LARVAS

Los cultivos de larvas se realizaron en 15 establecimientos hípicos. En el 100% de éstos, se observaron larvas correspondientes a Pequeños Estróngilos. El 33% presentaba larvas de *Strongilus vulgaris* (SV). En 9 establecimientos se determinó la presencia de grandes estróngilos y en 5 de ellos, estuvo presente SV (Tabla 6). En la Tabla 7, podemos observar el porcentaje de caballos positivos a SV en los establecimientos positivos a este.

Tabla 6. Frecuencia de géneros determinados mediante el cultivo de larvas en la totalidad de los establecimientos.

Género / Especies	Nº Establecimientos	%
Pequeños Estróngilos	15	100
<i>S. edentatus</i> / <i>S. equinus</i>	9	60
<i>S. vulgaris</i>	5	33

Tabla 7. Porcentaje de caballos positivos a *S. vulgaris* en cada uno de los establecimientos positivos (5).

Establecimientos Positivos a SV	Cantidad caballos	% muestras tomadas	% Caballos positivos
I	8	38	33
J	6	50	33
M	44	18	13
O	36	25	22,2
U	25	32	12,5

El número total de cultivos positivos a *S. vulgaris* fue 6 sobre 118 cultivos, representando el 5% (Gráfico 3).

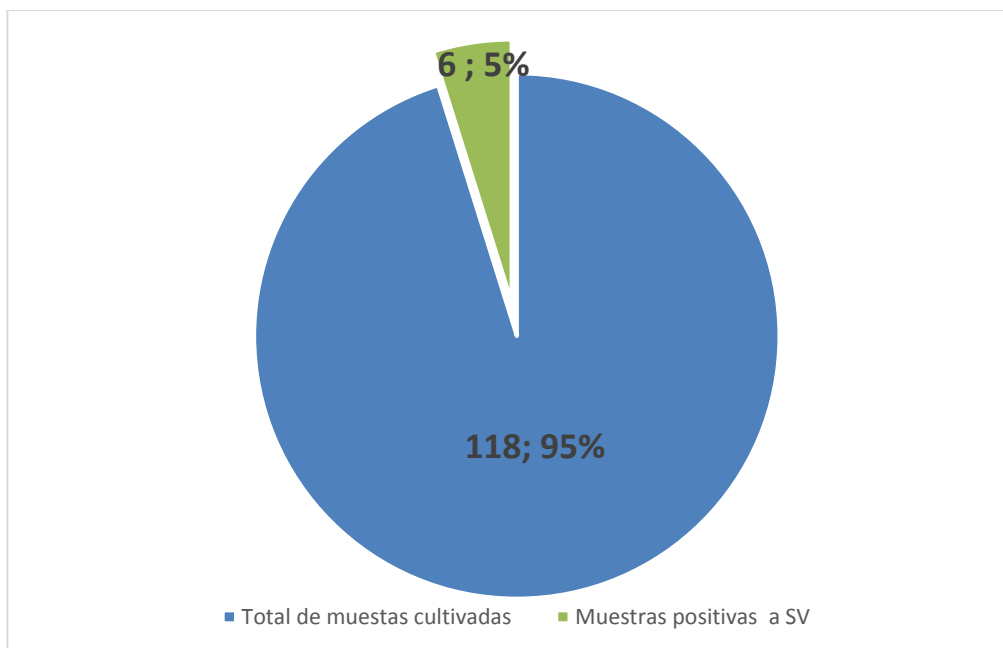


Gráfico 3. Porcentaje de muestras positivas a SV sobre el total de muestras cultivadas.

4. TEST DE REDUCCIÓN DEL CONTEO DE HUEVOS. (TRCH)

En los establecimientos tratados con IV (n=5) resultaron con una eficacia del 100%. No se observó lo mismo en los cuatro establecimientos tratados con BZ, donde el test arrojó porcentajes de reducción del conteo de huevos inferiores a los esperados por este antihelmíntico. Los resultados se resumen en la *Tabla 8*.

En los cultivos realizados a estas muestras positivas solo se observaron larvas de pequeños estróngilos.

Tabla 8. Resultado del Test de Reducción del conteo de huevos (TRCH) en diferentes establecimientos enfrentados a Ivermectina (IV) y Fenbendazole (BZ).

	Establecimientos	% muestras sobre el total	h/g día 0	h/g día 14	TRCH
IV	A	41,2	411	0	100
IV	F	57,1	640	0	100
IV	G	50	636	0	100
IV	H	80	580	0	100
IV	Q	36,1	1434	5	99,7
SubTotal					99,9
BZ	O	22,2	569	306	46,3
BZ	D	68,8	488	164	66,5
BZ	N	80	1265	346	72,6
BZ	P	61	1287	369	71,3
SubTotal					64,2

DISCUSIÓN

“La discusión fortalece a la agudeza.”

Cicerón

DISCUSIÓN:

ENCUESTA:

Este estudio ha identificado una gran dependencia a los productos antihelmínticos para el control parasitario, la dosificación de caballos a intervalos frecuentes y al uso limitado de recuento de huevos fecales positivo para determinar si el tratamiento era necesario. A su vez expresa poca participación del profesional veterinario en el control de parásitos equinos en Argentina.

En Nueva Zelanda también se observaron resultados similares. Sólo el 20% utilizó técnicas diagnósticas coproparasitológicas (Bolwell a, Charlotte F *et al.*, 2015). En un cuestionario en el Reino Unido, donde el 22% de los encuestados realizaba diagnósticos coproparasitarios (Relf, V. E *et al.*, 2011). Losinno *et al.*, (2018) concluyó que realizar pruebas coprológicas es una práctica no habitual en Argentina, en sus resultados el 76% de los encuestados respondió que no realizaba diagnóstico coproparasitológico.

El 75% de los que respondieron que sí realizaban el recuento de huevos lo hacían con una frecuencia de 6 meses, esto pone en duda si conocen el propósito de realizar el recuento de huevos fecales.

En 1999, la legislación en Dinamarca declaró que los medicamentos antihelmínticos estuvieran disponibles sólo con receta médica y prohibió su uso para el tratamiento profiláctico de rutina. Nielsen *et al* (2006) describen que los Médicos veterinarios en Dinamarca cumplen una función central en la vigilancia y control de estróngilos equinos. Nuestro estudio describe que el control parasitario está a cargo de encargados y propietarios en la gran mayoría de los establecimientos visitados (61%), resultados que se comparan con otros estudios donde el profesional veterinario interviene en pocas ocasiones en la toma de decisión de cuando y cómo desparasitar (Losinno *et al*, 2018). Es de destacar que en los sistemas donde la decisión es tomada por el profesional veterinario, tampoco se realizaban planes estratégicos de desparasitación.

Según *Bowell et al* (2015) en una encuesta realizada en Nueva Zelanda concluye que, si bien la mayoría de los encuestados consultaron a su veterinario, sólo un 20% realizó diagnóstico parasitario y por lo tanto terapia selectiva. No está claro a qué se debe la ausencia de realización del diagnóstico (*Bowell, et al* 2015), en mi opinión, está relacionado con el valor de la compra y administración del antiparasitario versus el tiempo que insume muestrear, diagnosticar y plantear una estrategia acorde, es decir, una tecnología de proceso que incluya el control sistémico de la parasitosis. Es necesario, como en Dinamarca, que se establezcan leyes a fin de que personal capacitado realice las pruebas diagnósticas y posteriormente desparasitaciones adecuadas a fin de disminuir la progresiva resistencia antihelmíntica.

Según el fundamento de desparasitación, la mayoría de nuestros encuestados respondieron que lo realizaban cada cambio de estación, relacionándose esto con una medida de control a intervalos cada 3 meses durante todo el año, es decir, utilizando medidas de controles tradicionales con desparasitaciones rotacionales a lo largo del año. Lossino *et al* 2018, también obtuvieron resultados de desparasitación a tiempo fijo en mayor proporción cada tres meses (48% de los encuestados), siendo el tiempo transcurrido desde el último tratamiento, el criterio de desparasitación más elegido. Estos resultados también concuerdan lo planteado por Arduso *et al*, donde reflejaron que en Argentina los antihelmínticos se administran masiva y frecuentemente a intervalos relativamente fijos a todos los animales que constituyen la población del establecimiento. Sin embargo estos resultados no sólo se reducen a nuestro país. Estudios en cría de pura sangre en el Reino Unido informan que se aplican tratamientos regulares a todos los caballos cada 6 a 8 semanas (Earle *et al*, 2002; Relf *et al.*, 2012). Robert *et al.* (2014) sobre un cuestionario realizado en Kentucky en caballos SPC, el 70 % de los encuestados manifestaron seguir un enfoque rotacional de desparasitación con poca o ninguna vigilancia fecal. Howell *et al.*(2015), obtuvieron como resultados que la dosificación a intervalos más común fue de 6 a 12 semanas.

La dosificación del intervalo se basa en prácticas de control tradicionales durante todo el año y ha impactado en el desarrollo de la resistencia antihelmíntica (Kaplan y Nielsen, 2010). Este tradicional método de control ejerce una severa presión de selección sobre los parásitos, lo cual da resultado en el desarrollo de altos niveles de RA en algunos grupos de nematodos equinos (Peregrine *et al*, 2014).

Cuando en esta investigación se les preguntó si conocían algún test de eficacia antihelmíntica, el 60,9% respondió no conocerlo. El 39,1% que respondió que sí conocía el test, correspondía a respuestas de profesionales veterinarios, aun así ninguno realizaba un test de prueba de eficacia antihelmíntica. De acuerdo a estos resultados, concluimos que si no conocen o no se realiza una técnica diagnóstica para conocer el grado de eliminación de cada caballo y así decidir tratarlo o no, en menor medida realizarían un test para verificar la resistencia al antiparasitario. Probablemente también está relacionado al “tiempo” que conlleva realizar este test.

DIAGNÓSTICO COPROPARASITOLÓGICO:

En relación a los resultados de hpg en los establecimientos y por animal, estos se clasificaron en baja (0-200 hpg), moderada (200-500 hpg) y alta (>500) para poder comparar con los datos esperables y con otros estudios que también clasificaron los resultados de la misma manera. Según Kaplan y Nielsen, 2010 y AAEP Parasite control, lo esperable bajo planes de desparasitación adecuados es que los porcentajes de caballos bajos eliminadores de

huevos sean los porcentajes más altos (50-70%), los moderados eliminadores 10 – 20%, sumando ambos deberían aproximarse a un 80% y de alta eliminación aproximadamente solo un 20%. En un estudio Danés en el que se realizaron el recuento de huevos fecales (RHF) cada seis meses durante tres años, más del 90% de los caballos con <200 hpg en dos exámenes fecales consecutivos tuvieron un hpg de menos de 200 hpg en el tercero (Nielsen *et al.*, 2006a). Por lo tanto, parece que las categorías de desprendimiento de huevos para la mayoría de los caballos siguen siendo consistentes, pero algunos caballos pueden cambiar de categoría, particularmente aquellos con RHF cerca de los valores de corte.

En el presente estudio se observó que del total de animales muestreados, el porcentaje de altos y moderados eliminadores es mayor al 20 % sugerido por Kaplan y Nielsen, correspondiendo un 32% y 27% respectivamente. Los establecimientos con contaminación moderada fueron del 57% y de alta el 26%, sólo un 17% de baja contaminación. Lo que estos resultados demuestran es que los métodos de control de parásitos empleados en cada establecimiento, puestos de manifiesto en las encuestas, no estarían siendo eficientes.

Hay pocos datos disponibles para establecer científicamente los umbrales de RHF utilizados para clasificar los caballos en categorías de baja, moderada y alta eliminación de huevos. Sin embargo, en caballos con recuentos de huevo tipo estrongilido por debajo de 500 hpg, se determinó que estos albergaban cargas de parásitos significativamente menores que aquellos con conteos que superan ese umbral. Estos datos apoyan el uso de umbrales para el tratamiento en el rango de 200-500 HPG (Nielsen *et al.*, 2010a).

CULTIVO DE LARVAS:

Los pequeños estróngilos en todo el mundo son considerados los parásitos equinos de mayor prevalencia y prácticamente todos los caballos en pastoreo adquieren estos nematodos (Brady y Nichols, 2009; Nielsen *et al.*, 2014; Scott *et al.*, 2015). Nuestros resultados se corroboran con estas investigaciones, ya que la totalidad de los establecimientos presentaron esta clase de vermes.

Sin embargo, la razón más importante para la realización de cultivos de larvas en la práctica veterinaria es detectar la presencia de *Strongylus vulgaris*. (Nielsen *et al.*, 2010b). Como se mencionó anteriormente, si bien existen numerosos reportes a nivel mundial que confirman que la prevalencia de *S. vulgaris* ha disminuido drásticamente, en Argentina existen escasos reportes sobre su prevalencia a campo. Este estudio determinó que el 5% del total de muestras cultivadas fueron positivas a larvas de *S. vulgaris* y a nivel de los establecimientos el 33% del total era positivo a este parásito.

En Dinamarca, Nielsen *et al* 2012, reportó la prevalencia de *SV* en un estudio realizado en 662 caballos. Además, comparó la prevalencia del parásito en granjas donde realizan RHF para decidir desparasitar o no (terapia selectiva), con aquellas donde no se realizaba. La prevalencia global de *S. vulgaris* fue de 12,2% a nivel individual y de 64,3% a nivel de establecimientos. Las granjas que utilizaron terapia selectiva tuvieron prevalencias de caballos y granjas de 15,4% y 83,3%, respectivamente. Los resultados correspondientes para las granjas que no usaron terapia selectiva fueron de 7,7% y 38,9%, resultados similares a los obtenidos en este estudio.

Los establecimientos que aplicaban terapia selectiva estaban especialmente en riesgo, y la aparición de *SV* se asoció significativamente con la desparasitación más reciente ocurrida más de seis meses antes. Los resultados sugieren que una implementación estricta del régimen de terapia selectiva puede asociarse con una mayor prevalencia de *SV* (Nielsen *et al* 2012).

En los establecimientos donde no se aplicaba terapia selectiva, como también en esta investigación, estos porcentajes obtenidos pueden ser atribuidos a las prácticas de control, como desparasitaciones frecuentes a tiempo fijo y el uso frecuente de ivermectina como antihelmíntico de rutina, que afectarían la supervivencia de este parásito en los caballos. (Nielsen *et al* 2012).

RESISTENCIA ANTIHELMINTICA:

En todos los establecimientos donde se evaluó la eficacia antihelmíntica a Febendazole mediante el TRCH, se observó resistencia de pequeños estróngilos. Esto concuerda con datos publicados previamente a nivel regional (Anziani y Catanzaritti, 2005; Cerutti *et al.*, 2012; Vignaroli y Arduoso, 2014), en países limítrofes (Von Samson-Himmelstjerna *et al.* 2002; Ricardo J. Canevera *et al.*, 2013; Molento *et al.* 2008) y a nivel mundial (Kaplan, 2002 y 2004; Traversa *et al.*, 2009; Jennifer L. Bellaw *et al.*, 2018). Un estudio reciente realizado en nuestra región también obtuvo resultados de reducción de la eficacia antihelmíntica en los caballos tratados con febendazole (Losinno *et al.*, 2016). Por su elevada prevalencia, actualmente estos fenómenos parecen ser la regla más que la excepción (Kaplan, 2011).

A diferencia de lo observado con el febendazole, la ivermectina sí resultó eficaz para reducir el conteo de huevos en la materia fecal de caballos en estudio.

En investigaciones llevadas a cabo en las provincias de Santa Fe y Córdoba (laboratorios de Parasitología Veterinaria de la Universidad Nacional de Rosario y Universidad Católica de Córdoba) la droga produjo en más de 500 animales de diferentes

biotipos y categorías, reducciones en el TRCH > al 98,5% entre los 12 y 15 días postratamiento, demostrando que luego de más de 30 años de uso esta droga mantiene una eficacia muy alta de acuerdo a este test in vivo (Anziani., 2017). Hasta el momento, la eficacia del grupo lactona macrocíclica contra cyathostominos ha permanecido casi sin cambios a pesar de su uso generalizado en los caballos durante los últimos 20-30 años (Nielsen *et al.*, 2010b).

El motivo de preocupación es que existen informes sobre la reducción de los períodos de reaparición de los huevos de cyathostominos (PRH) después del tratamiento con ivermectina o moxidectina (Lyons *et al.*, 2008, 2011). Sangster (1999) ha sugerido que un acortamiento de la PRH es la primera indicación de desarrollo de resistencia antihelmíntica. Este período se considera como un potencial alerta temprano al desarrollo de los fenómenos de resistencia que originalmente este era de 9 a 13 semanas cuando la droga fue registrada en el mercado veterinario mundial. Actualmente el PRH para la ivermectina es de 6 a 8 semanas. Estudios recientes manifiestan que la disminución de este periodo después del tratamiento con ivermectina o moxidectina se asoció con la supervivencia de larvas luminales de cuarto estadio larval (Lyons *et al.*, 2009, 2010, 2011).

En Argentina, Anziani *et al.*, (2017) en un estudio consideró el PRH como tal, a la semana postratamiento en la cual, el TRCH arrojaba valores inferiores al 90%. Si bien el número de caballos es bajo, a partir de la 5ta semana el TRCH en algunos animales comenzó a dar 89,6%, lo que hace suponer la existencia de larvas resistentes.

En síntesis; la situación actual sobre la resistencia antihelmíntica en nemátodos equinos muestra que en nuestro país, como en otros países del mundo, el uso de drogas de amplio espectro para el control de diferentes parásitos, en diferentes categorías, requiere romper paradigmas y un cambio en su utilización. La información en la Argentina esta fragmentada, pero muestra que en el control de los pequeños estróngilos, ni los benzimidazoles, ni las lactonas macrocíclicas, por sí solos, están logrando un adecuado resultado.

Para el control de los parásitos equinos mediante el uso de antiparasitarios se recomienda establecer un programa de “terapia selectiva”. Esta consiste en el análisis fecal cuantitativo de todos los équidos del Establecimiento y el tratamiento sólo de aquellos con recuentos que exceden un valor de corte predeterminado (umbral). Varios estudios han demostrado que los caballos adultos tienden a mantener niveles aproximadamente similares de eliminación de huevos a lo largo del tiempo (Nielsen *et al.* 2006). Este fenómeno parece asociarse más con caballos con cero o muy bajos recuentos de huevos donde mantienen este nivel de eliminación a lo largo de su vida, incluso en ausencia de tratamientos antihelmínticos. Se ha estimado que el 80% de todos los huevos tipo estrongilidos

eliminados por una manada, se originan en solo el 20% de los caballos de la misma (Kaplan y Nielsen 2010). Al conocer que una minoría de animales alberga a la mayoría de los parásitos, es completamente lógico asignar tratamientos específicos a estos individuos "con parásitos", mientras que otros en la manada se desparasitan con menos frecuencia e incluso se dejan sin tratar.

Aplicando la "terapia selectiva" en un Establecimiento se da lugar a **refugios de parásitos**, este es un término que se refiere a cualquier proporción o población de parásitos que no está expuesta al antiparasitario al momento del tratamiento y por lo tanto no está expuesta a una presión de selección para el cambio genético. Estos parásitos se encuentran en el ambiente, en caballos no tratados por un recuento de HPG por debajo del umbral, como así también aquellas larvas de pequeños estróngilos enquistadas cuando el tratamiento es con un antihelmíntico no larvicida. Es decir, un refugio funciona como un reservorio de genes susceptibles, por lo que, mantener los refugios minimiza la selección de resistencia antihelmíntica. Si solo el 20% de la población de parásitos se expone a un medicamento, la selección de parásitos resistentes se diluirá en el 80% presente en los refugios. Esta circunstancia refleja lo que los enfoques de tratamiento selectivo intentan lograr. Un gran refugio predice un desarrollo más lento de la resistencia.

Por lo antes mencionado, sería de alto impacto y muy beneficioso que en Argentina existiera una legislación que declare el uso de medicamentos antihelmínticos disponibles solo con receta médica y prohíba su uso para el tratamiento profiláctico de rutina. Así mismo, los médicos veterinarios se comprometan con responsabilidad a realizar un adecuado control de los parásitos equinos, para atenuar el crecimiento lineal de la resistencia antihelmíntica.

CONCLUSIONES

“Un futuro diferente está a una conversación de distancia.”

Alejandro Marchesán

CONCLUSIONES

- Las medidas de control utilizadas en los establecimientos estudiados se basan en desparasitar a sus equinos a tiempo fijo, principalmente cada cambio de estación. Esta decisión es tomada en la mayoría de los casos por el propietario o encargado del establecimiento. Muy pocos realizan recuentos de huevos por gramo, y ninguno realizó un test de prueba de eficacia antihelmíntica.
- La mayoría de los establecimientos tiene caballos con moderada a alta eliminación de huevos sugiriendo sistemas más contaminados y que las medidas de control llevadas a cabo no están siendo eficientes.
- En el 100% de las muestras cultivadas, se observaron larvas correspondientes a Pequeños Estróngilos. En el 33% de los establecimientos hípicos se observaron larvas de *Stongilus vulgaris*. El número total de cultivos positivos a SV fue 6 representando el 5%.
- De acuerdo al TRCH realizado se constató la existencia de resistencia antiparasitaria de los pequeños estróngilos al Febendazol en los establecimientos hípicos visitados de la región central de Argentina.
- Se observó que la eficacia antihelmíntica de la Ivermectina se mantiene en niveles óptimos.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFIA

1. AAEP. 2013. American Association of Equine Practitioners. Disponible en <http://www.aaep.org/custdocs/parasitecontrolguidelinesfinal.pdf>. Acceso 22 de Febrero 2017.
2. Arduso G., Cerutti J., Caffè G., Cooper L., Pirani L. y Anziani O. 2016. Anthelmintic resistance in equine nematodes in Argentina. 10th IEIDC Abstracts / Journal of Equine Veterinary Science 39 (2016) S45eS55.
3. Anziani O, Catanzaritti H. (2005). Resistencia a los benzimidazoles en nematodos de los equinos en Santa Fé, Argentina. Veterinaria Argentina 218:5-9.
4. Anziani O., Arduso G. Resistencia a los antihelmínticos en nematodos intestinales que parasitan a los equinos en la Argentina. Publicado online 29 de marzo de 2017. Citar sitar
5. Brady, H. A. y Nichols, W. T. 2009. Drug Resistance in Equine Parasites: An Emerging Global Problem. Journal of Equine Veterinary Science _ Vol 29, No 5 (2009)
6. Barriga, O. 2002. Las enfermedades parasitarias de los animales domésticos en la América Latina. Editorial Germinal, Santiago, Chile, Pp 118-122.
7. Beech, R.N. , Skuce, P., Bartley, D.J. , Martin, R.J. , Prichard, R.K. & Gilleard, J.S. (2011) Anthelmintic resistance: Markers for resistance, or susceptibility? Parasitology, 138, 160-174.
8. Bolwell, Charlotte F *et al.*, Questionnaire study on parasite control practices on Thoroughbred and Standardbred breeding farms in New Zealand. Veterinary Parasitology 209 (2015) 62–69
9. Colahan, P., G. Mayhew, M. Merrit, N. Moore. 1998. Medicina y Cirugía Equina. (4 ed.). Buenos Aires: Editorial Intermédica.
10. Carroll CL, and Huntington PJ (1988). Body Condition Scoring and Weight Estimation of Horses, Equine Veterinary Journal 20 (1), 41-45.
11. Cerutti J, Cooper L, Caffè G, Cervilla N, Muchiur S, Anziani, O (2012). Resistencia de los pequeños estrongílicos (grupo ciatostoma) a los Bencimidazoles en equinos del área central de Argentina. In Vet Vol. 14 (1), 41-46.
12. Drogemuller, M., Klaus, F., Schnieder, T., Von Sansom-Himmelstjerna, G., 2004. Effect of repeated benzimidazole treatments with increasing dosages on the phenotype of resistance and the beta-tubulin codon 200 genotype distribution

- in a benzimidazole-resistant cyathostomin population. *Vet. Parasitol.* 123, 201–213.
13. Duncan, J. L. 1974. Field Studies on the epidemiology of mixed Strongyle infection in horse. *Vet Rec*; 94:337-345.
 14. Earle, CG (2002). Helmint control used by trainers of thoroughbreds in England. *Veterinary Record*, 150, 405-408.
 15. Falcón JD. (2002). Presencia de nuevos géneros y especies de estróngilos en los equinos en Uruguay. *Veterinaria* 37: 27-52
 16. Fusé, L., Saumell, C. A. y Iglesias, L. 2013. Variación estacional del parasitismo interno en equinos: fenómeno de hipobiosis de los pequeños estróngilos (Cyathostominae) en Tandil, Buenos Aires, Argentina. *Rev. Med. Vet. (B. Aires)*, 94, 3: 62 – 72.
 17. Gibson, T.E.(1953) The effect of repeated anthelmintic treatment with phenothiazine on fecal egg counts of housed horses, with some observations on the life cycle of *Trichonema* spp. in the horse . *Journal of Helminthology* , 27 , 29– 40.
 18. Goñi Alvarez de Elaute E (2012). Pequeños estróngilos en el valle medio del río Ebro. Manejo y detección de resistencia al tiabendazol. Tesis Magister, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, España.
 19. Henriksen, S. V. y Korsholm, H. 1983. A method for culture and recovery of gastrointestinal strongyle larvae. *Nordisk Veterinaermedicin* 35:429-430.
 20. Herd, R.P., 1990. The changing world of worms: the rise of the cyathostomes and the decline of *Strongylus vulgaris*. *Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.* 12, 732–734.
 21. Hinney, B., Wirtherle, N. C., Kyule, M., Miethe, N., Zessin, K. H., Clausen, P. H. 2011. Prevalence of helminths in horses in the state of Brandenburg, Germany. *Parasitol. Res.* 108, 1083–1091.
 22. Jennifer L. Bellaw *et al.*, 2018. Anthelmintic therapy of equine cyathostomin nematodes – larvicidal efficacy, egg reappearance period, and drug resistance. *International Journal for Parasitology* 48 (2018) 97–105.
 23. Jub, K. V. F., Kennedy, P. C., Palmer, N. 1985. *Pathology of Domestic Animals* 1. (4 ed.). San Diego: Academic Press.
 24. Kaplan, R. M. 2002. Anthelmintic resistance in nematodes of horses. *Vet. Res.* 33 (2002) 491–507. INRA, EDP Sciences. DOI: 10.1051/vetres:2002035.
 25. Kaplan, R. 2004. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. *Trends Parasitol.* 20:477-481.

26. Kaplan, RM, Nielsen, MK (2010). An evidence-based approach to equine parasite control: it ain't the 60s anymore. *Equine Vet. Educ.* 22, 306–316.
27. Kaplan, R. 2011. It is time for change: the rationale for evidence -based parasite control in horses (Abstract) Session H. 23rd International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology. Proceedings; Buenos Aires, Argentina, p. 173.
28. Kornas, S., Skalska, M., Nowosad, B., Gawor, J., V Kharchenko, V. y Cabaret, J. 2009. Occurrence of *Strongylus* (*Strongylidae*) in horses from small farms on the basis of necropsy. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, vol. 12, pp. 225-30.
29. Lamberti, R.; Gino, L.; Calvo, C.; Bertorello Mascaró, G.; Benito, A. 2008. Epidemiología y parasitismo gastrointestinal en equinos del departamento Maracó, provincia de la Pampa, República Argentina. *Ciencia Veterinaria*. Vol 10 N° 1. ISSN: 1515-1883.
30. Lichtenfels, J. R. 1975. "Helminths of Domestic Equids". *J. Helminth. Soc. Wash.* 42.
31. Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Collins, S.S., 2007. Study (1991 to 2001) of drugresistant Population B small strongyles in critical tests in horses in Kentucky at the termination of a 40-year investigation. *Parasitol. Res.* 101, 689–701.
32. Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Ionita, M., Lewellen, A., Collins, S.S., 2008. Field studies indicating reduced activity of ivermectin on smallstrongyles in horses on a farm in Central Kentucky. *Parasitol. Res.* 103,209–215.
33. Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Collins, S.S., 2009. Probable reason why smallstrongyle EPG counts are returning "early" after ivermectin treatment of horses on a farm in Central Kentucky. *Parasitol. Res.* 104,569–574.
34. Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Kuzmina, T.A., Collins, S.S., 2010. Critical testsevaluating efficacy of moxidectin against small strongyles in horsesfrom a herd for which reduced activity had been found in field testsin Central Kentucky. *Parasitol. Res.* 107, 1495–1498.
35. Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Collins, S.S., Ionita, M., Kuzmina, T.A., Rossano, M., 2011. Field tests demonstrating reduced activity of ivermectin andmoxidectin against small strongyles in horses on 14 farms in Central Kentucky in 2007-2009. *Parasitol. Res.* 108, 355–360.
36. Love, S., Murphy, D. y Mellor, D. 1999. Pathogenicity of cyathostomes infection. *Vet. Parasitol.* 85, 113–122.
37. Lombardero, O. 1990. 60 Ciclos Biológicos de Interés Veterinario. Editorial Hemisferio Sur.

38. Losinno S.J., Aguilar J., Carbonetti L., Ferniot E., San Esteban F., Flores Suares C.M. A survey on parasite control in sport horses of Argentina and other regional countries. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports* 13 (2018) 74–78.
39. Lossino S.J., 2016. Control parasitario basado en terapia selectiva en caballos de carrera estabulados en la provincia de Córdoba, Argentina. Tesis de Maestría. Facultad de Agronomía y veterinaria, Universidad Nacional de Rio Cuarto, Rio Cuarto, Argentina. 86 p.
40. Matthews JB (2011). Review Article: HBLBs advances in equine veterinary science and practice. Facing the threat of equine parasitic disease. *Equine Veterinary Journal* 43 (2) 126-132.
41. Molento MB, Antunes J, Bentes RN, Coles GC (2008). Anthelmintic resistant nematodes in Brazilian horses. *The Veterinary Record*, March 22.
42. Monahan, C. 2002. Anthelmintic control strategies for horses. New York: International Veterinary Information Service/Ithaca.
43. M.K. Nielsen a*, J. Monrad b, S.N. Olsen a. (2006). Prescription-only anthelmintics—A questionnaire survey of strategies for surveillance and control of equine strongyles in Denmark. *Veterinary Parasitology* 135 47–55.
44. Nielsen, M.K., Vidyashankar, A.N., Andersen, U.V., DeLisi, K., Pilegaard, K., Kaplan, R.M., 2010. Effects of fecal collection and storage factors on strongylid egg counts in horses. *Vet. Parasitol.* 167, 55-61.
45. Nielsen M.K., Fritzen† B., Duncan‡ J. L., Guillot§ J., Eysker M. #, Dorchie P., Laugier C., Beugnet F, Meana A, Lussot-kervern I. and Von Samson Himmelstjerna G (2010 b). Practical aspects of equine parasite control: A review based upon a workshop discussion consensus. *Equine vet. J.* 42 (5) 460-468.
46. Nielsen M. K., Vidyashankarb A. N., Olsena S. N., Monradc S.M J. 2012. *Strongylus vulgaris* associated with usage of selective therapy on Danish horse farms - Is it reemerging? *Veterinary Parasitology* 189 (2012) 260– 266.
47. Nielsen, M.K. ; Pfister, K. ; Von SAMSON Himmelstjerna. 2014. Selective therapy in equine parasite control - application and limitations. *Veterinario. Parasitol.* 202: 95-103.
48. Nielsen, M.K.; Mittel, L.; Grice, a.; Erskine,M.; Graves, E.; Vaala, W.; Tully ,R.C.; French, D.D.; Bowman, R.; Kaplan, R.M. 2013. AAEP Parasite Control Guidelines, American Association of Equine Practitioner, p. 24 Disponible: www.aaep.org on verificado 03 de marzo de (2016).

49. Peregrine, A; Molento, B ; Kaplan, R; Nielsen, M.K. 2014. Anthelmintic resistance in important parasites of horses: Does it really matter? *Vet Parasitol* 201: 1-8.
50. Pierezan, F., Rissi, D., Oliveira, Filho J., Lucena, R., Tochetto, C. y Flores, M. 2009. Enterite granulomatosa asociada a larvas de ciatostomíneos em equinos no Rio Grande do Sul. *Pesq Vet Bras*; 29:382-386.
51. Prada Sanmiguel, G. A. 2008. Determinación de las características morfológicas de larvas L1, L2 y L3 en parásitos astrotintestinales del equino en la región de los Lagos, Chile. *Revista de Medicina Veterinaria* N° 15: 39-48 / Enero - junio 2008
52. Reinemeyer, C. R., Smith, S. A., Gabel, A. A. y Herd, R. P., 1984. The prevalence and intensity of internal parasites of horses in the U.S.A. *Vet. Parasitol.* 15, 75–83.
53. Reinemeyer R. and Martin M. K. 2013. *Handbook of EQUINE PARASITE CONTROL*. 2121 State Avenue, Ames, Iowa 50014–8300, USA.
54. Relf V. E, E. R. Morgan, J. E. Hodgkinson and J. B. Matthews. A questionnaire study on parasite control practices on UK breeding Thoroughbred studs. *Equine Veterinary Journal* ISSN 0425-1644 DOI: 10.1111/j.2042-3306.2011.00493.x
55. Ricardo J. Canevera, Pollyana R.C. Bragab, Albert Boeckhc, Marcelly Grycajucka, Daniele Biera, Marcelo B. Molentoa. Lack of Cyathostomin sp. reduction after anthelmintic treatment in horses in Brazil. *Veterinary Parasitology* (2013).
56. Robert M, Hu W, Nielsen MK and Stowe CJ (2014). Attitudes towards implementation of surveillance-based parasite control on Kentucky Thoroughbred farms – Current strategies, awareness and willingness-to-pay. *Equine Veterinary Journal*.
57. Sangster, N.C. 1999. “Anthelmintic resistance pass, present and future”. *Inter. J Par.* 29; 115-124.
58. Scott, I.; Bishop, R.M; Pomroy, W.E. 2015. Anthelmintic resistance in equine helminth parasites – a growing issue for horse owners and veterinarians in New Zealand? *N. Z. Vet. J.* 63: 188-198.
59. Sistema Integrado de Gestión de Sanidad Animal (SIGSA) 2015. Estratificación equinos en Argentina. http://www.senasa.gob.ar/prensa/DNSA/Control_Gestion_y_Programas_Especiales/Indicadores_ganaderos/5_Indicadores_Ganaderia_Equina/Ganaderia_Equina.html

60. Stratford CH, McGorum, BC, Pickles, KJ, Matthews, JB (2011). Review Articles. An update on cyathostomins: Anthelmintic resistance and diagnostic tools. *Equine vet. J.* 43 (Suppl. 39) 133-139.
61. Sievers, P. y Valenzuela, G. 1998. "Parasitología General. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Patología Animal, Valdivia, Chile.
62. Tolosa J, Tiranti K, Martínez M, Sánchez J, Chiaretta A, Vázquez M, *et al* (1996). Diagnóstico post mórtem de los parásitos internos de los caballos. XI Reunión anual de la Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico. Azul, Prov Bs As; 580-581.
63. Traversa, D., von Samson-Himmelstjerna, G., Demeler, J., Milillo, P., Schürmann, S., Barnes, H., Otranto, D., Perrucci, S., Frangipane di Regalbono, A., Beraldo, P., Boeckh, A. and Cobb, R. (2009) Anthelmintic resistance in cyathostomin populations from horse yards in Italy, UK and Germany. *Parasit. Vectors* 2, S2.
64. Vignarioli, S. y Arduzzo, G. Estudio de la acción antiparasitaria de los benzimidazoles (BZD) en caballos criados y mantenidos en distintos ambientes. Cátedra de Enfermedades Parasitarias. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario (UNR)
65. Von Samson-Himmelstjerna, G., Von Witzendorff, C., Sievers, G., Schnieder, T., 2002. Comparative use of faecal egg count reduction test, egg hatch assay and beta-tubulin codon 200 genotyping in small strongyles (cyathostominae) before and after benzimidazole treatment. *Vet. Parasitol.* 108, 227–235.



ANEXOS

ANEXO 1: Encuesta:

ENCUESTA: DESPARASITACIONES EN EQUINOS.

Esta encuesta es de carácter confidencial. Los resultados obtenidos se utilizarán exclusivamente para uso académico. Se agradece su colaboración.

Usted es:

Propietario Veterinario Encargado

El establecimiento es:

Haras Hípico Otros

Provincia:

Ciudad/pueblo (cercano):

Cantidad de Equinos:

¿Realiza diagnóstico parasitario?

¿Con qué frecuencia?

¿Quién decide cuándo y cómo desparasitar?:

Propietario Veterinario Encargado

¿Por qué decide desparasitar?:

Cambio de estación

Signos clínicos

Resultados de huevos por gramo.

Tiempo de la última desparasitada.

Otros:

¿Qué antiparasitarios utiliza?

¿Con qué frecuencia desparasita?

¿Cambia los antiparasitarios entre 2 aplicaciones?

Si no

¿Conoce un Test de prueba de eficacia de antiparasitario?

¿Realiza algún test de prueba de eficacia antihelmíntica?

Gracias. Raimundo Peñafort.

ANEXO 2: Técnicas parasitológicas:

1. Técnica de Teuscher: es un método sensible y práctico para el diagnóstico de huevos y larvas de nematodos, huevos de cestodos y trematodos, que combina la flotación con sedimentación. La técnica se realizó de la siguiente manera: se colocaron 4 gramos de materia fecal en 200cc de agua, se tamizó y se recogió el filtrado en un vaso de precipitado. Posteriormente, se lavó el tamiz con 50cc de agua y ese lavado se derramó en un vaso de precipitado y se dejó reposar 20 minutos. Luego, se vertió el sobrenadante y se pasó el sedimento a un tubo de centrífuga. Al vaso de sedimentación se lo lavó con 2 a 3 ml de agua y este líquido se agregó al tubo. Después de dejarlo sedimentar 5 minutos se extrajo el sobrenadante con una pera de goma hasta dejar 2ml de sedimento en el tubo, aquí se le agregó solución de sulfato de Magnesio y se centrifugó a 2000 rpm durante 5 minutos. A continuación, se agregó más solución con un gotero hasta que se formó un menisco convexo sobre el cual se colocó un cubreobjetos. Después de esperar entre 5 a 20 minutos se retiró el cubreobjetos y se colocó sobre un portaobjetos y se observó en el microscopio.
2. Técnica de Mc Masters modificada por Roberts y O'Sullivan (1949) para obtener los recuentos de huevos tipo estrogilido. Se realizó de la siguiente manera: se homogenizó la muestra y se recogió 5gr de materia fecal, se colocó en un mortero y se disolvió en 100 ml de solución sobresaturada de NaCl o solución de Willis, se filtró y de la solución resultante se tomó una alícuota que se colocó en la cámara de Mc Masters. Posteriormente se dejó reposar 5 minutos para que los huevos floten y se peguen a la parte superior de la cámara. Luego fueron observados en el microscopio óptico con objetivo de 10x y se contaron los huevos tipo estrogilido. En este caso se contaron dos cámaras, y se multiplicó por el factor 20 para expresar el resultado en huevos por gramo, con un límite de detección de 10 hpg.
3. Las muestras con recuentos de huevos por gramo de materia fecal (HPG) superiores a 400 hpg, se destinaron para realizar los cultivos de larvas según la técnica de Henriksen y Korsholm modificada. Se colocó 1 gramo de materia fecal en un recipiente, si hacía falta se le corregía la humedad, y se agregó telgopor granulado que se mezcló hasta lograr una consistencia poco pastosa (desmenuzada). Se cortó un vaso plástico a la mitad siguiendo su circunferencia. La mitad inferior (A) es en la que se alojaron las heces a cultivar. Se identificó la muestra en la cara externa del fondo de la misma y luego se realizaron pequeñas

perforaciones con una tijera. Se colocó la muestra (heces mezcladas con telgopor) en (A) y sobre la misma se extendió una gasa de 5 cm de largo. Luego, se acopló invertida la otra mitad del vaso (B) sobre (A) tratando que la gasa quede firme y sujete el material a cultivar. Finalmente, se introdujo (A+B) en otro vaso (C) con agua en su parte inferior (0.5 cm) para aportar humedad, cuidando que no se moje la gasa. Se incubó el cultivo durante unos 15 días a 20-22° C, evitando que pierda humedad. Finalizada la incubación, se retiró el vaso (C) y se transfirió el cultivo (A+B) a un vaso cónico sumergido en agua tibia libre de cloro. Se dejó decantar a temperatura ambiente 12-24 h. Para recuperar las larvas infectantes, concentradas en el fondo del vaso cónico, se tomaron con una pipeta 3-4 ml y se conservaron, sin agregados químicos, en un tubo pequeño hasta su lectura. Para ésta se transfirió una pequeña alícuota a un portaobjetos y se agregó 1-2 gotas de solución yodurada. Por último, se identificaron en el microscopio óptico 100 L3 por cultivo y se aplicaron los porcentajes obtenidos a los conteos de hpg de materia fecal.



Figura 4. Director: M.V Carlos Motta. Tesista: Peñafort Raimundo. Codirector: M.V Joaquín Lombardelli. GRACIAS!