



Universidad de Viña del Mar
ESCUELA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**COMPARACIÓN DE LA EFICACIA DE DOS
ANTIHELMÍNTICOS EN EL TRATAMIENTO DE PEQUEÑOS
ESTRONGILOS (CYATOSTOMIDOS) EN EQUINOS DEL
REGIMIENTO DE CABALLERÍA BLINDADA N°1
GRANADEROS, QUILLOTA, CHILE**

Memoria Para Optar al Título de Médico Veterinario

NICOLÁS CÁCERES CABEZAS
Profesor Guía: Dr. Ricardo Kraushaar Heyermann
Profesor Informante: Dr. Jorge Lohse Muñoz

VIÑA DEL MAR – CHILE
2010

ÍNDICE

1 RESUMEN.....	1
2 INTRODUCCIÓN.....	3
3 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1 Antecedentes y generalidades de los Cyatostomidos.....	5
3.2 Distribución y Epidemiología.....	8
3.3 Presentación clínica de la Cyatostomiasis.....	11
3.4 Efecto patógeno de la Cyatostomiasis.....	12
3.5 Diagnóstico de la Cyatostomiasis.....	13
3.6 Antecedentes generales de los antihelmínticos.....	15
3.7 Situación actual de la resistencia a los antihelmínticos en equinos.....	16
3.8 Antecedentes de los Benzimidazoles.....	19
3.9 Antecedentes de las Lactonas Macroclínicas.....	21
3.10 Diagnóstico de la resistencia antihelmíntica mediante el método de reducción del conteo fecal de huevos	24
4 OBJETIVOS.....	26
4.1 Objetivo general.....	26
4.2 Objetivos específicos.....	26
5 MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
5.1 Materiales.....	27
5.2 Métodos.....	28
5.2.1 Descripción de método Fecal egg Count Reduction test.....	28
5.2.2 Descripción de la técnica de Mac-Master Modificada.....	29
5.2.3 Análisis estadístico.....	30
6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
7 CONCLUSIONES.....	35
8 BIBLIOGRAFÍA.....	36
9 ANEXOS.....	46

1 RESUMEN

El presente estudio se realizó con el objetivo de comparar la eficacia de dos fármacos pertenecientes a diferentes clases de antihelmínticos en el control de pequeños estrogilos (*Cyathostominae*) en equinos que se encontraban en dependencias del Regimiento de Caballería Blindada N°1 Granaderos, ubicado en Quillota, Chile.

Se utilizó un fármaco perteneciente a la clase de los benzimidazoles (Fenbendazol) y otro perteneciente a la clase de las lactonas macrocíclicas (Ivermectina), ambos administrados vía oral según dosis. El estudio se realizó con 21 equinos entre 5 y 15 años seleccionados al azar, con los cuales se procedió a realizar exámenes coproparasitológicos cuantitativos para aplicar el método de reducción del conteo de huevos en fecas (FECRT) como medio para determinar la eficacia de las drogas y la existencia de resistencia a los antihelmínticos en la población de nemátodos.

El porcentaje de eficacia de Ivermectina fue de 100% y el de Fenbendazol de 68.5%, determinando así que la Ivermectina es más efectiva que Fenbendazol en el control de la parasitosis en estudio.

Con respecto a la resistencia, ésta se presentó frente a benzimidazoles y fue negativa para lactonas macrocíclicas, constituyendo éste el primer reporte de resistencia a los benzimidazoles en la Quinta Región.

Ningún equino presentó alguna reacción adversa medicamentosa al tratamiento con las drogas, concluyendo que ambas drogas son bien toleradas.

SUMMARY

The present research was executed with the aim to compare the effectiveness of two drugs belonging to different types of anthelmintic in the control of Cyathostomins in equines belonging to the dependences of Regimiento de Caballería Blindada N° 1 Granaderos, Quillota, Chile.

It was utilized a drug belonging to the type of benzimidazoles (Fenbendazole) and the other was of macrocyclic lactones (Ivermectin). The study was realized with 21 equines between 5 and 15 year-olds randomly sampled, in which was proceeded to realize quantitative coproparasitologics techniques in order to apply the reduction method of fecal eggs counts as a mean of determining the efficiency of both drugs and the existence of anthelmintic resistance in equines population.

The efficiency percentage of Ivermectin was 100% and 68.5% in Fenbendazole establishing though that Ivermectin was more effective than Fenbendazole for this parasite control.

Regarding to the resistance it was showed opposite to benzimidazoles and it was negative for macrocyclic lactones, constituting this study as the first report of benzimidazol resistance in Valparaiso.

None equine showed any kind of adverse response to drugs treatment concluding that both drugs are well tolerated.

2 INTRODUCCIÓN

Los parásitos se generan con la vida, y seguramente han acompañado al ser humano y a los animales desde sus orígenes. En la actualidad existen datos con una antigüedad de 10.000 años en el continente americano en donde se han localizado huevos de *Enterobius vermicularis* en materia fecal de ser humano (Sumano y Ocampo, 1997).

Las parasitosis son enfermedades de verdadera importancia en el ser humano y en los animales domésticos (Sánchez *et al.*, 2002). De éstas, el parasitismo gastrointestinal representa una de las patologías más comunes que afecta a las especies domésticas, entre ellas el caballo (Rubilar, 2001).

Los helmintos intestinales son una importante causa de enfermedad en el equino (Matthews, 2004). Éstas parasitosis pueden originar sintomatología muy variada según la gravedad del cuadro, puede presentarse desde pérdida del apetito hasta la muerte del individuo parasitado (Sánchez *et al.*, 2002).

Dentro de las enfermedades más comunes que afectan al equino están las parasitosis causadas por nemátodos de la subfamilia *Cyathostominae* (Raizman, 1997).

Los estrogilos son parásitos nemátodos del intestino grueso de los equinos conocidos comúnmente como grandes estrogilos y pequeños estrogilos (Barriga, 2002).

Los Cyatostomidos, conocidos también como pequeños estrogilos o triconemas, son considerados actualmente como los endoparásitos más comunes y de mayor patogenicidad en la especie equina, debido a la drástica reducción causada desde 1980 por los antihelmínticos modernos sobre los grandes estrogilos, subfamilia *Strongylidae* (Kaplán, 2002; Lyons, 1999; Herd, 1990).

Desafortunadamente esto resultó en la selección de Cyatostomas resistentes a algunas drogas usadas para su control (Kaplam, 2004; Kaplam, 2002).

El desarrollo de resistencia a las drogas antihelmínticas por parte de los Cyatostomas constituye un creciente desafío a la salud equina debido a que se desconoce cuándo una nueva clase de droga se espera en el mercado (Nielsen, 2007). Situación que adquiere particular relevancia debido a que para el futuro previsible, la quimioterapia antihelmíntica se mantiene como el eje principal de los programas de control contra los helmintos (Taylor, 2002).

Los Cyatostomidos han presentado resistencia a todos los antihelmínticos disponibles exceptuando al grupo de las lactonas macrocíclicas (Sangster, 1999). Por lo que se ha propuesto un manejo técnico-científico realizado por un especialista, que en este caso, sería el Médico Veterinario (Sumano y Ocampo, 1997).

Cabe considerar que la resistencia a la ivermectina y a otras lactonas macrocíclicas por nemátodos del mismo orden (*Strongylidae*) pero que parasitan a rumiantes es un fenómeno conocido mundialmente (Wolstenholme *et al.*, 2004).

El método más usado para la detección de resistencia a los antihelmínticos es el de reducción de huevos en el conteo fecal denominado por sus siglas en inglés como FECRT. (Torgerson, 2005). Se usa para la detectar y monitorear la resistencia antihelmíntica en los nemátodos y es adecuado para todos los tipos de antihelmínticos incluyendo aquellos que requieren metabolizarse dentro del huésped (Taylor, 2002). Es considerada la prueba de elección para el diagnóstico de resistencia a los antihelmínticos en caballos (Kaplam, 2004).

3 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1 Antecedentes y generalidades de los cyatostomas

Los Cyatostomidos, conocidos comúnmente como pequeños estrongilos, son un complejo grupo de nematodos y constituyen los principales parásitos patógenos de los caballos (Matthews *et al.*, 2008).

En la tabla nº1 se presenta la clasificación taxonómica de estos nematodos (Dwight y col, 2004; Lichtenfels *et al.*, 2002; Alcaino *et al.*, 1999).

Tabla N°1 Clasificación taxonómica de los Cyatostomas

Clase	Familia	Subfamilia	Géneros
Nematoda	<i>Estrongylidae</i>	<i>Cyathostominae</i>	<i>Cyathostomun</i>
			<i>Cylicocyclus</i>
			<i>Cylicostephanus</i>
			<i>Cylicodontophorus</i>
			<i>Poteriostomun</i>
			<i>Paraposteriostorum</i>
			<i>Petrovinema</i>
			<i>Coronocyclus</i>
			<i>Gyalocephalus</i>

Son invertebrados de cuerpo cilíndrico, con una cavidad central del cuerpo llamada pseudoceloma y un aparato digestivo provisto de boca y ano. (Barriga, 2002).

Miden entre 0.5 y 2 cm. de largo y menos de 1mm de diámetro, su color es amarillo o blanco. Ambos tienen una capsula bucal grande con un círculo de flecos a su entrada llamada “corona radiada” (Barriga, 2002).

Parasitan el intestino grueso de caballos, elefantes, cerdos, marsupiales y tortugas. Existen unas cuarenta especies que parasitan el ciego y colon de los caballos y es habitual encontrar hasta quince o veinte de estas especies infectando simultáneamente al mismo hospedador (Dwight y col, 2004).

Esta parasitosis en el individuo y en la población es compleja, debido principalmente a la interesante característica biológica que presentan estos nematodos, que es su habilidad de pasar de la vida libre en el ambiente, a la vida parasitaria en el huésped y a la vida libre nuevamente (Jones, 2004).

Los cambios que experimentan de una generación a la siguiente se conoce como ciclo de vida (Barriga, 2002). En el caso de los Cyatostomidos su ciclo de vida es directo, no-migratorio, en el que una proporción substancial de ellos toma lugar en la mucosa y submucosa del intestino grueso. En esta ubicación el nemátodo experimenta tres estadios de desarrollo: tercer estado larval temprano (EL3)¹, tercer estado larval tardío (LL3)² y desarrollo del cuarto estado larval (L4) (Ogbourne, 1976). Una vez que su desarrollo alcanza el estado L4 el parásito llega a su madurez sexual y comienza con su reproducción. Los huevos puestos por hembras maduras son expulsados juntos con las heces al medio ambiente donde evolucionan al estado infectante conocido como L3. La L3 consumida por el caballo pierde su cubierta y se ubica en la mucosa y submucosa del colon y el ciego lugar en el cual se forma un quiste, cerrándose de esta manera el ciclo (Little y Gardner, 2003).

Una vez formado el quiste en la capa mucosa se describen dos situaciones. La primera es que el parásito inmediatamente vuelva al lumen intestinal, se desarrolle a su estado adulto (L4), se reproduzca y comience la eliminación de huevos al ambiente; la segunda es conocida como hipobiosis o arresto larvario, en esta el parásito permanece arrestado en el interior de un quiste pudiendo mantenerse así por períodos de hasta dos años o más para luego desenquistarse y

1 Early larval stage.

2 Late larval stage

finalmente volver al lumen intestinal donde madura a estado adulto (Little y Gardner, 2003). Los estímulos necesarios para que la larva abandone el período de hipobiosis se mantienen aún desconocidos (Jones, 2004).

A pesar de la importancia del proceso de reactivación de las larvas en la mucosa en caballos infectados, poco se conoce acerca de los mecanismos que desencadenan este proceso y menos acerca de la biología básica de los variados estados en la mucosa (Matthews *et al.*, 2008).

Este fenómeno de hipobiosis representa una de las adaptaciones mas eficaces del ciclo de vida de los Cyatostomidos, permitiéndoles sincronizar su ciclo de vida frente a cambios ambientales asegurando su sobrevivencia durante períodos en que las condiciones ambientales para la transmisión del estado infectante son adversas y la sobrevivencia de sus formas de vida libre es mínima (Gibss, 1982).

Por esta razón el período prepatente de este parásito es muy variable. Tiene una duración de alrededor de 2 a 4 meses pero puede extenderse por muchos meses cuando el tercer estado larvario experimenta inhibición de su desarrollo en la mucosa. La existencia de una acumulación masiva del estadio larvario en la mucosa durante el otoño y el invierno, conduce a una reactivación y maduración de gran cantidad de parásitos en primavera (Knottenbelt y Pascoe, 2003).

La potencial restricción ambiental al desarrollo del ciclo de vida de estos nemátodos es el clima, particularmente la temperatura y la humedad, factores que pueden influenciar drásticamente el desarrollo larvario y la sobrevivencia de las larvas de vida libre (Gibss, 1982). Esta situación determina que la cantidad de larvas infectantes en el ambiente sea mayor en los meses de crecimiento de las pasturas (Nielsen, 2007, Thomas, 1982).

Bajo condiciones de laboratorio el desarrollo del estado infectivo ocurre entre los 10 y los 35° C. Se describe que se requieren entre 15 a 24 días para lograr el

desarrollo de L3 infectante a una temperatura de 10° C, mientras que a temperaturas elevadas, de 35° C, este estado se alcanza a los 3 días (Mfitilodze, 1987).

La humedad también afecta el desarrollo larvario especialmente a elevadas temperaturas (25° a 39° C). Cuando el contenido de humedad fecal es mayor al 20% la larva no llega a su estado infectivo y permanece pre-infectiva hasta por 7 días, por lo tanto las larvas infectivas sobreviven mejor en heces secas que en húmedas (Mfitilodze ,1987).

Con respecto a la sobrevivencia de las larvas infectivas, bajo condiciones de laboratorio, estas sobreviven de buena forma entre 20° y 33° C, y muchas de ellas se pueden recuperar después de tres meses en heces incubadas entre 20° y 28° C. Entre los 33° y los 37° C la sobrevivencia de las larvas se ve afectada por el contenido de humedad, en donde; incluso un nivel de humedad residual de 40% disminuye significativamente el número de larvas recuperadas de heces incubadas por un mes a 37° C. (Mfitilodze, 1987).

3.2 Distribución y epidemiología

Esta parasitosis está difundida por todo el mundo y adquiere especial importancia en todas las regiones en las que se efectúa la crianza de equinos destinados tanto para el trabajo agrícola, como para la producción de caballos selectos o deportistas (Tarazona, 1999).

Infectan a equinos que consumen pasto en todos los tipos de climas y en todas las condiciones geográficas alrededor del mundo. Sumado a esto, las especies reportadas como las más comunes son generalmente las mismas encontradas mundialmente, aun cuando las diferencias climáticas sean muy marcadas en los lugares en donde se realizan los estudios de identificación de especies (Nielsen, 2010, Matthee, 2002, Omeara, 2002, Love, 1992, Krecek, 1989, Reinemeyer *et al.*, 1983).

La prevalencia de esta parasitosis es muy elevada; virtualmente el cien por ciento de los equinos se encuentra infectado con estos parásitos. El número total de gusanos es típicamente mayor en animales inmaduros en comparación con animales de mayor edad, lo que indicaría que al menos se produce inmunidad, la que sería resultante de la exposición previa a los vermes (Lyons *et al*, 1999, Gawor, 1995, Herd, 1990, Eysker, 1986).

La larva inhibida es relativamente refractaria a la variedad de antiparasitarios actualmente disponibles, así que los caballos tratados previamente pueden mantener una elevada carga de estos estados parasitarios (Matthews, 2004).

Estos nemátodos son difíciles de controlar en poblaciones equinas debido a la emergente resistencia y a la evasión de las larvas enquistadas a los antihelmínticos modernos de uso regular (Du Toit, 2007).

El contagio se efectúa mediante la ingestión de larvas infectantes L3 en potreros, praderas, pienso o con el agua. En las caballerizas esto sucede por la alimentación con forrajes procedentes de praderas infestadas, este tiene lugar por lamer paredes, columnas y otros objetos a los que hayan trepado las L3. Tiene un papel primordial en la permanencia de la enfermedad en la población los eliminadores asintomáticos de parásitos, así como la capacidad de las L3 de enquistarse en la mucosa manteniendo así el contagio del ambiente de una temporada a otra (Burchert, 1981).

El hecho de que la larva “inhibida-enquistada” sea relativamente refractaria a la variedad de antiparasitarios actualmente disponibles, hace que los caballos tratados con antihelmínticos mantengan cargas de parásitos asegurando así la reinfección (Matthews, 2004).

Según Jones (2004) los períodos de alta infectividad son la primavera y el verano en el hemisferio sur y otoño, invierno y la primavera temprana en el norte.

Un estudio realizado por Love (1992) compara la infestación natural de equinos jóvenes y adultos sometidos a las mismas pasturas determinando que el fenómeno de hipobiosis es mayor en caballos jóvenes en comparación con adultos. Otra evidencia del efecto de la edad sobre el desarrollo de los *Cyathostomas* es que los conteos de huevos en heces de equinos adultos son más bajo en comparación con equinos jóvenes.

En caballos jóvenes el período prepatente tiende a ser más largo y mayores proporciones de larvas infectantes enquistan y experimentan retraso en su desarrollo en comparación con caballos adultos (Little y Gardner, 2003). Los equinos de más edad desarrollan resistencia a la re-infestación, y algunos pueden soportar infestaciones intensas sin sufrir efectos serios esto contribuye a que los adultos sean una fuente de infestación para animales más jóvenes. Se ha estimado que un caballo cuyas heces presenten 1000 huevos por gramo elimina 30×10^6 huevos diarios (Soulsby, 1987).

Mateluna (2005) determina un 30,2% de prevalencia en equinos residentes del Sporting de Viña del Mar, demostrando que esta parasitosis es endémica en la Quinta región.

Jofré (2004) estudió la presencia del parásito en el ambiente biológico, determinando que un 59,3% de las pesebreras analizadas eran positivas a larvas en diferentes estados de desarrollo, en comparación con el análisis de potreros que presentó un 33,3% de muestras positivas. Por lo tanto, concluye que la mayor fuente de infección en este caso, se encontraba en las pesebreras.

Hadad (2001) observó un 70,5% de pesebreras positivas y 75% en los potreros, con lo que demuestra que las fuentes de infección a considerar son ambos lugares.

3.3 Presentación clínica de la cyatostomiasis

El parasitismo intestinal puede originar sintomatología muy variada (Sánchez *et al.*, 2002).

En el caso de esta parasitosis, es reconocida como causa de diarrea y enfermedad inflamatoria del intestino grueso en caballos de todas las edades. Pudiendo llegar a ser la causa más comúnmente identificada de diarrea crónica en el caballo (Jones, 2004).

Los signos clínicos están caracterizados por una pérdida moderada a severa del peso o baja ganancia de peso, disminución del crecimiento, edema ventral, fiebre intermitente y cólico moderado de presentación intermitente. Episodios agudos de diarrea son típicamente profusos y progresan hacia diarrea crónica la cual frecuentemente es de severidad media. El apetito es usualmente normal, pero caballos afectados ocasionalmente presentan un apetito voraz. La palpación rectal en estos pacientes usualmente no revela ninguna anormalidad (Jones, 2004).

Las infecciones subclínicas de esta parasitosis llevan a un impacto negativo, reduciendo la eficiencia de conversión alimentaria y bajando la performance competitiva, ésta presentación es la más común de encontrar en caballos que están siendo afectados (Raizman, 1997).

La emergencia de un gran número de larvas hipobióticas resulta en un síndrome conocido como Cyatostomiasis larval. Este es un síndrome agudo que cursa con diarrea, anorexia, pérdida de peso y que podría ser fatal (Carter *et al.*, 2007).

Este síndrome agudo ocurre más comúnmente en caballos jóvenes presentando una tendencia estacional siendo más común en los últimos meses de invierno y en los primeros meses de primavera (Klei, 1997). La patología clínica

revela que los pacientes afectados con este síndrome manifiestan una leucocitosis neutrofílica típicamente evidente, aún cuando el conteo celular de la línea blanca puede ser normal. Una marcada hipoalbuminemia es otro hecho característico que se manifiesta clínicamente por un edema ventral. El análisis del fluido peritoneal no revela ninguna anormalidad (Jones, 2004).

El examen *post-mortem* de estos pacientes muestra una gran inflamación de ciego y colon, con numerosas larvas dentro de la mucosa (Soulsby, 1987).

Otro tipo de presentación de esta parasitosis se conoce como Cyatostomiasis resistente la que se define como una condición genética en la que sucede un incremento en la frecuencia de la población de Cyatostomas que alguna vez fueron eliminados por una droga y que sobrevive al tratamiento con la misma droga (Little y Gardner, 2003).

3.4 Efecto patógeno de la cyatostomiasis

Las etapas de la mucosa son relevantes en la patología contraída en esta enfermedad. Nada se sabe sobre los mecanismos específicos que utiliza el parásito para existir en este estado, sea este mediado por el parásito o por el sistema inmune del huésped (Matthews *et al.*, 2008).

La larvas causan daño en el tracto intestinal, éstas se alimentan en la mucosa intestinal penetrando y desarrollándose en la pared del intestino grueso formando nódulos que pueden ser tan numerosos que, en ocasiones, es difícil encontrar una zona de mucosa normal (Soulsby, 1987).

La emergencia natural de las larvas causa una inflamación fibrinosa del intestino grueso, necrosis focal, hemorragia mural, y ulceración de la mucosa del intestino grueso la cual puede resultar en sangramiento hacia el lumen. Una inflamación eosinofílica y mononuclear ocurre en la lamina propia en donde sucede

un edema intersticial moderado a severo, esta situación ocurre frecuentemente como consecuencia de esta parasitosis (Jones, 2004).

Collobert *et al* (2002), determina que infiltraciones de células inflamatorias, principalmente eosinófilos y basófilos, a lo largo del intestino grueso están asociadas a esta parasitosis.

Este tipo celular y sus proteinasas han mostrado tener un rol en la respuesta inmune mamífera a las infecciones por nematodos (Du Toit, 2007), por lo que la parasitosis en cuestión es causa de colitis eosinofílica crónica (Jones, 2004, Collobert *et al.*, 2002).

Hay que atribuir a estos parásitos un efecto nocivo considerable, pues aparte de la formación nodular, influyen en la patología los productos metabólicos tóxicos elaborados por los vermes y sus larvas (Burchert, 1981) los cuales son productos finales de un proceso de fermentación anaerobia. Estos son principalmente ácidos grasos orgánicos y alcoholes, ambos causantes de irritación de la mucosa (Sánchez *et al.*, 2002).

Un estudio realizado por Bueno y col (1979), determinó mediante electromiografía que equinos naturalmente infectados exhiben un bajo nivel de movilidad ileal y una reducción de la respuesta ceco-cólica post prandial. También determina una marcada disminución y/o desorganización de los patrones de movilidad ileal acompañados de diarrea intermitente posterior a una infección experimental por lo que demuestra que la parasitosis resulta en cambios en los patrones de movilidad, asociada con baja ganancia de peso y disturbios digestivos

3.5 Diagnóstico de la cyatostomiasis

El diagnóstico de esta parasitosis es por medio de técnicas coprológicas cualitativas o cuantitativas. Muchas de las formas parasitarias vistas en las heces

tienen un aspecto morfológico característico, que combinado con el conocimiento del hospedador, es diagnóstico de una especie particular de parásito. Por otro lado, ciertos parásitos producen similares huevos, ooquistes, etc. y no pueden ser identificados a nivel de especies (Zajac, 1994).

El 75 al 100% de los huevos eliminados con las heces de caballos con una infección natural son producidos por pequeños estrongilos puesto que su número es inmensamente superior que el de los grandes estrongilos, tanto en especies, como en cantidad de individuos (Dreyer y col, 2004).

Si bien no es posible distinguir entre los huevos de las diversas especies de estrongilidos que parasitan el intestino grueso del caballo, como norma, la presencia de huevos ovales, de cáscara fina, del tipo estrongiloide, es suficiente para establecer el diagnóstico (Soulsby, 1987). Estos huevos están formados por dos capas, una interna lipoidal y otra externa quitinosa (Barriga, 2002).

Si se requiere de una identificación exacta, es necesario recurrir a cultivos fecales para obtener las larvas de tercer estado, las cuales pueden identificarse usando las claves apropiadas mediante la observación del aparato bucal y la forma de la larva (Soulsby, 1987).

Debido a que la coprología sólo es útil para parásitos patentes (Cordero del Campillo, 1999), en el caso de la presentación aguda, el diagnóstico definitivo usualmente requiere examinación microscópica de biopsias del ciego y el colon obtenidas por laparotomía, las que revelan la presencia de larvas de cyatostomas (Jones, 2004), a pesar de la importancia clínica de esta situación no existen técnicas diagnósticas poco invasivas para detectar al parásito en su estado prepatente (Dowdall *et al.*, 2004).

Las técnicas de recuentos de huevos se pueden aplicar en principio a cualquier infección parasitaria patente de cualquier hospedador. Sin embargo, a efectos prácticos su mayor utilidad radica en estimar los niveles de infecciones por

estrongilidos en rumiantes y caballos. En condiciones de manejo habituales, estas especies de animales domésticos siempre eliminan huevos de estrombilidos con las heces, excepto cuando se acaban de tratar con cualquier antihelmíntico eficaz. Por eso, la cuestión no es si estos animales están afectados con huevos de estrombilidos, si no cuál es el nivel de infección que padecen (Dwight, 2004). Estas técnicas de coprología cuantitativa son aplicadas primariamente para estimar la extensión de la contaminación y para determinar presencia de parásitos resistentes a las drogas (Zajac 1994).

3.6 Antecedentes generales de los antihelmínticos

Sólo tres clases de antihelmínticos están disponibles para caballos. Estos son benzimidazoles (ej. fenbendazole), tetrahydropyrimidinas (ej. pamoato de pyrantel), y lactonas macrocíclicas (ej. ivermectina, moxidectina). (Little y Gardner 2003). La fenilguanidina; febantel, es considerada un pro- benzimidazol y es metabolizada a fenbendazol in vivo (Klei, 1997).

Estas drogas interfieren en sitios de acción que son únicas en el parásito o difiere en su estructura en comparación con la contraparte homóloga presente en el huésped vertebrado (Kohler, 2001).

A nivel celular, tres son los puntos principales sobre los cuales los antihelmínticos tienen actividad en contra de infecciones por helmintos éstos son canales iónicos, microtubulos y transportadores energéticos (Long, 2004).

El sobreuso de estas drogas ha tenido una reciente preocupación a causa de una potencial inducción de cepas de *Cyatostomas* resistentes a las drogas y la posibilidad de efectos adversos sobre organismos de vida libre en el medio ambiente de la pastura (Klei, 1997).

3.7 Situación actual de la resistencia a los antiparasitarios frente a los nematodos en equinos

Los virus, bacterias, helmintos e insectos poseen una enorme facilidad para generar resistencia contra los fármacos a los que son expuestos (Sumano y Ocampo, 1997).

En el caso de la resistencia de los helmintos a los antiparasitarios, en el año 1957 aparece el primer informe de resistencia a la fenotiazina. Sin embargo, es en la década de los ochenta cuando comienza a tomarse conciencia de la magnitud mundial del problema, el que aparece primariamente en ovinos y caprinos, pero que termina afectando también a equinos, porcinos y a seres humanos (Eddi *et al.*, 2002).

En poblaciones de animales en las cuales los tratamientos farmacológicos antiparasitarios son la única medida de control, vermes de algunas especies de helmintos evaden los efectos de los tratamientos específicos. Si estos individuos son seleccionados (removiendo los individuos susceptibles en la población) la población de vermes en ese lugar en particular se vuelve dominante en número y efecto. Esta situación de poblaciones de vermes resistentes a los antihelmínticos es en su mayoría reportada en equinos y pequeños rumiantes. (Craig 1993).

En la actualidad el grupo de los Cyatostomidos han presentado resistencia a todos los tratamientos farmacológicos antiparasitarios disponibles exceptuando al grupo de las lactonas macrocíclicas (Sangster, 1999).

Esta situación de resistencia se presenta en todo el mundo también en nemátodos parásitos de rumiantes y pequeños rumiantes y por ejemplo, en el caso de las especies *Haemonchus* sp, *Teladorsagia* sp. y *Trichostrongylus* sp. contra todos los antihelmínticos comúnmente usados (Craig, 1993).

Son factores muy importantes en la generación de éste fenómeno, el uso continuo e indiscriminado de los medicamentos, la administración de dosis subterapéuticas y períodos de aplicación muy cortos, falta de rotación de grupos farmacológicos, condiciones zoonositarias inadecuadas e inexistencia de un plan técnicamente elaborado en el control de las enfermedades, en este caso, las parasitosis (Lloyd, 2000; Sumano y Ocampo, 1997.)

La resistencia de los Cyatostomidos al grupo de antiparasitarios benzimidazoles se ha presentado en todo el mundo (Craig, 1993). En el sur de Chile Canales (2001) determina la presencia de este fenómeno mediante el método de reducción de huevos en heces.

Como la resistencia a los antimicrobianos por parte de las bacterias, la resistencia a los antihelmínticos está asociada a una modificación genética que transforma a una población susceptible de parásitos a una resistente (Long, 2004).

En el caso del equino, las estrategias de tratamiento antihelmínticas supresivas originalmente diseñadas para el control del parásito *Strongylus Vulgaris* tuvieron en resultado extremadamente exitoso en reducir la morbilidad y la mortalidad de esta enfermedad parasitaria. Desafortunadamente, ésta estrategia resultó en la selección de Cyatostomas resistentes, que en el caso de las drogas benzimidazolicas es elevadamente prevalente en todo el mundo (Kaplán, 2002).

La resistencia tiene una base genética, repetidos y frecuentes usos de la misma clase de antihelmínticos selecciona a poblaciones resistentes (Klei, 1997). Al presente existen pocos datos disponibles sobre los mecanismos moleculares de la resistencia de los Cyatostomas a los antihelmínticos; el gen beta- tubulina, un gen asociado a la resistencia a los benzimidazoles, es el único asociado a este fenómeno que ha sido clonado (Von Samson-Himmelstjerna *et al*, 2006, Kaplám, 2004).

Debido a la masificación del uso de la ivermectina para el control de nemátodos en equinos, existe consenso entre los Parasitólogos Veterinarios en que esto conducirá inevitablemente al desarrollo de la resistencia en los Cyatostomidos (Sangster, 1999), aún cuando no existen reportes de Cyatostomidos resistentes a las lactonas macrocíclicas (Kaplam, 2004). Solo se han reportados casos de reducción en el tiempo de reaparición de huevos después del tratamiento con ivermectina. (Lyons *et al* 1999, , Molento *et al.*, 2008; Von Samson-Himmelstjerna *et al.*, 2007).

Cabe considerar que la resistencia a la ivermectina y a otras lactonas macrocíclicas por nemátodos del mismo orden (*Strongylidae*) pero que parasitan a rumiantes es un fenómeno ampliamente conocido en todo el mundo. (Wolstenholme *et al.*, 2004).

Vieira (1992) en Brasil demuestra la presencia de resistencia de *H. Contortus* frente a la ivermectina en ovinos, reportando así la presencia de este fenómeno en Latinoamérica.

A pesar de su creciente importancia, aún existe un pobre conocimiento de las bases moleculares y genéticas de la resistencia. Es poco claro qué mutación contribuye más al fenotipo de resistencia y cuáles alelos resistentes la originan (Gilleard, 2006).

Debido a que no se esperan nuevos antihelmínticos con diferente modo de acción en el mercado y que la quimioterapia antihelmíntica se mantiene como el eje principal de los programas de control (Taylor, 2002), la mantención de la eficacia de los antihelmínticos existentes es esencial para asegurar la producción y el bienestar animal (Coles *et al.*, 2006).

El desarrollo de resistencia a las drogas antihelmínticas de uso en equinos constituye un creciente desafío a la salud de estos debido a que se desconoce cuándo una nueva clase de droga antihelmíntica estará disponible (Nielsen, 2007).

3.8 Antecedentes de los antiparasitarios benzimidazoles

El uso potencial de los benzimidazoles (BZ) como quimioterapéutico en enfermedades parasitarias se estableció en el año 1950 a partir del descubrimiento de la molécula alfa – D ribofuranacil, que es parte integral de la vitamina B 12. El descubrimiento del tiabendazol, en 1961, marcó el inicio del desarrollo comercial de otros benzimidazoles y propició la síntesis de otros compuestos como los benzimidazoles-carbamato, con mayor actividad antihelmíntica (Sumano y Ocampo, 1997).

Se han sintetizado un variado número de éstos compuestos y están disponibles en varias formulaciones y presentaciones como productos para uso en caballos. Estos compuestos son altamente efectivos contra la mayoría de los nemátodos que viven en el tracto gastrointestinal, sin embargo existen algunas variaciones en su espectro de actividad (Klei, 1997).

Incluso algunos benzimidazoles han demostrado ser altamente efectivos contra estados migratorios de grandes strongylos y larvas enquistadas de *Cyatostomas* cuando se usan a elevadas dosis por períodos prolongados. Un ejemplo de esto es el uso de fenbendazole a 10 mg/kg por 5 días (Kley 1997).

Estudios realizados por Kirsch y Schleich (1982) acerca de la influencia del fenbendazole sobre el desarrollo de huevos en los nemátodos parásitos del ovino *Haemonchus contortus*, *Ostertagia circumcrista* y *Nematodirus* sp. revelaron que a dosis diarias de 0.05-0.1 mg/kg comienzan a aparecer huevos deformes, continuados de una reducción en el conteo de los mismos. Estos huevos presentan blastómeros de diferentes tamaños y formas, cráteres y burbujas por los que se le atribuye una acción ovicida al compuesto.

Todos los organismos eucariotas están formados por unidades estructurales llamadas microtúbulos. Estas estructuras proteicas son dímeros formados por

subunidades de proteínas llamadas tubulina alfa y beta, los microtubulos además de formar parte de la estructura del citoesqueleto participan en diversas funciones celulares particularmente en la división celular, el transporte de nutrientes y la excreción de desechos metabólicos (Sánchez *et al.*, 2002).

Lacey (1987), postulaba que el modo de acción de los benzimidazoles era por medio de la inhibición del proceso de polimerización de los microtubulos, esto por medio de la observación de huevos de nemátodos los cuales detenían su desarrollo al suspenderlos en una solución con una concentración conocida de tiabendazol.

Diferentes estudios de interacción entre moléculas de benzimidazol y tubulina, indican que estos compuestos se unen al monomero de la subunidad beta no dejando incorporar el mismo al polímero de tubulina. De esta manera las moléculas de benzimidazol provocan una disrupción en el equilibrio microtubulo/tubulina, desencadenando su despolimerización (Sánchez *et al.*, 2002), determinando así que el principal modo de acción de estas drogas es la disrupción de la formación del microtúbulo mediante la unión a la proteína tubulina. (Klei 1997). Los benzimidazoles son una clase útil de antihelmíntico debido a su especificidad por los microtúbulos no mamíferos. (Long, 2004)

El interés sobre el fenómeno de resistencia en los parásitos gastrointestinales del equino se centra primariamente en los Cyatostomas y principalmente frente a los benzimidazoles (Comer, 2006; Long, 2004; Varady *et al.*, 2000).

Varios estudios han reportado una prevalencia en la resistencia a los benzimidazoles mayor al 75 % (Kaplam, 2004). La resistencia al fenbendazole es aparentemente elevada, entre 79% al 90% en granjas muestreadas en estudios que usan conteos fecales de huevos como indicación de la efectividad de la terapia antihelmíntica (Long, 2004, Chapman *et al.*, 1991).

Debido a que su formulación es sólida y su vía de administración es oral, existen diversos factores que afectan la absorción de estos compuestos. Por ejemplo los benzimidazoles requieren de un PH gástrico bajo para volverse soluble. Ciertos estados patológicos, incluyendo el parasitismo gastrointestinal, pueden hacer que el PH gástrico se eleve. Esto puede generar una disminución en la solubilidad y en la absorción del compuesto, resultando en una tasa de excreción elevada particularmente cuando son acompañados de diarrea (Prichard, 1985).

3.9 Antecedentes generales de las lactonas macrocíclicas

Las lactonas macrocíclicas (LM), también denominadas avermectinas, incluyen la ivermectina, abamectina, doramectina, moxidectina y milbemicina. Este grupo de medicamentos fue sintetizado en 1980 por Chavala y colaboradores a partir de un fermentado de *Streptomyces avermitilis*, del cual se obtiene un anillo lactona macrocíclico que muestra efectos como antibiótico, antinematódico y además una marcada toxicidad contra los insectos. La ivermectina fue obtenida por primera vez por Burg y colaboradores en el año 1979. Más adelante, se descubrió su potente actividad antihelmíntica. Se inició su comercialización para Medicina Veterinaria en 1981; la ivermectina es un análogo semisintético de la abamectina (Sumano y Ocampo, 1997).

La ivermectina fue registrada como tratamiento inyectable para bovinos en 1981 y posteriormente registrada para su uso en equinos. La popularidad relativa de las avermectinas entre granjeros y veterinarios puede ser atribuida a su espectro de actividad, conveniencia, amplio margen de seguridad, promoción de la salud y su efecto de depósito tras su administración (Forbes, 1993).

Fue el primer compuesto de su clase en ser comercializado en los Estados Unidos por su acción parasitaria, la cual fue la de mayor espectro en comparación con los compuestos comercializados con anterioridad. El hecho de que la ivermectina tuviese tal aceptación es su eficacia a bajas dosis y su bajo nivel de toxicidad. Este es el primer compuesto en ser eficaz a dosis terapéuticas contra migraciones

parenterales de grandes estróngilos. Además demuestra ser altamente efectiva contra estados luminales de Cyatostomidos, pero carece de actividad contra estados enquistados en la mucosa, incluso a cinco veces su dosis terapéutica (Lyons, 1999). Klei (1993), demostró que equinos tratados con ivermectina a dosis de 1 mg/kg presentaron sólo una pequeña reducción en el número de las larvas enquistadas identificadas por transluminación de la mucosa del intestino grueso.

Del grupo de lactonas macrocíclicas disponibles para el uso en equinos, la ivermectina y la moxidectina son las de mayor aplicación. Estos dos compuestos están químicamente relacionados y comparten en común, dentro de su estructura, un anillo macrocíclico (Sangster, 1999).

La acción nematodocida de estas drogas se manifiesta por medio de la generación de una parálisis flácida de la musculatura somática del gusano lo que causa una inhibición de la alimentación de éste por medio del bloqueo de la succión faríngea que permite al verme alimentarse, por lo que se sugiere que la disrupción de las funciones de alimentación y la inanición del verme sería el efecto antinematódico de estos compuestos (Kohler, 2001).

Este efecto se manifiesta por medio de la estimulación de la liberación del ácido gammaaminobutírico (GABA) del parásito el cual es un neurotransmisor inhibitorio de los estímulos nerviosos en la placa neuromuscular (Sumano y Ocampo, 1977).

El sitio fisiológico de acción de estos compuestos es sobre una familia de canales de cloro ligado a glutamato que son específicos de los invertebrados. Estos canales son complejos protéicos conectados a la membrana celular los cuales ejercen su acción ionotrópica inhibitoria. La ivermectina actúa como agonista del glutamato incrementando el tiempo en que estos canales permanecen abiertos, lo que causa la entrada de iones de cloro. La unión de ivermectina al receptor

desencadena entonces la hiperpolarización de la membrana celular y la parálisis muscular (Kohler 2001).

Una vez que es absorbida después de su administración oral o sistémica es rápidamente transportada al hígado y al tejido adiposo donde es almacenada y liberada en un período de tiempo lo que le atribuye su efecto sostenido (Prichard, 1985).

En Chile, ivermectina, moxidectina y doramectina son productos que se emplean en el tratamiento contra los parásitos del equino, de los cuales, los dos primeros se encuentran disponibles en el mercado en una formulación comercial para la especie. La doramectina en su formulación inyectable destinada al uso en rumiantes se usa con frecuencia en los caballos de nuestro país (Rubilar, 2001).

Aunque existe un potencial impacto de los residuos de las lactonas macrocíclicas en las heces sobre la ecología del medio ambiente, la evidencia sugiere que cualquier efecto es temporal y limitado. Así después de más de una década de uso práctico no existen reportes de que las avermectinas causen un impacto significativo sobre la ecología de la pastura y el medio ambiente (Forbes, 1993, Strong, 1993).

Con respecto a la eficacia de la ivermectina Egerton (1981), sugiere que la administración parenteral de ivermectina a dosis de 0,2 mg/kg reduce en un 95% o más el número de *Cyatostomas* adultos. Ludwing *et al.*, (1984), realizó un estudio sobre la efectividad de la ivermectina aplicándola por vía intramuscular a la misma dosis en yeguas al día del parto y posteriormente puestas en una pastura libre de parásitos, obteniendo como resultado una significativa reducción de huevos tipo estróngilo por 4 meses. Esta reducida exposición a *Cyatostomas* se vio reflejada en bajas cargas de gusanos en sus potrillos por 5 meses por lo que la ivermectina sería efectiva y segura en controlar estróngilos equinos cuando las yeguas preñadas son trasladadas a pasturas libres de parásitos.

3.10 Diagnóstico de resistencia antihelmíntica mediante el método de reducción del conteo fecal de huevos

Una variedad de pruebas in vivo e in vitro han sido desarrolladas para la detección de poblaciones de nemátodos resistentes a los principales grupos de antihelmínticos (Nielsen, 2010; Taylor, 2002).

De estas pruebas la más ampliamente usada para detectar y monitorear la resistencia antihelmíntica en los nemátodos, es la prueba de reducción del conteo fecal de huevos, denominadas por su siglas en inglés como FECRT³ que es adecuada para todos los tipos de antihelmínticos incluyendo aquellos que requieren metabolizarse dentro del huésped (Taylor, 2002).

Esta prueba provee una estimación de la eficacia antihelmíntica por medio de la comparación de conteos de huevos en fecas de animales antes y después del tratamiento con el fármaco en evaluación (Taylor, 2002).

Es considerada la prueba estándar para el diagnóstico de resistencia a los antihelmínticos en caballos, debido a que es económica, expedita y fácil de realizar e interpretar (Kaplam, 2004; Canales, 2001).

Permite la detección temprana de resistencia antihelmíntica, resultando en una baja probabilidad de asignamiento inapropiado a un antihelmíntico como efectivo (Torgerson, 2005).

La técnica para el conteo de los huevos más comúnmente utilizada por los profesionales al ejecutar este método es la de MacMaster modificada porque no requiere centrifugación. Debido a que la eliminación diaria de unos caballos individuales varia, la prueba de reducción del conteo fecal debe ser realizada sobre

3 Faecal egg count reduction test.

un individuo sólo cuando el conteo de huevos de gusanos por gramo es mayor a 150 huevos por gramo (Presland *et al.* 2005, Little y Gardner, 2003).

Esta prueba se basa en que para que un antihelmíntico sea completamente efectivo ningún verme (resistente) debe sobrevivir al tratamiento seguido del vaciado del intestino (usualmente dentro de 48 horas). Sin embargo, hay que considerar el período temporal de la supresión de la producción de huevos (3 días levamisol, 7 días benzimidazoles, 14- 17 días para lactonas macrocíclicas) por lo que ningún huevo debe ser encontrado dentro de estos períodos de tiempo. El test acepta que una reducción mayor al 95% en los conteos fecales es indicativo de que el antihelmíntico en estudio es beneficioso cuando es usado en un programa de control de las parasitosis (Coles *et al.*, 2006, Coles *et al.*, 1992).

Para la realización del FECRT se deben usar animales con un conteo individual de 150 huevos por gramo. Los tamaños grupales deben ser pequeños y los grupos de control pueden no ser prácticos pero de un número de seis animales debe ser usado si es posible para monitorear algún cambio en la eliminación de huevos durante el período de estudio (Coles *et al.*, 2006).

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Comparar la eficacia de dos fármacos pertenecientes a diferentes clases de antiparasitarios en el control de pequeños estrogilos (*Cyathostominae*) en equinos, mediante la prueba de reducción del conteo fecal de huevos.

4.2 Objetivos Específicos

Determinar la presencia de resistencia a los benzimidazoles en la población de Cyatostomas.

Determinar la presencia de resistencia a las lactonas macrocíclicas en la población de Cyatostomas.

Evaluar la tolerancia a la administración oral de Fenbendazol a dosis de 7,5 mg/kg.

Evaluar la tolerancia a la administración oral de Ivermectina a dosis de 0,2 mg/kg.

5 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales

Materiales utilizados en la toma de muestras.

- Mangas de palpación rectal
- Gel ecográfico
- Cámara de recuento de huevos MacMaster
- Microscopio óptico
- Pesa digital
- Romana de animales mayores
- Solución de sulfato de zinc al 33%
- Guantes de látex
- Fenbendazol al 10 %¹
- Ivermectina pasta oral²
- Jeringas desechables 60 ml
- Jeringas desechables tuberculina
- Cajas de material aislante (plumavit)
- Lápiz marcador permanente
- Colador fino tamiz malla numero 60
- Papel absorbente

¹ Panacur® 10 %, Laboratorio Intervet.

² Crack®, Laboratorio Chile.

5.2 Método

En el presente estudio se utilizaron equinos pertenecientes al Regimiento de Caballería Blindada N°1 Granaderos, ubicado en San Isidro sin número, Provincia de Quillota, V Región, Chile.

Durante un período de tres semanas se trabajó con 21 ejemplares de entre 5 y 15 años de edad, todos bajo el mismo sistema de alimentación, estabulación y que no habían recibido tratamiento con ningún antihelmíntico en los últimos 4 meses.

Los individuos seleccionados para el estudio no presentaban sintomatología que fuera concordante con alguna alteración gastroentérica al momento de ser incorporados en éste, además a los ejemplares se les practicó un examen clínico general diario durante el tiempo que se desarrollo el ensayo (Anexo 1). A su vez estos animales fueron positivos a un número mayor o igual a 150 huevos por gramo de fecas (hpg) tipo strongilo determinado por el método de conteo de huevos MacMaster Modificado.

Con los equinos seleccionados se procedió a realizar el FECRT según las directrices entregadas por la Asociación para el Avance de la Parasitología Veterinaria (Coles *et al.*, 2006; Coles *et al.*, 1992).

5.2.1 Descripción de la prueba de reducción del conteo fecal de huevos

- 1) La muestra para cada equino fue obtenida directamente del recto por palpación vía rectal, con una manga plástica nueva la cual fue rotulada para su posterior procesamiento.
- 2) Las muestras fueron sometidas a un conteo de huevos seleccionando aquellos equinos que presentaron un recuento mayor o igual a 150 huevos por gramo de heces, determinado por la técnica de MacMaster modificada.

- 3) Se procedió a conformar tres grupos de estudio de siete equinos cada uno: a) Fenbendazol, b) Ivermectina, c) Control.
- 4) Los individuos fueron pesados en una romana con el fin de obtener su peso vivo y administrarles las drogas en estudio.
- 5) Al grupo a) se le administró la droga Fenbendazol a dosis única de 7.5 mg/kg de peso vivo vía oral.
- 6) Al grupo b) se le administró una formulación oral de Ivermectina con sabor a manzana a dosis de 0.2 mg/kg.
- 7) Al grupo c) se le administró un placebo de agua con miel
- 8) El grupo a) fue sometido a un segundo recuento de huevos siete días después de la administración de la droga.
- 9) El grupo b) fue sometido a un segundo recuento de huevos 14 días después de la administración de la droga.
- 10) El grupo c) fue sometido a un segundo recuento de huevos a los siete y a los catorce días.

5.2.2 Descripción de la técnica de macmaster modificada. (Zajac, 1994)

- 1) Pesar 4 gramos de material fecal.
- 2) Combinar 4 gramos de material fecal con 56 ml de solución de flotación de Sulfato de zinc al 70% hasta completar un volumen de 60 ml.

- 3) Mezclar bien y filtrar a través de un colador de malla numero 60.
- 4) Revolver y luego inmediatamente llenar las cámaras de la placa de MacMaster con una pipeta Pasteur o una jeringa de tuberculina
- 5) Dejar reposar el portaobjeto durante dos minutos.
- 6) Enfocar sobre el estrato superior de la cámara.
- 7) Iniciar el conteo en las dos cámaras del portaobjeto.
- 8) Para determinar el número de huevos de parásitos por gramo, se suman los conteos de ambas cámaras y se multiplican por 50.

5.2.3 Análisis estadístico

Obtenidos los datos se procedió a calcular las medias aritméticas, la desviación estándar y el intervalo de confianza de cada grupo mediante la utilización del programa SAS 1985.

Una vez obtenidas las medias aritméticas se aplicó la fórmula para calcular el porcentaje de reducción según las directrices entregadas por la Asociación para el Avance de la Parasitología Veterinaria (Coles *et al.*, 2006, Coles *et al.*, 1992).

$$\frac{(\text{Media de hpg pre-tratamiento} - \text{Media de hpg post-tratamiento}) \times 100}{\text{Media de hpg pre-tratamiento}} = \text{FECRT}\%$$

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los recuentos promedio de huevos por gramo de material fecal (hpg) del grupo Control fueron de 321,42 hpg en la semana uno, 321,42 en la semana dos y 285,71 en la semana tres del ensayo (Tabla N° 2), por lo que el monitoreo de la eliminación de huevos durante el tiempo de ejecución del estudio no arrojó valores menores a los 150 hpg por animal.

Tabla N° 2 Recuento de huevos del grupo Control durante el periodo del estudio

Equinos	Semana 1 hpg	Semana 2 hpg	Semana 3 hpg
1	600	250	200
2	500	300	200
3	350	200	250
4	200	250	150
5	200	150	200
6	250	250	250
7	150	800	750
Media	321,42	314,28	285,71
D.S.	170,43	219,3	207,49

Estos resultados demuestran que la eliminación de huevos por animales parasitados es constante siendo ésta la principal forma de reinfestación (Dwight y col, 2004).

Debido a que una de las principales fuentes de infestación son las pesebreras (Jofre, 2004, Hadad, 2001), sería una buena forma de control de la parasitosis aumentar la frecuencia de recambio de la cama considerando que los equinos del regimiento permanecen por lo general en este lugar.

Los recuentos promedio del grupo Fenbendazol fueron de 385,71 hpg pre-tratamiento y de 121,42 hpg post-tratamiento, resultando en una efectividad del 68.5% (Tabla 3).

Tabla N° 3 Recuentos de huevos por gramo de material fecal (hpg) antes y después del tratamiento con fenbendazol.

Equinos	hpg pre-tratamiento	hpg post-tratamiento	
1	700	250	
2	550	200	
3	500	150	
4	350	50	
5	250	50	
6	200	100	
7	150	50	
Media	385,71	121,42	
D.S	203,5	80,9	FECRT: 68,5%

Un resultado inferior al 95% de la prueba FECRT es indicativo de la presencia de resistencia antihelmíntica en los parásitos involucrados según las directrices entregadas por la Asociación Mundial para el desarrollo de la Parasitología Veterinaria (Coles., *et al* 2006, Coles *et al.*, 1992).

De acuerdo con lo anterior, se determinó la presencia del fenómeno de resistencia antihelmíntica detectado por medio de la prueba FECRT en el Regimiento de Caballería Blindada N° 1 Granaderos porque el porcentaje de reducción de la oviposición después del tratamiento con Fenbendazol a dosis de 7,5 mg/kg fue de 68,5 % (Tabla 3).

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Canales (2001) en el criadero Militar Riñihue y el criadero Las Encinas los cuales fueron de 28,1% y 87,3% respectivamente. En ambas localidades se determinó resistencia antihelmíntica, pero en particular, en el criadero Militar Riñihue el FECRT indicó la presencia de cepas de nemátodos muy resistentes, lo cual es explicable porque el control de los nemátodos

se había realizado, durante dos decenios casi exclusivamente mediante la administración de bencimidazoles a todos los animales del plantel.

Aunque no existen pautas determinadas para dimensionar la intensidad del fenómeno de resistencia en función del resultado de FECRT, un 68,5% de efectividad revela que el fenómeno ocurre con una intensidad moderada frente a los bencimidazoles en comparación al 28,1% obtenido por Canales (2001).

Actualmente, la desparasitación de los animales en el Regimiento de Caballería Blindada N° 1 Granaderos se realiza mediante la administración de lactonas macrocíclicas, pero se habían utilizado los benzimidazoles como tratamiento antihelmíntico lo que indica que los nemátodos resistentes fueron expuestos a la droga con anterioridad siendo éste un factor descrito por Sumano y Ocampo (1997) como el origen de éste fenómeno.

Los recuentos promedio de grupo ivermectina fueron de 385,71 hpg pre-tratamiento y de 0 hpg post-tratamiento, resultando en una efectividad del 100% (Tabla 4).

Tabla N° 4 Recuentos de huevos por gramo de material fecal antes y después del tratamiento con ivermectina

Equinos	hpg pre-tratamiento	hpg post-tratamiento	
1	750	0	
2	400	0	
3	550	0	
4	400	0	
5	250	0	
6	200	0	
7	150	0	
Media	385,71	0	
D.S	203,5	0	FECRT: 100%

Existen numerosas publicaciones en las que la efectividad de las lactonas macrocíclicas medida por medio de FECRT entregan resultados similares al obtenido en el presente estudio. En Chile Raizman (1997), determina un 100% de efectividad de ivermectina frente a los nemátodos de los equinos.

Ninguno de los individuos involucrados en el ensayo presentó alguna reacción adversa causada por la administración de los antihelmínticos. Esto concuerda con Egerton (1981), para ivermectina y con Canales (2001), para fenbendazol.

La resistencia frente a los bencimidazoles es un problema serio para la crianza de equinos en Chile. La resistencia antihelmíntica debería ser tomada en cuenta tanto por los productores, la industria farmacéutica, así como por Médicos Veterinarios que trabajan en la especialidad, con el fin de implementar medidas de control que impida o demore la selección de cepas de nemátodos resistentes y evitar que el problema se haga extensivo a otros grupos de fármacos antihelmínticos. Además, es recomendable determinar resistencia antihelmíntica en otras especies domésticas, considerando que es un problema poco conocido en Chile (Canales, 2001).

7 CONCLUSIONES

Se concluye que la Ivermectina es un antinematódico de mejor efecto para el control de la Cyatostomiasis en comparación con el Fenbendazol debido a que el resultado del FECRT fue de 100% y 68,5% respectivamente.

Se determinó presencia de resistencia a los benzimidazoles en la población de Cyatostomas debido a la baja efectividad de la droga (FECRT 68,5%).

Con respecto a la determinación de resistencia a las Lactonas Macroclícas, ésta no está presente en la población de Cyatostomas sometida al análisis (FECRT 100%).

Tras la administración oral de fenbendazol e ivermectina no se presentó ninguna reacción adversa medicamentosa, por lo que se concluye que éstas drogas utilizadas a dosis terapéuticas son bien toleradas por los equinos.

8 BIBLIOGRAFÍA

ALCAINO, HÉCTOR y GORMAN, TEXIA. Parásitos de los Animales Domésticos en Chile. Parasitología al Día, 23(1-2):33-41, Enero 1999.

BARRIGA, OMAR. Sección II Introducción a los Nematodos. En su: Las Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos en la América Latina. Santiago de Chile, Editorial Germinal, 2002. pp. 81-82.

BUENO, L. RUCKEBUSCH, Y. y DORCHIES, PH. Disturbances of digestive motility in horses associated with strongyle infection. Veterinary Parasitology, 5(2-3): 253-270, Agosto 1979.

BURCHERT, A. Sección III Nematodos. En su: Parasitología Veterinaria. España, Editorial Acribia, 1981pp. 287-291.

CANALES, Helmer, Nicolás Alejandro. Implementación, prueba y comparación de dos técnicas para determinar resistencia Antihelmíntica frente al benzimidazol en Nemátodos del equino. Tesis (Licenciatura en Medicina Veterinaria). Valdivia, Chile, Universidad Austral, 2001. 34 p.

CARTER, G.R., PAYNE, P.A. y DAVIS E. A Concise Guide to the Microbial and Parasitic Diseases of Horses [en línea] International Veterinary Information Service-IVIS. 2007 [fecha de consulta 22 de Enero del 2009]. Disponible en: http://www.ivis.org/advances/Carter_Equine/section3_helm/chapter.asp?LA=1#.

CHAPMAN, M. R., KLEI, T. R. y FRENCH, D.D. Identification of thiabendazole-resistant cyathostome species in Louisiana. Veterinary Parasitology, 39(3-4): 239-299, Junio 1991.

COLES, G.C. "et al". World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. Veterinary Parasitology. 44(1): 35-44 Junio 1992.

COLES, G.C. "et al". The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. Veterinary Parasitology, 136(5): 167-185, Febrero 2006.

COLLOBERT, L. "et al". Mast cell and eosinophil responses in the large intestine of horses naturally infected with cyathostomes. Veterinary Parasitology 107(4):251-264 Agosto 2002.

COMER, K.C., HILLYER, M.H., y COLES, G.C. Anthelmintic use and resistance on thoroughbred training yards in the UK. Veterinary Record, 158(3): 596-598 Abril 2006.

CORDERO DEL CAMPILLO, M. Diagnostico de las Parasitosis. En su: Parasitología Veterinaria. España. McGraw-Hill-Interamericana, 1999. pp. 174-175.

CRAIG, T. M. Anthelmintic resistance. Veterinary Parasitology, 46(1-4): 121-132 Febrero 1993.

DOWDALL, M.J. "et al". Characterization of IgG (T) serum antibody responses to two larval antigen complexes in horses naturally- or experimentally- infected with cyathostomins. International Journal of Parasitology, 34(1):101-112, Octubre 2004.

DREYER, F.H., HOFFMANN, W.A., NIEKIRK, F.E.V. Diagnostico Parasitológico. En: DWIGHT D. BOWMAN, RANDY CARL LYNN Y MARK L. EBERHARD *Georgis Parasitología para Veterinarios*. España. Elsevier. 2004. pp. 347

DU TOIT, N. "et al". The involvement of mast cells and mast cell proteinases in the intestinal response to equine Cyathostomin infection. Veterinary Immunology-Immunopathology, 115 (2): 32-42 Junio 2007.

DWIGHT, D. BOWMAN, RANDY, C. LYNN y MARK L. EBERHARD. *Georgis Parasitología para Veterinarios*. España, 2004, pp. 398.

EDDI, C., CARACOSTANTOLOGO J., ENTROCASO C., PEÑA M., T. Uso racional de Antiparasitarios. Manejo de resistencias. En: BOTANA, L., M. LANDONI F. MARTÍN – JIMÉNEZ T. *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*. España. Mc Graw-hill Interamericana. 2002. pp. 564.

EGERTON, J.R. "et al". The antiparasitic activity of ivermectin in horses. Veterinary Parasitology, 8(1): 59-70 1981.

EYSKER, M., JANSEN, J., Y MIRCK M.H. Control of strongylosis in horses by alternate grazing of horses and sheep and some other aspects of the epidemiology of strongylidae infections. Veterinary Parasitology, 19(1-2): 103-115 Junio 1986.

FORBES, A. B. A review of regional and temporal use of avermectins in cattle and horses worldwide. Veterinary Parasitology, 48(1-4): 19-28 Junio 1993.

GAWOR, J.J. The Prevalence and abundance of internal parasites in working horses autopsied in Poland. Veterinary Parasitology, 58(1-2): 99-108 Mayo 1995.

GIBBS, H.C. Mechanisms of survival of nematode parasites with emphasis on hypobiosis. Veterinary Parasitology, 11(1):25-48 Agosto 1982.

GILLEARD, S., J. Understanding anthelmintic resistance: The need for genomics and genetics. International Journal for Parasitology, 36(3): 1227-1239 Diciembre 2006.

HADAD, J. Johanna. Detección de huevos y/o larvas de *Strongylus sp.* en camas y potreros en equinos residentes de un recinto ecuestre de la región metropolitana. Tesis (Licenciatura en Medicina Veterinaria). Santiago, Chile, Universidad Mayor, 2001, 62 h.

HERD, R.P., GABEL A., A. Reduced Efficacy of anthelmintics in young compared whit adult horses. Equine Veterinary Journal, 22(3):164 Mayo 1990.

JOFRE, Cárcamo, Daniela. Determinación de la Presencia de huevos de *Strongylus sp.* en fecas de equinos en un criadero de la decima región. Tesis (Licenciatura en Medicina Veterinaria), Santiago, Chile, Universidad Mayor, 2004, 69 h.

JONES, L. S. Inflammatory Diseases of the Gastrointestinal Tract Causing Diarrhea. En: REED M. S. Equine Internal Medicine. United States of America. Saunders. 2004. pp. 894-895.

KAPLAM, M. RAY. Anthelmintic resistance in nematodes of horses. Veterinary Research, 33(106): 491 – 507 Julio 2002.

KAPLAN, R.M. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. Trends in Parasitology, 20(10): 477-81 Octubre 2004.

KIRSCH, R. SCHLEICH, H. Morphological changes in trichostrongylid eggs after treatment whit fenbendazole. Veterinary Parasitology, 11(4): 375-380 Diciembre 1982.

KNOTTENBELT, DEREK. C., PASCOE. REGINALD. R. Routine Stud Management Procedures. En su: Equine Stud Farm Medicine and Surgery, Inglaterra, Sounders, 2003. pp. 25 – 41.

KLEI, T. R. "et al" Evaluation of ivermectin at an elevated dose against encysted equine cyathostome larvae. Veterinary Parasitology, 47(1-2): 99-106 Marzo 1993.

KLEI, R. THOMAS. Parasite Control Programs. En: ROBINSON N. EDWARD. Current Therapy in Equine Medicine 4. United States of America, Saunders Elsevier Science, 1997, pp. 709-713.

KOHLER, P. The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. International Journal for Parasitology, 31(336-345). Diciembre 2001.

KRECEK, R. C., REINECKE, R. K. HORAK, I.G. Internal parasites of horses on mixed grassveld and bushveld in Transvaal, Republic of South Africa. Veterinary Parasitology, 34(1-2): 135-143 Noviembre 1989.

LACEY, E. "et al". Comparison of inhibition of polymerization of mammalian tubulin and helminth ovicidal activity by benzimidazoles carbamates. Veterinary Parasitology, 23 (1-2):105-109. Junio 1987.

LICHTENFELS, J. "et al". Recommended terminology and advances in the systematics of the Cyathostominae (Nematoda: Strongyloidea) of horses. Veterinary Parasitology, 107 (3):337- 342 Agosto 2002.

LITTLE, D., GARDNER Y., S. Resistance Cyathostomiasis. En: ROBINSON, N. EDWARD., WILSON R. MATILDA. Current Therapy in Equine Medicine. United States of America, Saunders Elsevier Science, 2003, pp. 161-164.

LLOYD, S. Parasite control methods used by horse owners predisposing to the development of anthelmintic resistance in nematodes. Veterinary Record, 146 (17): 487-492. Mayo 2000.

LONG, T. M. Internal Parasite Infections. En: REED M. S., BAYLY W. M., SELTON D. C. Equine Internal Medicine. United States of America. Saunders. 2004. pp. 95.

LOVE, S., DUNCAN, J.L. The development of naturally acquired cyathostome infection in ponies. Veterinary Parasitology, 4 (1-2):127-142. Septiembre 1992.

LUDWING, K.G. "et al". Control cyathostome infections in mares treated at parturition with ivermectin. Veterinary Parasitology, 15(2-3): 285-292. Septiembre 1984.

LYONS, E.T. "et al". Critical test evaluation (1977-1992) of drug efficacy against endoparasites featuring benzimidazole-resistant small strongyles (Population S) in Shetland ponies. Veterinary Parasitology, 66 (1-2): 67-73. Noviembre 1996.

LYONS, E.T. "et al". Historical perspective of cyathostomes: prevalence, treatment and control programs. Veterinary Parasitology, 85(4):97-112 Agosto 1999.

MATELUNA, Torrealaba, Margarita del Carmen. Evaluación del manejo y la condición parasitaria de los equinos del Valparaíso Sporting Club. Tesis (Licenciatura en Medicina Veterinaria), Valdivia, Chile, Universidad Austral de Chile, 2005, 22 h.

MATTHEE, S. Helminth control practices in South Africa and anthelmintic resistance on Thoroughbred stud farms in the Western Cape Province. Journal of the South African Veterinary Association, 73 (4):195-200. Septiembre. 2002.

MATTHEWS, J. B. "et al". Identification of a LIM domain-containing gene in the Cyathostominae. Veterinary Parasitology, 154 (5): 82-93 Mayo 2008.

MATTHEWS, J. "et al". Recent developments in research into the Cyathostominae and Anoplocephala perfoliata. Veterinary Research, 35(1): 371-81 Julio 2004.

MELLOR, D. J. "et al". Sentinel practice-based survey of the management and health of horses in northern Britain. Veterinary Record, 149 (14): 417-423 Junio 2001.

MFITILODZE, M. HUTCHINSON, W. Development of free-living stages of equine strongyles under laboratory conditions. Veterinary Parasitology, 23(1-2):121-133. Junio 1987.

MOLENTO, M.B. "et al" Anthelmintic resistant nematodes in Brazilian horses. Veterinary Record, 162 (3): 384-385. Marzo 2008.

NIELSEN, K. M. "et al". Climatic influences on development and survival of free-living stages of equine strongyles: implications for worm control strategies and managing anthelmintic resistance. Veterinary Journal, 174(73): 23-32, Enero 2007.

NIELSEN, M.K. "et al". Efectos de la forma de colección y los factores de almacenamiento de heces sobre los conteos de huevos tipo estrongilo en equinos. Veterinary Parasitology, 167(1): 55-61, Junio 2010.

OGBOURNE, C. P. The prevalence, relative abundance and site distributions of nematodes of the subfamily Cyathostominae in horses killed in Britain. Journal of Helminthology, 50(67): 203-214. Octubre 1976.

OMEARA, B., Mulcahy, G. A. Survey of helminth control practices in equine establishments in Ireland. Veterinary Parasitology, 109(1-2): 101-110 Agosto. 2002.

PRESLAND, L. S. "et al". Counting Nematode eggs in equine faecal samples. Veterinary Record, 156 (7): 208-209 Febrero 2005.

PRICHARD, R.K. Interaction of host physiology and efficacy of antiparasitic drugs. Veterinary Parasitology, 18(2):103-110. Agosto 1985.

RAIZMAN, Spilman, Eran. Estudio comparativo de la efectividad del Febantel, Ivermectina y Doramectina frente a los Nematodos del Equino. Tesis (Licenciatura en Medicina Veterinaria). Valdivia, Chile, Universidad Austral de Chile, 1997. 30 p.

REINEMEYER, C.R. "et al". The prevalence and intensity of internal parasites of horses in the U.S.A. Veterinary Parasitology, 15(1): 75-83. Octubre. 1983.

RUBILAR, L. "et al". Eficacia antihelmíntica de tres endectocidas administrados por vía oral en Equinos. Archivos de Medicina Veterinaria, 33(1): 69-75 2001.

SANCHEZ, S., F. SALLOVITZ, J., M. ALVAREZ, L., I. LANUSSE, C., E. Antiparasitarios internos. En: BOTANA L., M. LANDONI F. MARTÍN – JIMÉNEZ T. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. España. Mc Graw-hill Interamericana, 2002. pp. 517 – 522.

SANGSTER, N. C. 1999. Pharmacology of anthelmintic resistance in cyathotomes: will it occur whit the avermectin/milbemycin? Veterinary Parasitology, 85(3) 189-204. Marzo 1999.

SOULSBY, E.J.L. Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos. Séptima edición, México, Interamericana, 1987, pp. 180-181.

STRONG, L. Overview: the impact of avermectins on pastureland ecology. Veterinary Parasitology, 48(3):15-17. Junio 1993

SUMANO, LOPEZ. H. Y OCAMPO. CAMBEROS. L. Farmacología Veterinaria. México, Mc Graw-hill Interamericana. 1997. 252-253-284 p.

TARAZONA, VILAS. J.M. Parasitosis del aparato digestivo y renal. En : CORDERO DEL CAMPILLO M., ROJO V., F.A., MARTINEZ F., A.,R., SANCHEZ A., M., C., HERNANDEZ R.,S., NAVARRETE L-C., I., DIEZ B., P., QUIROZ R., H., CARVALO V., M. Parasitología Veterinaria, España, McGraw-Hill-Interamericana, 1999, pp. 533-582

TAYLOR, M. A. "et al". Anthelmintic resistance detection methods. Veterinary Parasitology, 103(8): 183-194, Marzo 2002.

THOMAS, R.J. The ecological basis of parasite control: Nematodes. Veterinary Parasitology, 11(1):9-24. Agosto 1982.

TORGERSON, P. R. "et al". Detection of anthelmintic resistance: a comparison of mathematical techniques. Veterinary Parasitology, 128(1): 291-298. Diciembre 2005.

VARADY, M. "et al". Benzimidazole resistance in equine cyathotomes in Slovakia. Veterinary Parasitology, 94(2): 67-74, Julio 2000.

VIERA, L.S. "et al" *Haemonchus contortus* resistance to ivermectin and netobimin in Brazilian sheep. Veterinary Parasitology, 45, (1-2):111-116. Diciembre 1992.

VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. Molecular diagnosis of anthelmintic resistance. Veterinary Parasitology, 136(2): 99-107. Septiembre 2006.

VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. "et al". Cases of reduced cyathostomin egg-reappearance period and failure of *Parascaris Equorum* egg count reduction following ivermectin treatment as well as survey on pyrantel efficacy on German horse farms. Veterinary Parasitology, 144 (1-2): 74-80. Marzo 2007.

WOLSTENHOLME, A. J. "et al". Drug resistance in veterinary helminths. Trends in parasitology, 20(10): 469-476. Octubre 2004.

ZAJAC, A. M. Faecal Examination in the Diagnosis of Parasitism. En su: Veterinary Clinical Parasitology. Estados Unidos de Norteamérica, Blackwell Publishing. 1994. pp. 3 – 93.

9 ANEXOS

Anexo 1, Ficha tipo exámen clínico general

Ejemplar N°		Fecha
Nombre del Ejemplar		
Sexo:	Edad (años):	Raza:
Actividad:	Otros:	
Examen Clínico General		
Actitud (respecto al medio):		
Frecuencia Cardíaca:		
Frecuencia Respiratoria:		
Tiempo de Pliegue Cutáneo:		
Tiempo de Llame Capilar:		
Pulso:		
Coloración de Mucosa:		
Temperatura:		
Condición Corporal:		
Presencia de Secreciones si (tipo)/no:		
Ubicación anatómica:		
Evaluación Cardíaca		
Ritmo:		
Ruidos si (tipo)/no:		
Evaluación Pulmonar, Tráquea y Laringe		
Ruidos si (tipo)/no:		
Reflejo Tusígeno (positivo/negativo):		
Evaluación del Peristaltismo		
Flanco Derecho Superior:		
Flanco Derecho Inferior:		
Flanco Izquierdo Superior:		
Flanco Izquierdo Inferior:		
Distensión Abdominal si /no:		
derecho/izquierdo:		
Evaluación de Piel y Pelaje		
Lesiones si (tipo)/no:		
Ubicación anatómica:		
Evaluación de Gangleos Linfáticos		
Dolor si /no:		
Inflamación si /no:		
Aumento de Temperatura si /no:		
Adherencias si /no:		
Ubicación anatómica:		
Evaluación de la marcha		
Descordinación si /no:		
Miembro(s) Afectado(s):		
Claudicaciones si (grado)/no:		
Miembro(s) Afectado(s):		