

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Prevalencia de la estrogilosis equina y determinación *in vivo* de la
eficacia antihelmíntica de ivermectina oral en el centro del estado de
Veracruz.

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el título de:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Presenta:

Yolanda López Macías

Asesores:

Dra. Elke von Son de Fernex

Dr. Miguel Ángel Alonso Díaz

Ciudad Universitaria, CDMX 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedicatoria

MVZ Miguel E. Raygoza Hernández (Q.E.P.D.)

Ya que cuando alguien es capaz de contagiar esa pasión por el saber, es el mayor regalo y la más profunda huella que se puede dejar como profesor.

Agradecimientos

A mi asesora, Dra. Elke von Son por su apoyo, paciencia y guía durante este proceso, muchas gracias.

A mi familia que siempre estuvieron ahí, acompañándome en mis más grandes dichas y tristezas, siempre alentándome a perseguir mi sueño; su amor y apoyo es lo que me ha permitido seguir adelante, muchas gracias.

A mis roomies: Wendy y Arita, con quienes logré compartir más que un cuarto y se volvieron una parte entrañable de mi vida, muchas gracias.

A mis compañeros del Clarín: Jesús, Selene, Juan, Martín, Manuel, Gris y Katia con quienes me apoyaron y animaron en todo momento durante este proceso, muchas gracias.

Al personal del Clarín, con especial mención a Liz y Don Juan, que hacen del rancho un hogar, muchas gracias.

MVz Ana Espinoza por su apoyo para contactarme con los propietarios del grupo de cabalgata “Dragones de Veracruz”, muchas gracias.

Propietarios de los caballos ya que sin su apoyo y disposición este estudio no sería posible, muchas gracias.

CONTENIDO

	Página
PORTADA	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
CONTENIDO	iv
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	vi
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. Introducción	3
2. Revisión de literatura	6
2.1. Estrongilosis	6
2.1.1. <i>Strongylinae</i>	6
2.1.2. <i>Cyathostominae</i>	9
2.2. Métodos de control	10
2.3. Resistencia antihelmíntica (RA)	12
3. Justificación	14
4. Hipótesis	14
5. Objetivos	15
5.1. Objetivo general	15
5.2. Objetivos específicos	15
6. Materiales y métodos	15
6.1. Área de estudio	15
6.2. Animales de estudio	16
6.3. Diseño experimenta para prevalencia	16

6.4. Obtención de larvas infectantes	17
6.5. Diferenciación por subfamilias	17
6.6. Estudio <i>in vivo</i> de resistencia antihelmíntica	18
6.7. Análisis estadístico	18
7. Resultados	20
8. Discusión	25
9. Conclusiones	30
10. Referencias bibliográficas	31
11. Anexos	36

Lista de cuadros y figuras

Figuras		Página
1	Estructura química de la ivermectina	18
2	Ciatostómido tipo C Martínez de la Torre	23
3	Ciatostómido tipo D Nautla	24
4	Ciatostómido tipo H Misantla	24
5	Ciatostómido tipo C Tlapacoyan	25
Cuadros		
1	Eliminación de huevos por gramo de heces, edad y peso	20
2	Clasificación de Ciatostomidos por municipio.	23
Gráficas		
1	Comparación eliminación de huevos por gramo de heces y peso	21
2	Comparación eliminación de huevos por gramo de heces y edad	21

RESUMEN

Un problema de salud animal en equinos bajo sistemas de pastoreo son las estrogilosis. En el presente estudio se determinó la prevalencia de la infección por estrogílicos en 156 equinos de los municipios de Martínez de la Torre, Misantla, Nautla y Tlapacoyan, Veracruz; mediante el uso de la técnica de McMaster modificada. La prevalencia general de la región centro del estado fue 69.23%. Las prevalencias por región fueron: 68.4%, 58.9%, 72.5% y 76.9%, respectivamente. Se observó una frecuencia de presentación larvaria del 1% de la subfamilia *Strongylinae* (*Strongylus edentatus* 0.75% y *S. vulgaris* 0.25%) y 92 % de ciatostómidos. De los cuales, los grupos de ciatostómidos más frecuentes en los cultivos larvarios fueron: D, C, E, F y H, con frecuencias de 28.75%, 13.75%, 12.5%, 11.5% y 8.25%, respectivamente. Para la RA se utilizaron dos metodologías con las cuales el porcentaje de reducción fue 29.83 % y 63.29% respectivamente. Con base en los lineamientos de la WAAVP, se concluye que la población de estrogílicos presentaron resistencia antihelmíntica a la ivermectina oral 1 %.

Palabras clave: Prevalencia, estrogílicos, Cyathostominae, resistencia, ivermectina, equinos.

ABSTRACT

Strongyles has been a major health problem for equines kept under grassing conditions. The present study determines the strongyle prevalence in 156 horses from Martinez de la Torre, Misantla, Nautla and Tlapacoyan, municipalities from the state of Veracruz in Mexico. The prevalence obtained for each municipality were: 68.4%, 58.9%, 72.5% and 76.9%, respectively. The species identification was obtained through microscopic infective larval visualization from larval cultures. The frequencies observed were 1% for the *Strongylinae* subfamily (*Strongylus edentatus* 0.75% and *S. vulgaris* 0.25%) and 92% for *Cyathostominae*. Most prevalent groups of cyathostomins were: D, C, E, F and H, with frequencies of 28.75%, 13.75%, 12.5%, 11.5% and 8.25%, respectively. Anthelmintic resistance (AR) was estimated by fecal egg count reduction test (FECRT). The FECR values obtained were: 29.83 % and 63.29% based on the formulas, respectively. According to the WAAVP guidelines, results obtained through the survey are consistent with the presence of AR. It can be concluded that the Strongyle population analyzed on this survey affecting the equine population is resistant to oral ivermectin 1 %.

Key words: Prevalence, Strongyle, Cyathostomin, anthelmintic resistance, ivermectin, horses.

1. INTRODUCCIÓN

En México, la importancia de los equinos es de tipo socioeconómico ya que fungen como animales tanto de trabajo como de uso recreativo. México cuenta con una población total de 2,143,934 equinos a lo largo del territorio nacional y de 178,374 equinos dentro del estado de Veracruz¹. En el estado de Veracruz se utilizan principalmente como: medio de transporte, animal de tiro y carga; y en eventos sociales como carreras parejeras y cabalgatas. Dados los trabajos de alta demanda energética que desempeñan es de suma importancia conocer y mantener un estado óptimo de salud en éstos animales².

En el estado de Veracruz el manejo nutricional de los équidos de trabajo se basa en el pastoreo continuo; en el cual, uno de los principales problemas de salud son las parasitosis gastrointestinales ocasionadas por grandes y pequeños estrombilidos (*Strongylinae* y *Cyathostominae*, respectivamente); cuya presencia en el hospedero puede provocar la presentación de la enfermedad conocida como estrombilosis; la cual se caracteriza por ocasionar: diarrea intermitente, decaimiento, anemia, debilidad y pérdida crónica de peso. Las estrombilosis equinas cobran gran importancia en las zonas rurales del trópico mexicano debido a que las condiciones climatológicas son idóneas para mantener una elevada infectividad de los potreros; en la región del centro del estado de Veracruz, se ha reportado una prevalencia mayor al 90%³. La prevalencia es un indicativo epidemiológico con el que se conoce el número de casos positivos a una enfermedad en un espacio determinado de tiempo⁴. Identificar las diferencias regionales en la frecuencia de presentación de una enfermedad como la

estrongilosis equina, así como posibles causas relacionadas a su presencia en determinados lugares (edad, peso y manejo zootécnico); es un paso importante para poder estructurar métodos de prevención y control efectivos. La mayoría de los estudios relacionados con la prevalencia de estrongilosis equina han sido realizados en regiones de clima templado⁵, por lo tanto, asumir que bajo condiciones tropicales se presenta con la misma frecuencia podría llevar a subestimar y/o sobrestimar su presentación. Los factores de riesgo aumentan de manera considerable en el trópico, debido a que las condiciones climatológicas son idóneas para mantener viable a la larva infectante (L₃). Al conocer la prevalencia dentro de las poblaciones, se podrán implementar técnicas diagnósticas y de prevención más eficientes mejorando la prognosis de los equinos infectados⁶.

Los grandes estrongílidos (*Strongylus vulgaris*, *S. edentatus* y *S. equinus*) son considerados los parásitos más patógenos de los equinos. Se localizan en ciego y colon; no obstante, existe una fase larvaria migrans (L₃) la cual tiene la capacidad de perforar a través de la pared intestinal y penetrar arterias mesentéricas causando tromboembolismo e infarto en la arteria mesentérica craneal (*Strongylus vulgaris*), hígado (*S. edentatus*) y páncreas (*S. equinus*) dando lugar a signos clínicos característicos como cólicos y el entumecimiento de los miembros posteriores^{7,8}. Por otro lado, los pequeños estrongílidos han sido clasificados como patógenos primarios en los equinos y su predominancia ha aumentado dentro de las infecciones por estrongílidos⁹. Estudios previos han reportado que la infección por dichos parásitos puede desencadenar el síndrome de

Ciatostominosis. Sin lugar a duda, una de las consecuencias más importantes de la estrongilosis en los equinos es el acortamiento de su vida zootécnica debido al impacto negativo que genera a nivel fisiológico, como son: alteraciones en el comportamiento, disminución de la condición corporal, menor resistencia física y retraso en el crecimiento^{3,12}.

El control de las estrongilosis se ha basado en la administración periódica de desparasitantes (benzimidazoles y lactonas macrocíclicas); no obstante su uso indiscriminado por médicos veterinarios y propietarios ha desencadenado la aparición de resistencia antihelmíntica (RA)^{13,14}. La elevada prevalencia parasitaria, así como la emergencia de RA en pequeños y grandes estrongílicos ha sido reportada mundialmente^{5,15,16,17,18,19,20,21}; hasta nuestro conocimiento no existen reportes de RA en estrongílicos en México. La RA tiene un impacto económico directo (costo de tratamientos) e indirecto (salud, producción y bienestar animal). Por lo cual, el objetivo de éste trabajo de investigación será conocer la prevalencia de las estrongilosis en équidos de la región centro del estado de Veracruz; así como identificar la proporción de las subfamilias involucradas utilizando la diferenciación morfológica de las larvas infectantes²², y realizar una evaluación *in vivo* de la eficacia antihelmíntica de la Ivermectina oral para determinar el estatus de resistencia antihelmíntica en la región.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Estrongilosis

La estrongilosis es una enfermedad parasitaria ocasionada por la presencia y acción patógena de dos subfamilias de nematodos: *Strongylinae* y *Cyathostominae*. En un principio se consideró que los grandes estrongilos eran los nematodos con mayor prevalencia en las infecciones naturales. No obstante, estudios recientes reportan que del 75 al 100% de los huevos eliminados en las heces corresponden a pequeños estrongilos (subfamilia *Cyathostominae*)^{23,24}. Así mismo, estudios orientados a la prevalencia e identificación de ciatostómidos reportan a tres especies como las más comunes en infecciones naturales: *Cyathostomum catinatum*, *C. nassatus* y *C. longibursatus*^{25,26}. No obstante, existe poca información respecto a la prevalencia y especies involucradas bajo infecciones naturales en equinos de la región centro de Veracruz, México.

2.1.1. *Strongylinae*

La subfamilia *Strongylinae* se encuentra conformada por las especies *Strongylus equinus*, *Strongylus vulgaris* y *Strongylus edentatus*³. Dentro de sus características morfológicas más importantes está su tamaño, que alcanza a ser de 50mm de ahí el nombre de grandes estrongilos.

Los grandes estrongilos poseen un ciclo biológico directo. Los huevos son eliminados con las heces, y al contar con condiciones adecuadas de humedad (80%) y temperatura (28°C) la larva del primer estadio eclosiona en aproximadamente 1 a 2 días. La larva 1 (L₁) se alimenta de los restos biológicos

de las heces, y aproximadamente el día 4-5 muda a larva de segundo estadio (L₂); y finalmente, el día 7 completa su desarrollo a larva infectante (L₃)²⁷. La L₃ se caracteriza por presentar una retención cuticular de su estadio previo la cual le confiere protección del estrés medio ambiental; siendo capaz de sobrevivir de 2-4 semanas en vida libre²⁸. La L₃ se localiza en los pastos, procurando movilizarse durante horas específicas del día (amanecer y atardecer) buscando humedad y temperatura idóneas, momento en el cual suben el punto más alto de los pastos con la finalidad de ser ingeridas por los equinos durante su alimentación²⁹. La tasa de sobrevivencia así como el desarrollo larvario están directamente relacionados a las características ambientales²⁸.

Al entrar al tracto digestivo la L₃ desenvaina para posteriormente penetrar y establecerse dentro de la mucosa intestinal y continuar con su ciclo biológico. No obstante se ha reportado migración visceral de larvas inmaduras; misma que varía con base en la especie infectante⁷. *Strongylus vulgaris* penetra la mucosa del íleon, ciego y colon ventral, a los pocos días muda a L₄ y entra a las arteriolas de la submucosa viajando en contra del flujo sanguíneo hasta la arteria mesentérica craneal, siendo éste el sitio de hallazgo patognomónico para ésta especie durante la realización de necropsias o estudios diagnósticos con ultrasonido. Sitio en el cual pueden alojarse durante 3-4 meses aproximadamente hasta que continúan su desarrollo a juveniles, los cuales migrarán de regreso al intestino donde se enquistan formando pequeños nódulos de 5-8 mm. Al emerger hacia el lumen intestinal son adultos sexualmente maduros y habitan al hospedero durante 6-8 semanas. Durante la migración larvaria es posible que existan casos con

migración errática, encontrando individuos en aorta, corazón e incluso cerebro⁷ (en casos de migración errática). Período pre-patencia de 6-7 meses.

La L₃ de *Strongylus equinus* atraviesa hacia la subserosa del intestino grueso, donde forman nódulos en los que se lleva a cabo la muda hacia la L₄ migra a través de la cavidad peritoneal hacia el parénquima hepático permaneciendo ahí por varias semanas hasta que invaden al páncreas, grasa peri-renal y diafragma realizando una muda a L₅ o adultos inmaduros; el ciclo se completa cuando regresan al ciego donde alcanzan la madurez sexual³⁰. Periodo pre-patencia es de 8-9 meses.

Strongylus edentatus comienza su migración visceral como L₃, la cual penetra la pared del ciego y colon ventral derecho y migra hasta el hígado a través de la vena porta en un periodo promedio de 40hrs post-infección³⁰. En el hígado, la L₃ muda a L₄ y migra al peritoneo a través del ligamento hepato-renal. En el espacio retroperitoneal alcanza su estadio adulto; para finalmente migrar de vuelta al intestino a través del mesenterio. El periodo pre-patencia es de 10-12 meses^{7,30}.

También el anclamiento de la cavidad bucal del parásito a la mucosa del intestino causa erosiones, sin embargo son lesiones menores. En tanto *Triodontophorus tenuicollis*, parásito hematófago al alimentarse lo hacen por grupos, provocando úlceras importantes en la mucosa intestinal²⁸.

Se ha demostrado que los estromgílicos son capaces de infectar a los equinos bajo distintas locaciones geográficas sin importar las diferencias climatológicas en las que se encuentren^{32,33}. Finalmente, al emerger del quiste se liberan distintos

productos generados por las larvas que se acumularon con el tiempo; lo cual genera lesiones como: edema, congestión, hemorragias y la intensidad de la signología será determinada por la cantidad de larvas emergentes⁷.

2.1.2. *Cyathostominae*

Los pequeños estrogilos han sido clasificados como patógenos primarios en los equinos; se ha reportado que la ciatostominosis causa mermas importantes en la ganancia diaria de peso, debido principalmente a: diarrea, hipoproteinemia y edema ventral. Así mismo, se ha reportado que ante una infección severa puede ocasionar la muerte en un 50% de los casos¹⁰. Los ciatostóminos se establecen en el ciego y colon ventral derecho³³. Después de unas semanas post infección, las L₃ tardías o L₄ tempranas se enquistan en la mucosa o submucosa del lumen intestinal y la larva es cubierta por una capa fibrosa creando una cápsula que protege al hospedero de los productos parasitarios dentro del quiste pero también crea una barrera en contra de la respuesta inmune³¹, la larva permanece dentro de él durante un periodo indeterminado de tiempo, fenómeno conocido como hipobiosis⁷, en caso de que las condiciones sean las ideales realizan la muda a L₄ dentro de los quistes, para posteriormente emerger como L₄ a la luz intestinal y continuar con su desarrollo a juveniles y finalmente alcanzar la madurez sexual³⁰. La gran diferencia en la patogenicidad con los grandes estrogilos recae en el daño causado al epitelio intestinal al emerger de manera sincrónica del estado de hipobiosis³⁰ conocido como síndrome de Ciatostominosis; el cual ha sido reportado como una condición estacional y que se caracteriza por ocasionar

diarrea severa, rápida pérdida de peso, hipoproteinemia y una elevada eliminación de huevos por gramo de heces. Clínicamente, la Ciatostominosis se caracteriza por presencia de: neutrofilia, hipoalbuminemia, hiperglobulinemia, especialmente beta-globulina los cuales son consistentes con una enteropatía con pérdida de proteínas²⁶. La presentación de la enfermedad varía con las condiciones climatológicas; reportándose una mayor incidencia en las poblaciones ubicadas al norte, la Ciatostominosis larvaria ocurre a finales del invierno más frecuentemente que es cuando se espera que las larvas emerjan de su hipobiosis. Dentro de las regiones al sur es más común encontrar estos casos a finales del verano e inicios de otoño^{7,30} (reportes realizados dentro del territorio Estadounidense).

Las infecciones por los pequeños estrogilos (Ciatostóminos) presentan un mayor riesgo para equinos <6 años con acceso a pastura y se ha encontrado que la inmunidad es adquirida y se va desarrollando al paso de los años^{30,34}; sin embargo, los equinos adultos se mantienen como portadores asintomáticos y actúan como un reservorio de los parásitos^{7,30}.

2.2. Métodos de control

Los desparasitantes químicos han sido utilizados de manera indiscriminada para el control de nemátodos en caballos por más de 40 años desde su introducción al país en los años 80. Existen tres clases disponibles para su control: Benzimidazoles (febendazole, oxbendazole), tetrahidropirimidinas (Pyrantel) y lactonas macrocíclicas (Ivermectina y Moxidectina)³⁵. No obstante, las Lactonas

Macrocíclicas llegaron a revolucionar el control de parásitos, tanto en el hombre como en los animales. Generalmente, son considerados los antiparasitarios más eficaces y menos tóxicos desarrollados hasta ahora, siendo altamente eficaces contra nematodos y artrópodos^{7,36}. El mecanismo de acción consiste en provocar la inmovilización de los parásitos induciendo una parálisis flácida de la musculatura, mediada por la estimulación de los canales de Cloro controlados por el Glutamato, que una vez activados aumentan la permeabilidad de la membrana celular a los iones de Cloro lo que provoca una hiperpolarización del canal nervioso y de la placa motora del parásito resultando en parálisis⁷ provocando el desprendimiento y expulsión de los parásitos adultos en la heces. Los canales de Cloro controlados por Glutamato se encuentran ausentes en los vertebrados, confiriendo un amplio margen de seguridad para su uso³⁷.

Sin embargo, debido a la emergencia de cepas parasitarias con resistencia antihelmíntica, diversos autores proponen el manejo zootécnico como el manejo adecuado de los potreros. En el cual se recomienda la rotación de potreros y alternar el pastores con rumiantes; como una alternativa que puede ayudar a disminuir la infección parasitaria^{38,39}.

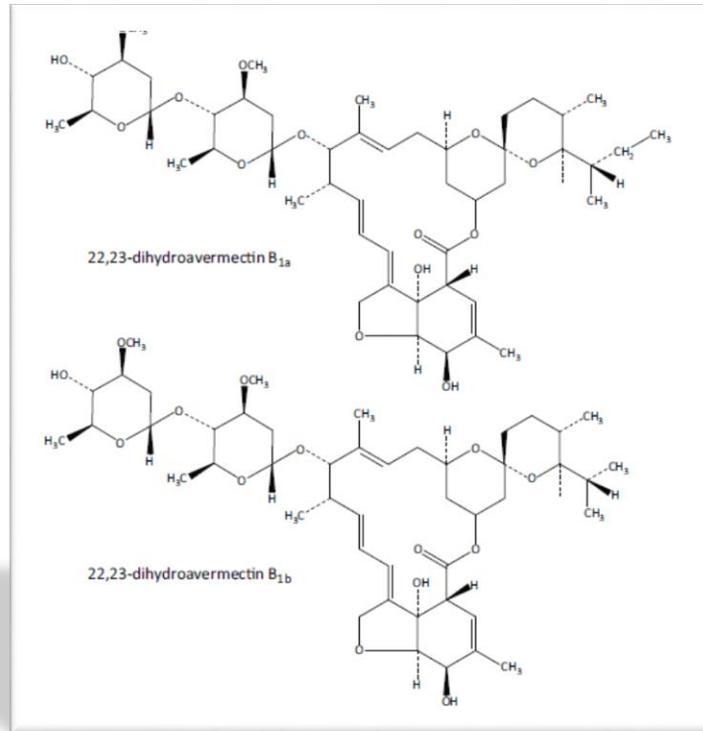


Figura 1 Estructura química de la ivermectina (5-O-dimetil22,23-dihidroavermectina B1a y B1b en un radio 80:20)

2.3. Resistencia antihelmíntica (RA)

Se define como resistencia antihelmíntica al cambio heredable de la susceptibilidad a un antihelmíntico en una población parasitaria; en la que una dosis normal que provee un 95% de efectividad sólo logra un $\leq 80\%$ ⁴⁰ es importante determinarla ya que una vez que esta se presenta, el producto resulta obsoleto y es necesario considerar a los desparasitantes como un medio de control que debe ser utilizado con prudencia para aprovechar al máximo sus beneficios⁵⁴.

Existen reportes de resistencia dentro de la subfamilia *Strongylidae* desde los años 90's; la complejidad de infecciones de la subfamilia *Cyathostominae* por el gran número de especies involucradas, estacionalidad y estadios de hipobiosis

hace más difícil su determinación⁴¹, sin embargo existen diversos estudios que reportan RA a benzimidazoles e ivermectina en países como: Alemania⁵, Australia¹⁵, Eslovaquia¹⁶, Italia²⁰, Polonia²¹, Reino Unido⁴², Sudán⁴³, Turquía⁴⁴, Cuba⁴⁵, Suecia⁴⁶ e India⁴⁷; por mencionar algunos, así como un acortamiento (< 5 semanas) en la reaparición de huevos post-tratamiento a ivermectina (IVM)^{17,46,48}.

Existen pruebas de campo e *in vitro* orientadas a la detección de la RA, como son el FECRT (Fecal Egg Count Reduction Test), la cual ha sido considerada la prueba más simple y efectiva que puede ser utilizada para los animales naturalmente infectados⁴⁹. La realización del estudio se basa en el conteo de huevos presentes en las heces pre y post tratamiento para evaluar el porcentaje de reducción⁵⁰ y/o el conteo de huevos presentes en las heces post-tratamiento y su comparación con un grupo control, con la finalidad de determinar la eficacia del mismo⁴⁹. Indistintamente de la metodología empleada para calcular la eficacia, el día cero se tomará una muestra de cada équido directamente del recto del animal utilizando bolsas plásticas e identificadas con el número de registro del equino para calcular la eliminación de huevos por gramo de heces (hpgh). También es necesario realizar el segundo conteo a los 7-14 días con lo que es imposible obtener un resultado inmediato durante los episodios agudos o hiperagudos⁴⁹. Dentro de la guía de la WAAVP, se considera resistencia antihelmíntica cuando la reducción de hpgh es menor al 90 %⁴⁹.

Existen pruebas *in vitro* que ayudan al diagnóstico temprano de la aparición de resistencia antihelmíntica como la inhibición de la eclosión de huevos (EHA, por sus siglas en inglés) y que es una prueba recomendada por la WAAVP para la

detección de resistencia antihelmíntica a benzimidazoles⁴⁹. Así mismo, Osterman y colaboradores (2005) concluyeron que el bioensayo de inhibición del desarrollo larvario (LDA, por sus siglas en inglés) no es una alternativa confiable al FECR para detectar resistencia antihelmíntica en *Cyathostomins*⁵². El bioensayo de inhibición de la migración larvaria (LMIA, por sus siglas en inglés) es usada para observar la capacidad de migración de las larvas ante una curva de concentración del ingrediente activo; con lo que se determina si las L₃ son resistentes apoyándonos mediante el cálculo de la dosis letal 95 (CL₉₅) y la dosis letal 50 (CL₅₀)⁵³.

3. JUSTIFICACIÓN

El estudio de la prevalencia de la estrongilosis equina y la eficacia *in vivo* de la ivermectina oral; permitirán tanto conocer el estado epidemiológico de ésta parasitosis en la zona centro del estado de Veracruz como evaluar el método de control más utilizado. Lo cual permitirá plantear estrategias de control adecuadas a los dueños y/o productores de equinos; con el objetivo de mejorar la salud animal.

4. HIPOTESIS

- La prevalencia de las estrongilosis en la región centro del estado de Veracruz será $\geq 90\%$.
- Habrá una mayor prevalencia de la subfamilia *Cyathostominae* que la *Strongylyinae*.

- El porcentaje de reducción de la eliminación de huevos por gramo de heces de los equinos desparasitados con IVM/PO será $\leq 90\%$.

5. OBJETIVOS

5.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar el estado epidemiológico de las estrongilosis equinas en la región centro del estado de Veracruz.

5.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

Determinar prevalencia de las estrongilosis en equinos; así como , identificar a las subfamilias parasitarias involucradas en la infección y evaluar su estatus de resistencia antihelmíntica a Lactonas Macrocíclicas (IVM).

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Área de estudio

Se realizó el muestreo de equinos en la región centro del estado de Veracruz, la cual incluye los municipios de: Nautla, Misantla, Tlapacoyan y Martínez de la Torre. Dichos municipios cuentan con un clima cálido húmedo AW y temperatura promedio de 26.1°, 23.3°, 22.5° y 23.7° C respectivamente.

6.2. Animales de estudio

Se muestrearon 156 equinos distribuidos de la siguiente manera n=38 Martínez de la Torre, n=39 Misantla y Tlapacoyan y n=40 en Nautla, Veracruz. Al inicio del estudio se realizó un registro por animal que incluía: edad, peso, sexo, comunidad, manejo de desparasitantes y con qué frecuencia se empleaban, así como productos empleado, su vía de administración y su rotación de uso.

Para la evaluación de la eficacia antihelmíntica *in vivo*, se utilizaron 34 animales. Se consideraron únicamente aquellos caballos que cumplían con los siguientes criterios de inclusión: 1) Los individuos de estudio se encontraban bajo sistemas de pastoreo continuo, 2) No fueron desparasitados 60 días previos al inicio del estudio, 3) Presentaron una eliminación ≥ 150 huevos por gramo de heces (hpgh).

6.3. Evaluación de prevalencia de estrogilosis equina

El muestreo se realizó utilizando guantes de palpación, lubricante (carboximetilcelulosa), bolsas resellables (Ziploc®) y marcadores permanentes (Sharpie®) para la identificación de las muestras. De modo simultáneo, al momento del muestreo se tomaron dos muestras de heces por cada animal. Una de las muestras fue transportada a una temperatura de 4°C hasta su análisis en el laboratorio de sanidad animal dentro de las instalaciones del CEIEGT-FMVZ-UNAM para determinar la eliminación de huevos por gramo de heces (hpgh), mediante la prueba diagnóstica de McMaster modificada⁵⁵. Para la prevalencia solo se clasificaron a los animales en positivos (hpgh>0) y negativos (hpgh=0), el

conteo de huevos se empleara para determinar la correlación entre edad y peso, así como evaluar la resistencia. La segunda muestra de heces fue empaquetada y transportada a temperatura ambiente para la posterior elaboración de cultivos larvarios (ver sec., 6.4).

6.4. Obtención de larvas infectantes L₃

Para la obtención de larvas infectantes (L₃) se realizó un cultivo larvario mezclando la muestra de heces (500 gr) mantenida a temperatura ambiente con aserrín previamente esterilizado. La mezcla fue colocada en una estufa de incubación a 28°C 10 días. Al finalizar dicho periodo, las L₃ fueron recuperadas mediante la técnica de Corticelli-Lai⁵⁶. Las larvas recolectadas se cuantificaron y almacenaron en refrigeración (4°C) hasta su utilización.

6.5. Diferenciación de las Subfamilias *Cyathostominae* y *Strongylinae*.

Se realizó la diferenciación morfométrica de 100 larvas infectantes (L₃) de cada cultivo realizado, inmediatamente posterior a su cosecha. Se realizó una diferenciación de las subfamilias *Strongylinae* y *Cyathostominae* mediante microscopía óptica (40x), con base en las claves descritas por Kornás y colaboradores⁵⁷.

6.6. Evaluación *in vivo* de la eficacia de Ivermectina contra la estrogilosis equina.

Para determinar la eficacia de las lactonas macrocíclicas contra estrogílicos equinos se utilizó la prueba de reducción de la eliminación de huevos por gramo de heces (FECRT, por sus siglas en inglés)⁴⁹. Se muestrearon un total de 34 équidos los cuales cumplieron con los criterios de inclusión (sección 6.2); mismos que fueron divididos en dos grupos experimentales (n=17 en cada grupo): T1- control (sin tratamiento) y T2- tratamiento con IVM oral⁵⁸. El día cero se tomaron dos muestras de cada équido directamente del recto del animal.

El día 1, los animales pertenecientes al grupo T2 fueron desparasitados con Ivermectina al 1% (Ivorod ® Rodruilab S.A. de C.V. Lote: 0417) a razón de 0.2 mg / kg PV/ PO³⁶. A todos los animales incluidos en el experimento se les realizó un cálculo de peso utilizando una cinta métrica de pesaje (Horze ® Weight Measuring Band)⁵⁹, y se les calculó la dosis de modo individual con base en su peso vivo. Finalmente, el día 14 post-tratamiento se realizó un segundo muestreo de heces de los 34 animales incluidos en el estudio para evaluar el porcentaje de reducción de hpgh.

6.7. Análisis estadístico

La prevalencia de estrogilosis equina fue determinada mediante la siguiente ecuación:

$$Prevalencia = \frac{\text{Número de equinos positivos a estrogilosis}}{\text{Total de la población (región o comunidad)}} * 100$$

La variable hpgh fue transformada a logaritmo base 10 ($\text{Log}_{10}(X)$), con la finalidad de cumplir los supuestos de los estadísticos de prueba utilizados para el análisis.

Se comparó la eliminación de hpgh entre las regiones geográficas mediante un diseño completamente al azar de un solo factor (ANDEVA), de encontrarse diferencias significativas se realizaron la comparación múltiple de medias (Prueba de Tukey), se determinaron el cumplimiento de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. Para los análisis se utilizó un nivel de significancia del 5% ($P < 0.05$) y se empleó el programa computacional GraphPad Prism ® V. 6.1.

La relación entre hpgh y la edad así como con el peso, fue mediante la correlación de Spearman.

El estatus de resistencia antihelmíntica de la región se obtuvo mediante dos metodologías:

1. Porcentaje de reducción 1 (%) = $100 (1 - (E_t / E_c))$. Donde E_t representa la media aritmética de la eliminación de huevos por gramo de heces del grupo tratado, y E_c representa la media aritmética de la eliminación de huevos por gramo de heces del grupo control⁶⁰.
2. Porcentaje de reducción 2 (%): $100 (1 - (E_{pt} / E_{at}))$. Donde E_{pt} representa la media aritmética de la eliminación de huevos por gramo de heces del grupo tratado calculada post-tratamiento, y E_{at} representa la media aritmética de

la eliminación de huevos por gramo de heces del mismo grupo previo al tratamiento^{50,61}.

7. RESULTADOS

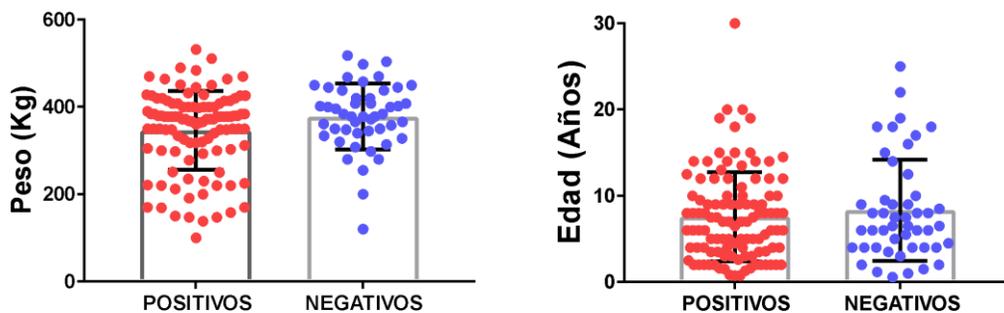
7.1. Prevalencia de estrongilosis en la zona centro del estado de Veracruz.

En los cuatro municipios incluidos en el diseño experimental, se observó una eliminación de huevos por gramo de heces promedio similar ($P > 0.05$; cuadro 1) y una prevalencia de 68.42 %, 72.5 %, 58.97 % y 76.92 % para las regiones de Martínez de la Torre, Nautla, Misantla y Tlapacoyan, respectivamente. No se observó una correlación entre la eliminación de huevos, el manejo, peso y la edad en ningún municipio ($P > 0.05$). Así mismo, tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el peso y la edad de los equinos positivos y negativos a eliminación de huevos por gramo de heces ($n=156$).

Cuadro 1. Eliminación de huevos por gramo de heces, edad y peso de los 156 equinos evaluados en los diferentes municipios.

	Martínez de la Torre	Nautla	Misantla	Tlapacoyan
Hpgh (Media±DE)	277.6 ± 427.1 ^A	280 ± 345.3 ^A	184.6 ± 249.8 ^A	292.3 ± 291.9 ^A
Edad (años)	9.96 ± 5.5	6.48 ± 5.4	5.97 ± 3.96	8.89 ± 5.69
Peso (kg)	385.3 ± 67.1	356.3 ± 79.1	329 ± 95.2	354.8 ± 15.71

A=No diferencia significativa ($P>0.05$)



Gráfica 1 y 2: Comparación del peso y edad entre los animales positivos y negativos en eliminación de huevos por gramo de heces (ehpgh) (n=156; $P > 0.05$).

No se observó relación entre la eliminación de huevos con el peso y la edad en ningún municipio ($P > 0.05$).

7.2. Identificación de larvas, subfamilias *Strongylinae* y *Cyathostominae*.

Se identificó un total de 400 larvas infectantes de los caballos de las cuatro regiones. La subfamilia Strongylinae fue identificada únicamente en el 1% de total de las larvas infectantes (0.75 % y 0.25 % de *S. edentatus* y *S. vulgaris*, respectivamente), y 92 % de ciatostómidos; de los cuales ciatostómido D fue el observado con mayor frecuencia regional y en todos los municipios evaluados (28.75%) (cuadro 3).

Cuadro 2. Identificación de larvas infectantes obtenidas de los cultivos de heces de equinos de los diferentes municipios.

Estrongílicos	Martínez de la Torre	Nautla	Misantla	Tlapacoyan	Total	%
Ciatostómido A	14	4	0	10	28	7
Ciatostómido B	4	0	0	4	8	2
Ciatostómido C	9	14	29	3	55	13.75
Ciatostómido D	37	16	31	31	115	28.75
Ciatostómido E	9	14	23	4	50	12.5
Ciatostómido F	14	2	5	25	46	11.5
Ciatostómido G	0	0	0	0	0	0
Ciatostómido H	7	4	9	13	33	8.25
<i>Gyalocephalus capitatus</i>	3	15	1	6	25	6.25
<i>Posteriostrongylus spp.</i>	0	7	0	1	8	2
<i>Strongylus edentatus</i>	0	2	0	1	3	0.75
<i>Strongylus vulgaris</i>	0	0	0	1	1	0.25
L2	3	22	2	1	28	7
TOTAL	100	100	100	100	400	100



Figura 2. Ciatostómido tipo C (4CI triangulares doble fila y 4CI unifila) Martínez de la Torre



Figura 3. Ciatostómido tipo D (8 CI triangulares en unifila) Nautla



Figura 4. Ciatostómido tipo H (9 CI, primeros 6 doble fila, 3 unifila) Misantla



Figura 5. Ciatostómido tipo C (4 CI triangulares doble fila y 4 CI unifila) Tlapacoyan

7.3. Evaluación de resistencia antihelmíntica *in vivo*.

Los resultados obtenidos en el FECRT mostraron que los equinos de la región centro del estado de Veracruz presentan resistencia antihelmíntica a la Ivermectina oral; con porcentajes de reducción de: 1) 29.83 % y 2) 63.29 % obtenidos con las fórmulas propuestas por Coles (2006) y por Calvete y Uriarte (2013), respectivamente.

8. DISCUSIÓN

Estudios previos reportan que la prevalencia de las estrogilosis equinas en el centro de Veracruz es mayor al 90%³ y del 86% en los estados de Tabasco y Chiapas⁶²; no obstante, nuestros resultados en la región centro de Veracruz

mostraron una prevalencia general del 69.23%. La inconsistencia en los resultados podría estar asociada al cambio en las dinámicas poblacionales asociadas a las condiciones climáticas; ya que el estudio se llevó a cabo a principios del mes de agosto; mientras que otros autores reportan una elevada prevalencia en el mes de octubre⁵. Otro de los factores que pudiese estar asociado a la baja prevalencia es la frecuencia de tratamientos administrados a los animales⁵⁵; ya que el 50% de la población estudiada en este proyecto se desparasitaba con IVM / PO cada 2-3 meses y el 10% de modo semestral.

Así mismo, la prevalencia encontrada por municipio fue de 76.9% y 72.5%, para Tlapacoyan y Nautla respectivamente, dentro del estado de Nautla la temperatura promedio es de 26.1°C, siendo ésta la más cercana a la temperatura óptima de 28°C para el desarrollo de larvas infectantes L₃; sin embargo, el municipio con mayor prevalencia es Tlapacoyan (temperatura promedio de 22.5°C), existiendo una diferencia aproximada de un 10% entre los resultados arrojados entre los municipios antes mencionados y los municipios de Martínez de la Torre y Misantla (68.4% y 58.9%, respectivamente) y cuyas temperaturas promedio son 23.7° y 23.3°C respectivamente. Con base en las temperaturas promedio, podría considerarse que la variación en la temperatura no influye en la prevalencia de los strongilidos. No obstante, uno de los factores clave en la variación de la prevalencia en los municipios podría estar directamente relacionada al tamaño de la población de équidos, así como su manejo nutricional. Ya que, en los municipios de Nautla y Tlapacoyan las poblaciones estudiadas son en su mayoría équidos de trabajo en potrero, por lo que resulta más difícil romper el ciclo biológico de los

parásitos y se mantienen bajo una exposición constante a dichos nematodos. Mientras que en los municipios de Martínez de la torre y Misantla, las poblaciones equinas se mantienen la mayor parte del tiempo en confinamiento dentro de caballerizas y son complementados con concentrado comercial; ya que los equinos de estos municipios son utilizados principalmente con fines recreativos (charrería, baile o carreras).

Dentro de las poblaciones parasitarias, en éste trabajo se encontró que la subfamilia *Strongylinae* sólo representó un 1% con las especies *Strongylus edentatus* 0.75% y *S. vulgaris* 0.25%; y no se encontraron las especies *S. equinus* y *Trichostrongylus sp.*, como se reportó en un estudio previo realizado en la región³. No obstante, la frecuencia de ciatostómidos encontrada alcanzó un 92%, lo cual es consistente con reportes previos que señalan que bajo condiciones naturales la prevalencia de la subfamilia *Cyathostominae* es cercana al 93%^{63,64,65,66}. Así mismo, dentro del presente estudio los grupos de ciatostómidos más frecuentes fueron: D, C, E, F y H, con valores de 28.75%, 13.75%, 12.5%, 11.5% y 8.25% respectivamente. En éste trabajo se encontró una mayor frecuencia del ciatostómido subtipo D, el cual no ha sido reportado como el de mayor importancia en regiones con clima templado o tropical^{23,57}. Éstos resultados difieren de los subtipos de ciatostómidos de mayor prevalencia en estudios realizados fuera del territorio mexicano, llevados a cabo en Brasil y Polonia que son: A, C, y D^{23,57}.

Finalmente, el último objetivo de este proyecto fue determinar el estatus de resistencia antihelmíntica, en este estudio se consideró analizar el porcentaje de

reducción mediante las fórmulas propuestas tanto por Coles (2006) como por Calvete y Uriarte (2013)^{49,50}; siendo éste último quien reporta no considerar un grupo control y solamente evaluar el porcentaje de reducción individual en cada uno de los animales tratados reduce la variabilidad de los resultados y permite realizar una mejor estimación del estatus de resistencia en campo⁵⁰. Así mismo, en éste estudio no se pudo realizar un balance de los grupos con base en las cargas parasitarias ya que se encontraban en unidades de producción diferentes; lo cual, a nuestra consideración propició una variación muy amplia en el porcentaje de reducción entre ambos métodos de cálculo: 29.83 % y 63.29 % (para las fórmulas de Coles y Calvete y Uriarte, respectivamente). Dicha sobreestimación de la resistencia observada con la fórmula propuesta por Coles⁴⁹ lo hemos relacionado con que el grupo control mostró una eliminación inicial de 358.82 ± 58.6 hpgh y el grupo de tratamiento presentaba una eliminación promedio de 697.05 ± 129.79 hpgh. No obstante, el día 14 post-tratamiento, las cargas parasitarias fueron de 364.71 ± 63.99 hpgh para el grupo control y 255.88 ± 108.7 hpgh para el grupo con tratamiento; valores que favorecen a una sobreestimación de la resistencia antihelmíntica en campo. No obstante, con las fórmulas propuestas por ambos autores, se confirma la presencia de RA y se deberá proponer a los productores métodos de control y de manejo alternativos a los empleados hasta el momento.

La presencia de RA en la región es consistente con algunos problemas de manejo detectados con los propietarios. En las encuestas realizadas a los propietarios, se reportó que el 16% realizan una rotación de productos químicos para la desparasitación de sus équidos; mientras que el 84% utiliza la Ivermectina oral durante toda la vida productiva del animal.

Algunos de los factores asociados a la resistencia antihelmíntica que se observaron en las unidades de producción son:

1. El manejo zootécnico de los caballos y su nutrición (pastoreo continuo, alimentación en caballerizas con heno y concentrado comercial).
2. El manejo de las desparasitaciones tanto en frecuencia como en el producto utilizado tiene un impacto directo sobre la eficacia de los productos a corto o mediano plazo; Uhlinger y colaboradores⁶⁷ reportan que a partir del 7° tratamiento consecutivo los productos van disminuyendo su eficacia. Frecuencia de desparasitación los cuales son bimestral/trimestral (50%), semestral (10%) o anual (40%). Producto utilizado pasta de IVM oral o IVM inyectable, producto comercial al 1%, ya sea producto individual o sus distintas combinaciones con otros principios activos.
3. Otro factor es que ninguno de los productores contaba con el conocimiento para realizar una estimación de peso con cinta y realizaban la dosificación de manera arbitraria, ya que durante la experiencia obtenida en éste estudio hubo diferencias de hasta 100kg al comparar su cálculo con el valor referido en la cinta rotulada.

Los diferentes factores de manejo identificados con los productores de las diferentes regiones pueden favorecer tanto al incremento de la prevalencia parasitaria, como emergencia de cepas de nematodos gastrointestinales de equinos resistentes a los productos disponibles para su control.

9. CONCLUSIONES

La prevalencia de las estrogilosis en el centro del estado de Veracruz es de 69.23 %. La frecuencia de la subfamilia *Cyathostominae* en los cultivos larvarios fue del 92%; siendo el subtipo D, el más frecuente en la región centro del estado de Veracruz. Se observó resistencia antihelmíntica la ivermectina oral 1 % en los équidos dentro de los municipios: Nautla, Misantla, Tlapacoyan y Martínez de la Torre, del centro del estado de Veracruz, con una reducción del 63.29 %.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. INEGI, Tabulados de unidades de producción con venta de otros animales y volumen vendido según especie, por entidad y municipio 75, 76 y 77. 2007
2. OIE Código Sanitario para los animales terrestres, Capítulo 7.12. Bienestar de los équidos de trabajo. Publicado en Octubre de 2017. Citado en Noviembre de 2018. Disponible en la liga: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahc/current/chapitre_aw_working_equids.pdf
3. Valdéz-Cruz, M.P., Hernández-Gil, M., Galindo-Rodríguez, L., Alonso-Díaz, M.A. Gastrointestinal nematode burden in working equids from humid tropical areas of central Veracruz, Mexico, and its relationship with body condition and haematological values. *Trop Anim Health Prod* 2013;45:603-607
4. Szklo, M., Nieto, F.J. *Epidemiología intermedia. Conceptos y Aplicaciones*. Madrid, España: Ediciones Díaz de Santos. 2003
5. Salas-Romero, J.; Gomez-Cabrera, K.; Beltrao-Molento, M.; Lyons, E.T.; Delgado, A.; González, L.; Arenal, A.; Nielsen, M.K. Efficacy of two extra-label anthelmintic formulations against equine strongyles in Cuba. *Vet Parasitol* 2017;8:39-42.
6. Grumach, A.S., Kirschfink, M. Are complement deficiencies really rare? Overview on prevalence, clinical importance and modern diagnostic approach. *Mol. Immunol.* 2014;61:110-117.
7. Bowman, D.D. *Georgis Parasitología para veterinarios*. 8ª ed. Madrid (España): Elsevier; 2004.
8. Pfister, K., van Doorn, D. New perspectives in equine intestinal parasitic disease insights in monitoring helminth infections. *Vet Clin Equine* 2018;34:141-153.
9. Salle, G., Cortet, J., Dubés, C., Guyot-Sionest, Q., Larrieu, C., Landrin, V., *et al.*, Risk factor analysis of equine strongyle resistance to anthelmintics. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist* 2017;7:407-415.
10. Van Doorn, D.C.K.; Kooyman, F.N.J.; Eysker, M.; Hodgkinson, J.E.; Wagenaar, J.A.; Ploeger, H.W. *In vitro* selection and differentiation of ivermectin resistant cyathostomin larvae. *Vet Parasitol* 2010;174:292-299.
11. Aiello, S.E. *The Merck Veterinary Manual*. 10th Ed. [ebook] Kenilworth, NJ, USA: Merck Sharp & Dhome Corp. Chapter: Large Strongyles in Horses. 2018 Última modificación en 2018. Citado en octubre de 2018. Disponible en la liga: <https://www.merckvetmanual.com/digestive-system/gastrointestinal-parasites-of-horses/large-strongyles-in-horses>
12. Cernea, M., Madeira de Carvalho, L.M., Cernea, L.C. Horse Strongylosis in Romania-Diagnosis, epidemiology and anthelmintic resistance. *Acta Parasitol. Portuguesa*. 2010;17.

13. Lyons, E.T., Tolliver, S.C. Prevalence of patent *Strongyloides westeri* infections in Thoroughbred foals in 2014. *Parasitol Res* 2014;113:4163-4164. DOI 10.1007/s00436-014-4088-1.
14. Mathews, J.B. Anthelmintic resistance in equine nematodes. *Int. J Parasitol* 2014;4: 310-315.
15. Kumar, S., Garg, R., Kumar, S., Banarjee, P.S., Ram, H., Prasad, A. Benzimidazole resistance in equine cyathostomins in India. *Vet Parasitol* 2016;218:93-97.
16. 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., Cobb, R. Anthelmintic resistance in cyathostomin populations from horse yards in Italy, United Kingdom and Germany. *Parasit Vectors* 2009;2. DOI:10.1186/1756-3305-2-2-S2-S2
17. Molento, M.B., Antunes, J., Bentes, R.N., Coles, G.C. Anthelmintic resistant nematodes in Brazilian horses. *Vet. Rec.* 2008;162:385-385.
18. Várady, M., Köngivá, A., Čorba, J. Benzimidazole resistance in equine cyathostomes in Slovakia. *Vet Parasitol* 2000;94:67-74.
19. Prichard, R. Anthelmintic resistance. *Vet Parasitol* 1994;54:259-268.
20. Çirak, V.Y., Güleğen, E., Bauer, C. Benzimidazole resistance in cyathostomin populations on horse farms in western Antolia, Turkey. *Parasitol* 2004;93:392-395. DOI 10.1007/s00436-004-1143-3
21. Drogemuller, M., Failing, K., Schnieder, T., von Samson-Himmelstjerna, G. 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* 2004;123:201-213.
22. Buzatu, M.C., Mitrea, I.L., Gruianu, A., Ionita, M. 2 Investigating the Strongyle populations, with emphasis on *Strongylus vulgaris* (Nematoda: *Strongylidae*) in Romanian horses, based on larval cultures. *Bulletin UASVM Vet. Med.* 2017;74 DOI: 10.15835.
23. Santos, W. D., Dias de Castro, L.L., Giese, E. G., Molento, M. B. Morphometric study of infective larvae of cyathostomins of horses and their distribution. *J Equine Vet Sci* 2016;44:49-53.
24. Perez, M. A., Lecuna, C.J. Estudio in vivo de la carga parasitaria y especies de nematodos gastrointestinales de la familia Strongylidae en caballos criollos venezolanos. *Rev Fac Cs Vets* 2014:34-41.
25. Kuzmina, A. T., Dzeverin, I. Kharchenko, A. V. Strongylids in domestic horses: influence of horse age, breed and deworming programs on the strongyle parasite community. *Vet. Parasitol.* 2016;227:56-63.
26. Corning, S. Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. *Parasit. Vectors* 2009;2.

27. Mfitlodze, M.W., Hutchinson, G.W. The site distribution of adult strongyle parasites in the large intestines of horses in tropical Australia. *Int J Para* 1985;15:313-319.
28. Sellon, D.C., Long, M.T., *Equine Infectious Diseases, Chapter 57 Nematodes*, 2nd Ed., St. Louis (MO) Saunders 2014:476-481.
29. Levine, N. D. *Textbook of Veterinary Parasitology*. Burgess Publishing company. Mineapolis, Minnesota. Copyright 1978:101-102.
30. Cordero, C. 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., Carvalho, V. M. *Parasitología Vetriariana*. Mc Graw Hill-Interamericana 3^a reimpresión 2002 España.
31. Kaplan, R.M.; Mathews, J.B. *Equine cyathostomins*. *Vet Parasitol* 2004;125:203-220.
32. Bucknell, D.G., Gasser, R. B. Beveridge, I. The prevalence and epidemiology of gastrointestinal parasites of horses in Victoria, Autralia. *Int J Parasitol* 1995;25: 711-724.
33. Ogburne, C.P. The prevalence, relative abundance and site of distribution of nematodes of subfamily cyathostominae in horses killed in Britain. *J Helminthol* 1976;50:203-214.
34. Klei, R. T., Chapman, R. M. Immunity in equine cyathostome infections. *Vet Parasitol* 1999;85:123-136.
35. Mathews, J.B., McArthur, C., Robinson, A., Jackson, F. The in vitro diagnosis of anthelmintic resistance in cyathostomins. *Vet Parasitol* 2012;185:25-31.
36. Saumell, C., Lifschitz, A., Baroni, R., Fusé, L., Bistoletti, M., Sagües, F., Bruno, S., Alvarez, G., Lanusse, C., Alvarez, L. The route of administrations drastically affects ivermectin activity against small strongyles in horses. *Vet Parasitol* 2017;236:62-67.
37. Laing, R., Gillan, V., Devaney, E., Ivermectin- Old drug, new tricks? *Trends in parasitology* 2017;33:463-472.
38. Becher, A.M., Mahling, M., Nielsen, M.K., Pfister, K. Selective anthelmintic therapy of horses in the Federal states of Bavaria (Germany) and Salzburg (Austria): An investigation into strongyle egg shedding consistency. *Vet. Parasitol.* 2010;171: 116-122.
39. Nielsen, M.K. Fritzen, B., Duncan, J.L., Guillot, J., Eysker, M., Dorchies, P., Laugier, C., Beugnet, F., Meana, A., Lussot-Kervern, I., von Samson-Himmelstjerna, G. Practical aspects of euine parasite control: A review based upon a workshop discussion consensus. *Equine Vet. J.* 2010;42:460-468.
40. Geary, G. T., Hosking, C. B., Skuce, J. P., von Samson-Himmelstjerna, G., Maeder, S., Holdsworth, P., Pomroy, W., Vercruysse, J. *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) Guideline: anthelmintic combination products targeting*

- nematode infections of ruminants and horses. *Vet Parasitol* 2012;190:306-316
41. Nielsen, M.K., Mittel, L., Grice, A., Erskine, M., Graves, E., Vaala, W., Tully, R.C., French, D.D., Bowman, R., Kaplan, R.M. *AAEP Parasite Control Guidelines* Página de internet. American Association of Equine Practicioners (A.A.E.P.) Publicado en Marzo de 2013. Citado en Noviembre de 2018. https://aaep.org/sites/default/files/Guidelines/AAEPParasiteControlGuidelines_0.pdf
 42. Armstrong, S.K.; Woodgate, R.G.; Gough, S.; Heller, J.; Sangster, N.C.; Hughes, K.J.; *The efficacy of ivermectin, pyrantel and febendazole against *Parascaris equorum* infection in foals on farms in Australia.* *Vet Parasitol* 2014;205:575-580.
 43. Ismail, A.A., Ahmed, N.K., Bashar, A.E., Seri, H.I., El Tigani Ahmed El Tigani-Asil, Abakar, A.D. *A survey of seasonal of gastrointestinal parasitic infections in donkeys from a semiarid sub-Saharan region, Sudan.* *Journal of Pathogens* 2016 Article ID 4602751
 44. Varady, M., Konigova, A., Corba, J. *Benzimidazole resistance in equine cyathostomes in Slovakia.* *Vet. Parasitol.* 2000;94:67-74.
 45. Zak, A., Siwinska, N., Slowikowska, M., Borowicz, H., Kubiak, K., Hildebrand, J., Popielek, M., Niedzwiedz, A. *Searching for ivermectin resistance in a Strongylidae population of horses stabled in Poland.* *Vet Res* 2017;13:210 DOI 10.1186/s12917-017-1133-1
 46. von Samson-Himmelstjerna, G., Fritzen, B., Demeler, J., Schürmann, S., Rohn, K., Schneider, T., Epe, C. *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.* *Vet Parasitol* 2007;144:74-80.
 47. Osterman-Lind, E.; Eysker, M.; Nilsson, O.; Ugglå, A.; Höglund, J. *Expulsion of small strongyle nematodes (cyathostomin spp) following deworming of horses on a stud farm in Sweden.* *Vet Parasitol* 2003;115:289-299.
 48. Craven, J., Bjorn, H., Barnes, E.H., Henriksen, S.A., Nansen, P. *A comparison of invitro tests and faecal egg count reduction test in detecting anthelmintic resistance in horse strongyles.* *Vet Parasitol* 1999;85:49-59.
 49. Coles, G.C., Bauer, C., Borgsteede, F.H.M., Geerts, S., Klei, T.R., Taylor, M.A., Waller, P.J. *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance.* *Vet Parasitol* 1992;44:35-44
 50. Calvete, C., Uriarte, J. *Improving the detection of anthelmintic resistance: Evaluation of faecal egg count reduction test procedures suitable for farm routines.* *Vet Parasitol* 2013;196:438-452.

51. Zajac, A.M.; Conboy, G.A.; *Veterinary Clinical Parasitology*. 8th Edition. Wiley-Blackwell. 2012 American Association of Veterinary Parasitologists. 9-10
52. Osterman-Lind, E.; Eysker, M.; Nilsson, O.; Uggla, A.; Höglund, J. Expulsion of small strongyle nematodes (*cyathostomin* spp) following deworming of horses on a stud farm in Sweden. *Vet Parasitol* 2003;115:289-299.
53. Beasley, A.M., Coleman, G.T., Kotze, A.C. Adaptation of 96 well plate larval migration inhibition test for measuring cyathostomins to macrocyclic lactone anthelmintics. *Vet Parasitol* 2017; 245: 55-61.
54. FAO Resistencia a los antiparasitarios. Estado actual con énfasis en América Latina. Dirección de Producción y Sanidad Animal de la FAO. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Roma 2003
55. Nielsen, M.K., Mittel, L., Grice, A., Erskine, M., Graves, E., Vaala, W., Tully, R.C., French, D.D., Bowman, R., Kaplan, R.M. *AAEP Parasite Control Guidelines* Página de internet. American Association of Equine Practicioners (A.A.E.P.) Publicado en Marzo de 2013. Citado en Octubre de 2018.
https://aaep.org/sites/default/files/Guidelines/AAEPParasiteControlGuidelines_0.pdf
56. Corticelli, B., Lai, M. Ricerche sulla tecnica di coltura delle larve infestive degli strongili gastro-intestinali del bovino. *Acta Medica Veterinaria* 1963;9.
57. Kornás, S., Gawor, J., Cabaret, J., Molenda, K., Skalska, M., Nowosad, B. Morphometric identification of equid cyathostome (Nematoda: *Cyathostominae*) infective larvae. *Vet Parasitol* 2009;162:290-294.
58. Shea, C. A. P., Hedinger, V.F., Hamm, L.R., Ernst, M.M., Papajeski, B.M., Santiago, M.L., Davis, A.J. Effects of ivermectin and moxidectin on Fecal Egg Count and Egg Reappearance Rate in Horses. *J Equine Vet Sci* 2017:51-55.
59. Smith, M.A.; Nolan, T.J.; Rieger, R.; Aceto, H.; Levine, D.G.; Nolen-Walston, R.; Smith, B.I. Efficacy of major anthelmintics for reduction of fecal shedding of strongyle-type eggs in horses in the Mid-Atlantic region of the Unites States. *Vet Parasitol* 2015;214:139-143.
60. Coles, G. C., Borgsteede, F. H. M., Geerts, S., Klei, T. R., Taylor, A., Waller, P. J. Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for detection of anthelmintic resistance in netamodes of veterinary importance. *Vet Parasitol* 1992;44:35-44.
61. Kochapakdee, S., Pandey, V.S., Pralomkarm, W., Choldumrongkul, S., Ngampongsai, W., Lawpetchara, A. Anthelmintic resistance in goat in southern Thailand. *Vet Rec* 1995;137:124–125.

62. González, G.R., Nuncio-Ochoa, J. M. G., Navarro-Martínez, F., Arroyo-Balán, F., Arias-Vázquez, M. S., Paz-Silva, A. Intensity of infection with strongylids nematodes in horses from Southeast Mexico. *Chilean J Agric Anim Sci* 2015;31:127-136.
63. Morariu, S., Mederle, N., Badea, C., Dărăbuș, G., Ferrari, N., Genchi, C. The prevalence, abundance and distribution of cyathostomins (small strongyles) in horses from Western Romania. *Vet Parasitol* 2016;223:205-209.
64. Canever, J. R., Braga, R. C. P., Boeckh, A., Grycajuck, M., Bier, D., Molento, B. M. Lack of *Cyathostomin* sp. Reduction after anthelmintic treatment in horses in Brazil. *Vet. Parasitol.* 2013;194:35-39.
65. Bucknell, D.G., Gasser, R. B. Beveridge, I. The prevalence and epidemiology of gastrointestinal parasites of horses in Victoria, Australia. *Int J Parasitol* 1995;25: 711-724.
66. Reinemeyer, C. R., Smith, S. A., Gabel, A.A., Herd, R.P. The prevalence and intensity of internal parasites of horses in the USA. *Vet Parasitol* 1984;15:75-83.
67. Uhlinger, C., Kristula, M. Effects of alternation of drug classes on the development of oxibendazole resistance in a herd of horses. *J Am Vet Med Assoc* 1992;201: 51-55.

11. ANEXOS

Anexo 1: encuesta a propietarios.

Propietario:

Caballo:

Edad:

Comunidad:

¿Desparasita?

1. Si
2. No

¿Frecuencia?

0. Nunca
1. 2meses
2. 3meses
3. 6 meses
4. Anual

Producto que utiliza:

1. IVM
2. IVM/PZ
3. IVM/DORAMECTINA

Vía de administración:

1. Oral
2. Intramuscular
3. Ambas

Rotación de Productos:

1. Si
2. No

¿Con qué frecuencia?

1. 2meses
2. 3meses
3. 6 meses
4. Anual
5. Nunca

¿Por cuánto tiempo ha utilizado el producto?

Parásitos que presenta: