

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias de la Salud

**Efectividad de Ivermectina + Mebendazol sobre ciatostomas
en équidos del cantón Quinindé, provincia de Esmeraldas,
Ecuador**

Artículo Académico

Mónica Emilia Trueba Ramírez

Medicina Veterinaria

Trabajo de titulación presentado como requisito
para la obtención del título de
Médico Veterinario

Quito, 21 de diciembre de 2018

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

COLEGIO CIENCIAS DE LA SALUD

**HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

**Efectividad de Ivermectina + Mebendazol sobre ciatostomas en équidos del
cantón Quinindé, provincia de Esmeraldas, Ecuador**

Mónica Emilia Trueba Ramírez

Calificación:

Nombre del profesor, Título académico

Juan Sebastián Galecio Naranjo, MSc

Firma del profesor

Quito, 21 de diciembre de 2018

Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante: _____

Nombres y apellidos: Mónica Emilia Trueba Ramírez

Código: 00116400

Cédula de Identidad: 1719206367

Lugar y fecha: Quito, 21 de diciembre de 2018

RESUMEN

La resistencia antihelmíntica es la disminución de la efectividad de un compuesto químico contra una población de parásitos que antes era sensible a éste. Es una característica heredable en parásitos, causada por el uso frecuente e inapropiado de los antiparasitarios. No existe información sobre los protocolos de desparasitación para équidos de trabajo de la zona tropical ecuatoriana, pero se presume que sucede de la misma forma que con bovinos: mediante desparasitación por intervalos, lo que crearía presión selectiva sobre los ciatostomas y llevaría al desarrollo de resistencia antihelmíntica. El objetivo de este estudio fue determinar si existe resistencia de ciatostomas a la combinación de Ivermectina con Mebendazol en équidos de trabajo agrícola de Quinindé, provincia de Esmeraldas, Ecuador durante julio y agosto de 2017. Se tomaron muestras de 187 équidos de cuatro recintos. Se formaron dos grupos: dos recintos pertenecían al grupo Ivermectina + Mebendazol (I+M) y dos recintos al grupo control. 144 équidos pertenecían al grupo I+M en el muestreo basal y 78 en el muestreo post tratamiento realizado 14 días después y fueron desparasitados con Ivermectina 2mg/kg y Mebendazol 7,5mg/kg (ROSSO D de Farbiopharma S.A.) por vía oral, dosis única. El grupo control constaba de 43 équidos en el muestreo basal y 42 en el muestreo post tratamiento y fueron administrados vitaminas como placebo. Se tomaron muestras de heces recién defecadas o directamente del recto del équido, fueron identificadas y refrigeradas a 4°C hasta ser procesadas. Se procesaron las muestras usando la técnica McMaster modificada, se realizó un conteo de huevos por gramo de heces (hpg) basal y post tratamiento y se clasificaron en base al hpg basal, siendo 35,5% bajos contaminadores (0-200hpg), 25,6% moderados contaminadores (200-500hpg) y 38,9% altos contaminadores (>500hpg). Se comparó la oviposición basal del grupo I+M (375 ± 306) y del grupo control (375 ± 388) y fueron similares. Hubo una disminución significativa en la oviposición post tratamiento del grupo I+M (0 ± 0) pero no en el grupo control (325 ± 572). Para determinar resistencia se usó como criterio el porcentaje de reducción de oviposición (PRO), del grupo control fue 13% y del grupo I+M fue 100%. En conclusión, no existe resistencia antihelmíntica de los ciatostomas a la combinación Ivermectina + Mebendazol. Además, esta combinación tiene una efectividad de 100% contra ciatostomas en los équidos Quinindé, provincia de Esmeraldas, Ecuador. La desparasitación de los équidos debe realizarse una vez al año en los meses de julio o agosto en conjunto con pastoreo mixto, para disminuir la carga parasitaria en los équidos de trabajo, contaminación de la pradera y disminuir el riesgo de reinfestación en la población de équidos.

Palabras clave: Resistencia, Efectividad, Ciatostomas, Ivermectina, Mebendazol, Équidos, Quinindé, Tropical, Ecuador.

ABSTRACT

Anthelmintic resistance is the decrease of a chemical compound effectiveness against a parasite population that used to be susceptible to it. It is a heritable feature in parasites, caused by the frequent and inappropriate use of anthelmintics. There is no information about deworming protocols in working equids of the Ecuadorian tropical zone, but it is presumed to occur in the same way as for cattle: by deworming at intervals, which would create selective pressure on cyathostomes and lead to the development of anthelmintic resistance. The objective of this study was to determine if there is resistance of cyathostomes to the combination of Ivermectin with Mebendazole in equids of agricultural work in Quinindé, province of Esmeraldas, Ecuador during July and August of 2017. Samples of 187 equids were taken from four properties. Two groups were formed: two properties belonged to the Ivermectin + Mebendazole group (I+M) and two properties to the control group. 144 equids belonged to the I+M group in the basal sampling and 78 in the post-treatment sampling conducted 14 days later and were dewormed with Ivermectin 2mg/kg and Mebendazole 7.5mg/kg (ROSSO D by Farbiopharma S.A.) orally, only dose. The control group consisted of 43 equids in basal sampling and 42 in post-treatment sampling and vitamins were administered as placebo. Samples were taken from freshly defecated stools or directly from the rectum of the equid, were identified and refrigerated at 4°C until they were processed. The samples were processed using the modified McMaster technique, an egg count per gram of stool (epg) basal and post treatment was performed and were classified based on the basal epg, with 35.5% the low pollutants (0-200hpg), 25.6% the moderate pollutants (200-500hpg) and 38.9% the high pollutants (> 500hpg). The basal oviposition of group I + M (375 ± 306) and the control group (375 ± 388) were compared and were similar. There was a significant decrease in post-treatment oviposition of the I+M group (0 ± 0) but not in the control group (325 ± 572). To determine resistance, the oviposition reduction percentage (PRO) was used as a criterion, the control group was 13% and the I+M group was 100%. In conclusion, there is no anthelmintic resistance of cyathostomes to the combination Ivermectin + Mebendazole. In addition, this combination has a 100% effectiveness against cyathostomes in the equids of Quinindé, Esmeraldas province, Ecuador. The deworming of equids should be done once a year in the months of July or August in combination with mixed grazing, to reduce the parasitic load on working equids, to reduce contamination of the meadow and the risk of reinfestation in the population of equids.

Key words: Resistance, Effectiveness, Cyathostomes, Ivermectin, Mebendazole, Equids, Quinindé, Tropical, Ecuador.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	9
Enfermedades parasitarias: citostomiasis	9
Antiparasitarios	10
Resistencia antihelmíntica	12
Restricciones	14
Justificación	15
Objetivo	15
MATERIALES Y MÉTODOS	16
Bioética	16
Ubicación	16
Animales de estudio	17
Grupo control.....	17
Grupo Ivermectina+Mebendazol.....	18
Obtención de muestras	18
Procesamiento de muestras	18
Contaminadores	19
Criterios de resistencia	19
Análisis estadístico	20
RESULTADOS	21
DISCUSIÓN	23
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Familias de Nematocidas.....	11
--	-----------

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Clasificación de équidos de acuerdo a la oviposición obtenida en el muestreo basal (n=187).....	21
--	-----------

INTRODUCCIÓN

Enfermedades parasitarias: citostomiasis

Las enfermedades parasitarias son una importante preocupación en el mundo de los équidos, principalmente la citostomiasis ya que es la más común (Canever, Braga, Boeckh, Grycajuck, Bier y Molento, 2013). Los estróngilos son ubicuos de la población equina y son responsables de muchos síndromes clínicos. Se dividen en grandes y pequeños estróngilos por sus características morfológicas y de migración. Los grandes estróngilos se caracterizan por su larga migración a través de la cavidad abdominal, su largo período prepatente y el enquistamiento de adultos en la mucosa cecal y colónica. Por otro lado, los pequeños estróngilos, también conocidos como ciatostomas, son un grupo de más de 40 especies con características muy similares entre sí por lo que se los suele agrupar. Los ciatostomas poseen una corta migración local dentro del intestino, tienen un período prepatente corto y los adultos únicamente se enquistan de manera superficial a la mucosa colónica y no se alimentan de sangre (Giles, Urquhart, & Longstaffe, 1985).

La ciatostomiasis es una infección parasitaria de los equinos causada por estadíos inmaduros o larvarios de pequeños estróngilos o ciatostomas (Lyons, Drudge, & Tolliver, 2000). Causa pérdidas de peso, pirexia, taquicardia, alteraciones en cambio de pelaje, heces menos consistentes y diarrea en casos severos y puede desatar síndromes de diarrea crónica de inicio repentino, neutrofilia, hipoalbuminemia, edema subcutáneo, malabsorción, emaciación y muerte (Giles et al., 1985). No se conoce con certeza la patogenia precisa de la ciatostomiasis, pero se asocia con la erupción en masa de las larvas que se encontraban enquistadas en las mucosas colónica y cecal hacia el lumen

produciendo una enteropatía extensiva y compromete la función del intestino, causando pérdida de fluidos y proteínas (Giles et al., 1985; Lyons et al., 2000). Reportes sobre esta enfermedad han incrementado en los últimos años posiblemente debido a incremento de la incidencia del problema, sensibilización y reconocimiento de la enfermedad, enmascaramiento previo de la enfermedad por enfermedad causada por grandes estróngilos y/o resistencia de los ciatostomas a los antiparasitarios más comúnmente utilizados (Lyons et al., 2000).

Se conoce que habitualmente, pequeños y medianos propietarios de animales en climas tropicales poseen mayor predisposición a que sus animales sufran de garrapatas y otros ectoparásitos de la zona por el clima, vegetación y condiciones de vida en general, y al conocer que las lactonas macrocíclicas, entre otros antiparasitarios funcionan muy bien contra estos organismos, las utilizan cada ocasión en que observan presencia de ectoparásitos en sus animales. A raíz del tratamiento constante que suele existir para parásitos externos, los parásitos internos de estos animales tienden a presentar resistencia a los antiparasitarios utilizados, causando un nuevo problema de salud junto con pérdidas económicas (Martins, 2001).

Antiparasitarios

Los fármacos antiparasitarios se clasifican en: Nematocidas, Cesticidas, Trematocidas, Protozoocidas, Ectoparasiticidas y Endectocidas. Para el tratamiento de pequeños estróngilos se utilizan los nemaotocidas, los cuales se describen a continuación en la Tabla N°1:

Tabla 1: Familias de Nematocidas.

BENZIMIDAZOLES		LACTONAS MACROCÍCLICAS	IMIDOTIAZOLES		TETRAHIDRO-PIRIMIDINAS	PIPERAZINA	DICLORVOS
Cambendazol	Luxabendazol	AVERMECTINAS	MILBEMICINAS	Tetramisol	Morantel		Triclorfón
Tiabendazol	Mebendazol	Ivermectina	Moxidectina	Levamisol	Pirantel		
Albendazol	Oxibendazol	Abamectina	Nitroscanato	Butamisol	Closantel		
Ciclobendazol	Parbendazol	Doramectina	Destomicina				
Fenbendazol		Selamectina					
Flubendazol		Eprinomectina					

Fuente: (Sumano y Ocampo, 2006)

En el presente trabajo se utilizó un antihelmíntico consistente de Ivermectina y Mebendazol (ROSSO D de Farbiopharma®), razón por la cual estos dos compuestos se describen a continuación.

La Ivermectina, es una lactona macrocíclica, de amplio espectro, sin acción sobre cestodos ni trematodos, comúnmente utilizada para controlar tanto endoparásitos como ectoparásitos. En su mecanismo de acción ésta se acopla a un receptor de alta afinidad (glutamato) e incrementando la permeabilidad de Cl⁻ causa en el parásito una parálisis flácida, provocando que este se desprenda de la mucosa intestinal (Rodríguez-Vivas, Arieta-Román, Pérez-Cogollo, Rosado-Aguilar, Ramírez-Cruz y Basto-Estrella, 2010). En équidos se utiliza para el tratamiento de *Strongylus vulgaris*, *S. edentatus*, *S. equinus*, *Triodontophorus* sp., pequeños estróngilos, ascáridos y microfilarias. Se administra en una dosis de 0,2mg/kg por vía oral (VO) para evitar posibles reacciones en la zona de inyección (Sumano y Ocampo, 2006).

Por otro lado, los benzimidazoles fueron descubiertos en 1961 y tanto su estudio como su uso se han intensificado desde entonces. “El Mebendazol difiere de la mayoría de

benzimidazoles ya que no inhibe la reductasa de fumarato. Su efecto lo logra al bloquear el paso de glucosa al parásito, con la consecuente disminución de glucógeno y ATP. (...) Con este fármaco la eliminación del parásito es relativamente lenta y sucede uno o dos días después” (Sumano y Ocampo, 2006). Su metabolismo es enterohepático y se recomienda administrar VO a una dosis de 15-20mg/kg/5 días, a dosis altas puede tener efectos a nivel de SNC y es teratógeno y embriotóxico.

Resistencia antihelmíntica

“La resistencia antihelmíntica en estrongilidos de caballos y pequeños rumiantes está creciendo rápidamente a nivel mundial” (Zajac y Conboy, 2012). Este inconveniente se ha creado por el uso incorrecto de las opciones farmacológicas y protocolos antiparasitarios para el cuidado de los animales, sumado a la gran movilización de équidos tanto nacional como internacionalmente. La resistencia es heredada y seleccionada durante el tratamiento, puesto que los helmintos resistentes escapan del efecto del tratamiento y pasan la resistencia a la siguiente generación (Committee for Medicinal Products for Veterinary Use, 2013).

Se define a la resistencia antihelmíntica como la disminución de la efectividad de un compuesto químico contra una población de parásitos que, por lo general, eran sensibles a este (Rodríguez, Arece, Olivares, Alemán, y Sánchez, 2015). Esto se debe a que decrece el tiempo en que vuelven a aparecer huevos de parásitos posterior a una desparasitación (Zajac y Conboy, 2012). Como estipulan Andrioli y de Paula (2016), el uso frecuente e inapropiado de toda clase de fármacos antiparasitarios ha llevado a la reducción de su efectividad, causando un problema global de resistencia antihelmíntica. En el estudio realizado en Brasil por (Molento, Antunes, Bentes, y Coles, 2014), se analizó la efectividad

de las tres familias de antihelmínticos (benzimidazoles, tetrahidropirimidinas y lactonas macrocíclicas) en 54 caballos, y se observó ineffectividad de control de ciatostomas tras la utilización de diversas lactonas macrocíclicas, tanto solas como combinadas. En un estudio realizado en Italia, Reino Unido y Alemania en 1704 caballos, los resultados indicaron resistencia simple y múltiple a fármacos antiparasitarios en los ciatostomas (Traversa, Von Samson-Himmelstjerna, Demeler, Milillo, Schurmann, Barnes y Cobb, 2009).

Actualmente, dentro de la información existente sobre el impacto económico que tiene la resistencia antihelmíntica a nivel mundial, puede encontrarse un estudio en Brasil, donde se han calculado pérdidas superiores a los 7 billones de dólares (USD) anuales debido a parásitos gastrointestinales en ganado bovino (Grisi, Cerqueira, De Souza, Medeiros, Andreotti, Duarte y Silva, 2014), en Dinamarca se publicó un estudio donde se describió resistencia de *Ostertagia circumcincta* a Levamisol a comienzos de los años 90 (Bjørn, Monrad, & Nansen, 1991), luego Miangi, Bjørn, Thamsborg, Bøgh y Nansen (1996) publicaron sobre evidencia de resistencia a Benzimidazoles, Ivermectina y Levamisol en trichostrongilos caprinos en 15 rebaños daneses. En ganado bovino existen publicaciones en todo el mundo sobre resistencia de nemátodos a las tres grandes familias de antiparasitarios (Kaplan, 2004). Con respecto a equinos, en Suecia se reportó resistencia de pequeños estrogilidos (Nilsson, Lindholm, & Christensson, 1989), seguido de publicaciones de Bjørn, Sommer, Schougård, Henriksen y Nansen (1991) e Ihler (1995) que describían alta prevalencia de resistencia a Benzimidazoles en Dinamarca y Noruega. Miller, Waghorn, Leathwick, Candy, Oliver y Watson (2012) realizaron un estudio sobre el costo productivo de resistencia antihelmíntica en ovejas, comparando parámetros productivos entre ovejas tratadas con antiparasitarios altamente efectivos y ovejas tratadas con antiparasitarios que se había descrito presencia de resistencia anteriormente. Se presentó una reducida

ganancia de peso, significando una pérdida en valor de carcasa en las ovejas tratadas con baja eficiencia o conocida resistencia a comparación de las tratadas con antiparasitarios altamente efectivos, llevando a la conclusión de que existe una importante pérdida de productividad debido a parasitismo subclínico.

En un estudio previo realizado en Machachi, Ecuador, Lepoutre (2015) determina la resistencia de ciatostomas a Ivermectina y Fenbendazol en 117 equinos. Sus resultados sugirieron resistencia a Fenbendazol, pero no a Ivermectina.

Restricciones

La aplicación de restricciones para que únicamente se puedan adquirir antiparasitarios con una prescripción veterinaria ha incrementado la participación de los veterinarios en el control de esta problemática. Sin embargo, todavía se desconoce cómo estas condiciones afectan a los niveles de resistencia antihelmíntica y salud general de los équidos, para lo cual se requiere de más información, pero el abordaje de los problemas parasitarios ha cambiado, donde ya se realizan conteos fecales y cultivos larvarios previo a la prescripción de un antiparasitario, disminuyendo la frecuencia en el uso de estos, reduciendo así la presión selectiva sobre los ciatostomas (Nielsen, 2009; Kaplan, 2013).

El primer país en establecer restricciones en antiparasitarios para reducir el riesgo de resistencia fue Dinamarca en el año 1999. Se prohibió el tratamiento antihelmíntico sin prescripción veterinaria y estableció el uso de terapia selectiva. A esto, países como Suiza, Italia, Países Bajos, Finlandia y Reino Unido, siguieron el ejemplo basándose en este modelo. En EE.UU. se recomienda utilizar terapia selectiva, sin embargo, no existe una restricción como tal tanto para la compra como para la administración de antiparasitarios. Actualmente, en Suecia, Países Bajos y Finlandia se han implementado también la

restricción de prescripción. En Dinamarca, los veterinarios que trabajan con equinos se encuentran participando activamente en las desparasitaciones de los mismos, y el 97% de ellos realiza conteos fecales para determinar el protocolo de desparasitación y 41% hace cultivos larvarios para grandes estróngilos (Nielsen, 2009).

Justificación

Al no existir estudios o información sobre los protocolos usados por propietarios para la desparasitación de équidos de la costa del Ecuador, se asume que sucede lo mismo que con bovinos. Desde la década de 1960, se comenzó a utilizar la desparasitación por intervalos muy frecuentes para el control de parásitos gastrointestinales en équidos (Courtney, 1999). Esto ha creado una presión selectiva sobre los mismos, es decir que los parásitos que han resistido al tratamiento pasan sus genes a la siguiente generación (Sangster, 1999) reduciendo la efectividad de los fármacos antihelmínticos y causando pérdidas económicas. Al no esperarse la creación de nuevas clases de antihelmínticos en un futuro cercano en el mercado equino, esto se convierte en una amenaza importante a la salud equina (Stratford, 2014).

Objetivo

El objetivo de este estudio es determinar si existe resistencia de ciatostomas a la combinación de Ivermectina con Mebendazol en équidos de trabajo agrícola del cantón Quinindé, provincia de Esmeraldas, Ecuador.

MATERIALES Y MÉTODOS

Bioética

El presente estudio fue aprobado por el Comité de Ética en el Uso de Animales en Investigación y Docencia de la Universidad San Francisco de Quito (USFQ) registrado en el oficio 2017-013. Todos los animales fueron manejados siguiendo prácticas de bienestar animal de acuerdo al protocolo en base a las pautas de manejo de animales del Canadian Council on Animal Care (2017).

Ubicación

Este estudio se llevó a cabo durante los meses de julio y agosto de 2017, en el cantón Quinindé, provincia de Esmeraldas, Ecuador. El clima de la zona es templado, con baja humedad y altas temperaturas. La humedad relativa media del aire en el mes de julio fue de 90,39% y en agosto fue de 90,16%. En el mes de julio existió una precipitación media de 0mm y en agosto de 0,01mm. La temperatura media durante el estudio fue de 24,7°C (Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología, 2017).

Se seleccionaron cuatro recintos dentro del cantón Quinindé: El Botado, Santa Isabel, Guacharaco y El Descanso. La principal actividad de estas propiedades es el comercio de palma africana, donde se utilizan équidos para el transporte de la misma. Todos los animales se encontraban en potreros en pastoreo extensivo.

Animales de estudio

En los predios seleccionados se utilizan caballos, burros y mulas para realizar el transporte de palma africana dentro de las propiedades, los cuales fueron los sujetos de estudio.

Se excluyeron del estudio a los équidos que eran mantenidos en estabulación, aquellos menores de 2 años de edad, mayores a 20 años de edad, animales considerados enfermos y/o animales gestantes, dando un total de 187 équidos entre caballos, mulas y burros. Se consideró a cada recinto como un grupo de estudio, es decir que no se dividieron los animales dentro de los recintos en diferentes grupos, sino que todos los animales de un recinto pertenecían a un mismo grupo de estudio. Se tomó esta decisión debido a la dificultad de acceso hacia los recintos puesto que los caminos de ingreso no se encontraban en buenas condiciones y los équidos se hallaban muy lejos del sitio donde se realizaba el muestreo, sumado a la dificultosa identificación de los équidos.

Grupo control.

Al azar, se eligieron dos de los recintos, Guacharaco y El Descanso, en los cuales todos los animales de esos recintos conformaron el grupo control. En el muestreo basal el grupo control tuvo 43 équidos (n=43). Se realizó la obtención de cada muestra fecal y se aplicaron vitaminas como placebo a los animales pertenecientes a este grupo. En el muestreo post tratamiento, a los 14 días, asistieron 42 équidos (n=42), en donde se realizó un nuevo muestreo de los animales.

Grupo Ivermectina + Mebendazol.

Por otro lado, todos los animales de los recintos El Botado y Santa Isabel se seleccionaron como el grupo Ivermectina + Mebendazol (grupo I+M). En el muestreo basal se desparasitó a los équidos con ROSSO D de Farbiopharma S. A. a base de Ivermectina (2mg/kg) y Mebendazol (7,5mg/kg) por vía oral, dosis única. El grupo I+M en el muestreo basal tuvo presencia de 144 équidos (n=144) y en el muestreo post tratamiento 78 équidos (n=78). La disminución en el número de animales de estudio se debe a que muchos de los animales no retornaron para el muestreo post tratamiento.

Obtención de muestras

Para la obtención de muestras fecales se utilizaron dos métodos: en caso de existir una deposición reciente del animal, con el uso de guantes se tomó la muestra del centro de las heces (en muchos casos un crotín), y en caso de no existir heces frescas, se obtuvieron las muestras mediante palpación rectal utilizando guantes ginecológicos y vaselina. Las muestras fueron correctamente identificadas y mantenidas en refrigeración a 4°C hasta su procesamiento en Quito antes de las 24 horas de recolectadas.

Procesamiento de muestras

Se procesaron las muestras utilizando la técnica McMaster modificada descrita por Zajac (2009).

En el análisis microscópico se utilizó el microscopio LW Scientific Revelation III, el objetivo 10X y se contaron los huevos localizados dentro de los recuadros formados por la grilla, no los que se encontraban sobre los filos ni fuera de ellos. Se sumaron los huevos

contados en cada grilla de la cámara y el cálculo de los huevos por gramo de heces (hpg) se realizó con la siguiente fórmula:

$$hpg = \frac{\left(\frac{\text{total de huevos contados} \times \text{volumen total}}{\text{volumen contado}} \right)}{\text{gramos de heces}}$$

Volumen total: toma en cuenta los gramos de heces y la solución de flotación, dando un total de 30mL (4g de heces y 26mL de solución de flotación)

Volumen contado: volumen dentro de la cámara McMaster, cada grilla representa 0,15mL, por lo que ambas dan un total de 0,3mL

Fuente: Zajac, 2009.

Contaminadores

Se clasificaron a los équidos como contaminadores en base al valor de huevos por gramo (hpg) de heces, en donde se consideró bajos contaminadores aquellos équidos que presentaron entre 0 - 200hpg, moderados contaminadores entre 200 - 500hpg y altos contaminadores por sobre > 500hpg (AAEP Parasite Control Subcommittee, 2013).

Criterios de resistencia

Para tener conocimiento de si los ciatostomas son resistentes a un fármaco, se calcula el porcentaje de reducción de ovoposición (PRO). El PRO se obtiene mediante la diferencia entre el número de huevos por gramos de heces previo a la desparasitación y los detectados 14 días posterior a esta administración y utilizando la fórmula citada por Lepoutre (2015):

$$PRO = \frac{hpg1 - hpg2}{hpg1} \times 100$$

Hpg1: conteo basal de huevos en heces

Hpg2: conteo post tratamiento de huevos en heces

Los criterios de resistencia fueron establecidos en base al corte de 95% de PRO y límite de confianza de 90% (Coles, 1992; Lepoutre, 2015).

Para el cálculo del coeficiente de variación de la técnica, se efectuó un triplicado de una muestra fecal y los resultados de los conteos de esta muestra se registraron para el cálculo, que en este caso fue del 10%.

Análisis estadístico

La distribución de los datos obtenidos de los conteos fecales se determinó como no paramétrica una vez realizada la prueba Saphiro Wilk, Adicionalmente, se realizó un Bootstrapping para obtener los intervalos de confianza y se compararon los valores de los tiempos (basal y post tratamiento) utilizando la prueba de suma de rangos de Wilcoxon o prueba U de Mann-Whitney, considerando significativos a valores de $p < 0.05$.

Todos los datos obtenidos fueron no paramétricos y todas las muestras heterocedásticas, es por eso que se realizó una comparación con la prueba de Wilcoxon o prueba U de Mann-Whitney para llevar los datos a una distribución normal, razón por la cual se utilizó la mediana y la desviación intercuartílica para describirlos propiamente, considerando significativos a valores de $p < 0.05$. Adicionalmente, se realizó un Bootstrapping para obtener los intervalos de confianza.

RESULTADOS

Los équidos clasificados como tipos de contaminadores en el muestreo basal se observan en la Figura 1, en donde la mayoría de los équidos fueron altos contaminadores (38,9%; n=79), seguidos de los bajos contaminadores (35,5%; n=72) y, finalmente los moderados contaminadores (25,6%; n=52).

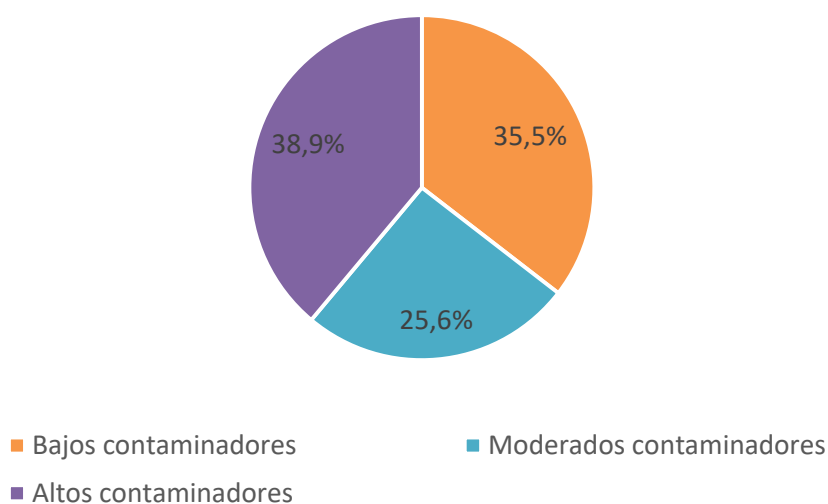


Figura 1: Clasificación de équidos de acuerdo a la oviposición obtenida en el muestreo basal (n=187).

Al comparar la oviposición durante el muestreo basal del grupo I+M (375 ± 306) y del grupo control (375 ± 388), se determinó que ambos grupos presentaron oviposiciones similares ($p > 0,05$).

En el grupo control, la oviposición durante el muestreo post tratamiento fue de 325 ± 572 , que, al ser comparado con el muestreo basal, no se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$). Adicionalmente, el PRO obtenido para el grupo control fue de un 13% y con un intervalo de confianza por debajo del 95% (Tabla 1). En cambio, en el grupo I+M, posterior a la administración de Ivermectina + Mebendazol, se observó una disminución

significativa en la oviposición (0 ± 0) en el muestreo post tratamiento al compararlo con su muestreo basal ($p < 0,05$). Adicionalmente, el PRO del grupo I+M fue de un 100% y con un intervalo de confianza por sobre el 95% (Tabla 1).

Tabla 1. Mediana y desviación intercuartílica, PRO e intervalos de confianza durante los muestreos basal y post tratamiento en los grupos control e I+M.

Grupos	Muestreo	Muestreo Post		Intervalos de confianza (95%)
	Basal (hpg)	tratamiento (hpg)	PRO (%)	
Control	375 ±388 (n=43)	325±572 (n=42)	13	-128,00 - 47,06
Ivermectina + Mebendazol	375±306 (n=144)	0±0 (n=78)	100	100-100

hpg: huevos por gramo de heces

PRO: Porcentaje de reducción de oviposición

DISCUSIÓN

El objetivo de este trabajo fue determinar si existía resistencia en los ciatostomas de los équidos de Quinindé, Ecuador. Sin embargo, como se observó en los resultados, la combinación de Ivermectina + Mebendazol tuvo una efectividad de 100%. A pesar de que en algunos países se ha descrito resistencia antiparasitaria a varios principios activos utilizados comúnmente (Molento, 2014; Traversa, 2009; Bjørn, 1991; Miangi, 1996; Nilson, 1989; Ihler, 1995) y en Ecuador, Lepoutre (2015) describió resistencia antihelmíntica en la zona templada de Machachi, esto no concuerda con los resultados obtenidos en el estudio, donde no se encontró resistencia antihelmíntica, sino una efectividad de 100% del antiparasitario. Esto concuerda con los estudios realizados por Slocombe, Coté y de Gannes (2008), Cernea, Cernea, Ognean, Nastasa, Raileanu, Mares y Carvalho. (2010), Lanusse, Lifschitz y Álvarez (2015) y Köhler y Hiepe (1986) quienes utilizaron combinaciones de Ivermectina + Mebendazol para desparasitar équidos con una muy alta efectividad.

Como se mencionó anteriormente, los équidos del estudio eran équidos de trabajo agrícola de plantaciones de palma africana en Quinindé, donde el clima es tropical. En zonas tropicales, suele utilizarse con frecuencia, principalmente en ganado vacuno, Ivermectina como endectocida, puesto que actúa contra nemátodos (endoparásitos) e insectos y ácaros (ectoparásitos) (Alegría-López, Rodríguez-Vivas, Torres-Acosta, Ojeda-Chi y Rosado-Aguilar, 2015). Basado en el conocimiento sobre estas prácticas, se presumía que lo mismo podría ocurrir en los équidos que viven en las mismas condiciones tropicales puesto que en équidos de Quinindé se ha diagnosticado Piroplasmosis Equina, enfermedad que es transmitida por garrapatas (Vega, 2018). Sin embargo, la efectividad tan alta de la

combinación Ivermectina + Mebendazol indica que probablemente estas prácticas de desparasitar por garrapatas no se lleven a cabo en ellos.

Los resultados de clasificación de los équidos en categorías de contaminadores de la pradera, estableció que la mayoría de los équidos fueron altos contaminadores (38.9%), seguido por los moderados contaminadores (35.5%) y en menor proporción por los bajos contaminadores (25.6%) (Grafico 1), estos resultados difieren con los valores detallados en la guía de la AAEP Parasite Control Subcommittee (2013), quienes describen que la distribución de diseminación de huevos de tipo estróngilos en equinos, debería corresponder en su mayoría a équidos considerados bajos contaminadores (50-70%), diseminando cada uno de ellos ≤ 200 hpg, seguido por los équidos considerados altos contaminadores (20-30%), diseminando ≥ 500 hpg cada uno y por último la población estará constituida por équidos considerados moderados contaminadores (10-20%), diseminando entre 200 y 500 hpg cada uno. Esta diferencia de la proporción de individuos en cada una de las categorías, condiciona que los équidos de Quinindé contaminen 1,4 veces más la pradera, en comparación a una población que está compuesta en su mayoría por bajos contaminadores. En la guía de la AAEP (2013) se establece que, aunque los équidos altos contaminadores componen únicamente el 20-30% de la población, estos son los que más contaminan la pradera (diseminan el 80% de los huevos aproximadamente). Sin embargo, en el caso de los altos contaminadores del estudio, se observa que los altos contaminadores proporcionalmente son más, por lo tanto, también numéricamente. Es decir, que la proporción de contaminación de pradera de los équidos del estudio con respecto a los équidos de la guía de la AAEP (2013) es de 1,4:1. Para obtener esta relación y que los datos del estudio y los datos de AAEP sean comparables, se realizó el cálculo de ambos basado en la población del estudio ($n = 187$). Primero, se obtuvo un hpg promedio de cada categoría

(altos contaminadores, moderados contaminadores y bajos contaminadores). A ese hpg promedio se lo multiplicó por el número de individuos pertenecientes a esa categoría para obtener la cantidad de hpg por cada una, y con esto tener conocimiento de cuánto está contaminando cada categoría. Luego, se realizó la sumatoria de estos valores y se obtuvo un total de contaminación por población (de la AAEP y del estudio) para finalmente establecer la relación entre ambas poblaciones, siendo que la población del estudio contamina cerca de 1,4 veces más que lo que contaminaría una población habitual como la que considera la AAEP.

El manejo, las condiciones de vida y el estado de salud de los équidos son factores que influyen en la carga parasitaria que presenten y la cantidad de huevos que diseminan. Équidos de trabajo con un pobre estado sanitario donde no reciben atención veterinaria regularmente ni son desparasitados y en muchos de los casos su salud se encuentra comprometida mientras continúan trabajando, debido al desconocimiento o limitación de recursos de sus dueños (Ali, El Sayed, Matoock, Fouad, & Heleski, 2015) contaminan más la pradera que un équido sano que recibe atención veterinaria regularmente. Esto concuerda con el estudio realizado por Burden, Du Toit, Hernández-Gil, Prado-Ortiz y Trawford (2010), donde se reportaron valores mayores a 1000hpg en los muestreos fecales de burros de trabajo, los cuales se encontraban con una condición corporal media de 2,5/5, 61% de los burros presentaba problemas dentales, 12% lesiones cutáneas, 3% problemas oculares, 3% pérdida de peso e inapetencia y 2% laminitis severa (Burden et al., 2010).

En los équidos de trabajo en otros países, se han descrito condiciones de “abuso, desnutrición y descuido en general” (Burden et al., 2010). Por las condiciones de vida y jornadas de trabajo se puede explicar que probablemente el valor de hpg en los conteos fecales basales haya superado los rangos establecidos por la AAEP (2013), puesto que los

équidos se encontraban en pastoreo extensivo donde probablemente no recibían atención frecuente y eran manejados únicamente para el trabajo en las plantaciones de palma africana. Asimismo, en el muestreo post tratamiento existió una oviposición de 0hpg, es decir que existió una inhibición de la oviposición a los 14 días de aplicado el antiparasitario y el PRO calculado fue de 100%, indicando una efectividad muy alta, probablemente debido al escaso manejo y atención que recibían.

Existen dos protocolos principales para desparasitar équidos: desparasitación por intervalos y desparasitación selectiva. La desparasitación por intervalos es ineficiente y puede generar rápidamente resistencia, como ya se ha descrito su amplia existencia y la problemática que ha generado en otros países (Matthews, 2014), sin olvidar que no existen nuevos principios activos en el mercado (Lepoutre, 2015; Rawlinson, 2018). Por otro lado, para realizar la desparasitación selectiva, la literatura recomienda realizar exámenes fecales como una herramienta de vigilancia para diseminación de huevos de parásitos en équidos y determinación de resistencia a un antiparasitario mediante PRO (%), donde todos los caballos son muestreados, pero solo moderados y altos contaminadores son tratados (Nielsen, Branam, Wiedenheft, Digianantonio, Scare, Bellaw y Traub-Dargatz, 2018). Sin embargo, en condiciones de predios similares a los muestreados, donde los équidos son utilizados únicamente para trabajo, son poco manejados fuera de él y viven en un sistema de pastoreo extensivo, esta recomendación no podría llevarse a cabo. Aun cuando la desparasitación selectiva parecería ser la mejor opción, existe una gran dificultad logística para el muestreo individual de cada équido, sumado al gran costo económico que esto representaría para los propietarios (Ali et al., 2015). Es por esto que realizar una desparasitación estratégica sería lo ideal para las condiciones de los predios de estudio en Quinindé y predios similares. La desparasitación estratégica posee dos componentes: el

conocimiento del efecto de los factores ambientales sobre los parásitos para poder desparasitar en el momento más óptimo y los beneficios de la combinación de principios activos.

El caso en los équidos del estudio, donde existió una gran proporción de altos contaminadores, coincide con los resultados obtenidos en el estudio realizado por Burden et al. (2010) quienes determinaron hpg en burros de trabajo de Puebla (región templada) y de Veracruz (región tropical), donde existió una prevalencia de 80% de infestados por estróngilos y los animales de la región tropical diseminaron 10 veces más hpg que los animales de la región templada con una media de hpg sobre los 500hpg. Es decir, que las condiciones climáticas tienen un papel importante en la diseminación de huevos. La temperatura y la humedad son los factores más importantes para el desarrollo y la supervivencia de los estróngilos (Mfitlodze y Hutchinson, 1987).

Conocer sobre la influencia del clima sirve para tratar con antiparasitarios cuando exista una población parasitaria alta y obtener un mayor beneficio. Esto concuerda con lo escrito por Nielsen (2007), donde recomienda evitar o reducir el tratamiento cuando exista una refugia¹ parasitaria pequeña. El tratamiento antiparasitario debe restringirse a la época de desarrollo larvario, es decir en época de temperaturas más bajas y mayor humedad, como sugieren Courtney (1999) y Nielsen (2007). Baudena, Chapman, French y Klei (2000), realizaron un estudio en South Louisiana y describen la influencia del verano con temperaturas entre 18°C y 40°C y del invierno con temperaturas bajo los 0°C y una humedad relativa alta, factores que afectan negativamente a larvas infectivas (L3) pero se consideran necesarios para el desarrollo de larvas pre-infectivas (L1 y L2). Asimismo, Courtney (1999) describe que en clima seco y caliente existe mayor supervivencia de huevos

¹ Refugia: situación donde parte de la población parasitaria no ha sido expuesta a tratamiento antihelmíntico, por ende, escapando la selección para resistencia [Van Wyk (2001) citado por Pech, Doole y Pluske (2009)]

y menor supervivencia de larvas infectivas (L3). Nielsen (2007) establece que la temperatura ambiental entre los 25 a 33 grados centígrados propicia el desarrollo de los estados larvarios L1 y L2, pero desfavorece la supervivencia de L3 que es la larva infectiva. Baudena et al. (2000) describen que altas temperaturas decrecen los números de L3. Por otro lado, Quinelato, Couto, Ribeiro, Santos, De Souza, Dos Anjos y Rodrigues (2008) realizaron un estudio de larvas infectivas de ciatostomas en clima tropical en Brasil, y establecieron que por tener un clima tropical existe presencia de L3 todo el año, sin embargo en la época seca existió la presencia más alta de L3, lo cual correspondería a los meses de julio y agosto de 2017 en Quinindé, donde existió 0mm de lluvia (Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología, 2017). Todas estas estipulaciones comparadas con los resultados obtenidos durante el estudio, llevan a otra de las posibles explicaciones, la baja posibilidad de supervivencia de las larvas infectivas (L3) en las condiciones presentadas durante el estudio en Quinindé (altas temperaturas y alta humedad relativa) podría también ser una causa de la oviposición tan alta en los équidos del estudio como un mecanismo para mantener la población lo suficientemente grande, permitiendo así el cierre del ciclo de vida de los ciatostomas frente a condiciones no favorables para larvas L3, en concordancia con lo que estipulan Thomas, Brown, Sukhdeo y Renaud (2002), quienes establecen que los parásitos poseen dos dimensiones: el hospedador y el hábitat, y que tienen la capacidad de reconocer cambios fisiológicos y bioquímicos en estos y responder con una nueva adaptación, como un incremento facultativo de la tasa de replicación.

Así como el conocimiento de las condiciones climáticas es un factor importante para poder realizar una desparasitación estratégica, la práctica de combinar principios activos de antiparasitarios para combatir un mismo parásito es una estrategia sustentable de control. Esto se debe al efecto aditivo y la sinergia que se crea entre los productos combinados, lo

que preserva la efectividad y demora el desarrollo de resistencia, ya que puede incrementar la posibilidad de eliminar a los parásitos que contengan genes de resistencia a uno u otro de los principios activos utilizados, siendo más efectiva cuando no existen genes de resistencia a ninguno de los principios activos, al mismo tiempo que disminuye la presión selectiva hacia un solo principio activo (Scare, Lyons, Wielgus, & Nielsen, 2018). De igual manera, se recomienda realizar una combinación de prácticas sumadas a la desparasitación estratégica aquí descrita para minimizar la presencia de ciatostomas y disminuir la presión selectiva sobre estos por el uso indebido de antiparasitarios. Siendo los estróngilos parásitos únicamente encontrados en équidos, con un ciclo directo, se recomienda realizar un pastoreo de especies mixtas, para minimizar la carga de estróngilos en la pastura, ya que en el pastoreo de especies mixtas se busca disminuir el contacto entre el hospedador y el parásito (Mfitlodze y Hutchinson 1987, Castells 2004). En la provincia de Esmeraldas existen 285,941 cabezas de ganado vacuno y 34,213 équidos (INEC, 2016), por lo que sí sería factible realizar pastoreos mixtos entre estas especies.

Por las razones mencionadas anteriormente y la desparasitación estratégica descrita, lo más recomendable para predios similares a los del estudio en Quinindé es desparasitar con la combinación de Ivermectina + Mebendazol en los meses de julio y agosto, ya que en esa época se describen las temperaturas más bajas del año, una humedad relativa sobre el 90% y lluvia de 0mm (Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología, 2017), condiciones óptimas para el desarrollo y supervivencia de larvas infectivas (L3), momento en que la carga parasitaria de L3 de estróngilos sería más alta en pradera; y al conocer que Ivermectina y Mebendazol tienen propiedades larvicidas, se recomienda realizar la desparasitación a todo el predio en estas épocas para maximizar la protección antiparasitaria.

En base a los resultados previamente discutidos se puede concluir lo siguiente:

No existe resistencia antihelmíntica de los ciatostomas a la combinación Ivermectina + Mebendazol. Además, esta combinación tiene una efectividad de 100% contra ciatostomas en los équidos del cantón Quinindé, provincia de Esmeraldas, Ecuador.

La desparasitación de los équidos debe realizarse una vez al año en los meses de julio o agosto en conjunto con pastoreo mixto, para disminuir la carga parasitaria en los équidos de trabajo, contaminación de la pradera y disminuir el riesgo de reinfestación en la población de équidos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AAEP Parasite Control Subcommittee. (2013). AAEP Parasite Control Guidelines. AAEP, 1-24.

Alegría-López, M., Rodríguez-Vivas, R., Torres-Acosta, J., Ojeda-Chi, M., & Rosado-Aguilar, J.

(2015). Use of Ivermectin as Endoparasiticide in Tropical Cattle Herds Generates Resistance in Gastrointestinal Nematodes and the Tick *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, 214-221.

Ali, A., El Sayed, M., Matoock, M., Fouad, M., & Heleski, C. (2015). A welfare assessment

scoring system for working equids—A method for identifying at risk populations and for monitoring progress of welfare enhancement strategies (trialed in Egypt).

Applied Animal Behaviour Science, 52-62.

Andrioli, J., & De Paula, C. (2016). Overview of antihelmintic resistance of gastrointestinal

nematodes of small ruminants in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, 3-17.

Baudena, M., Chapman, M., French, D., & Klei, T. (2000). Seasonal development and survival

of equine cyathostome larvae on pasture in south Louisiana. *Veterinary Parasitology*, 51-60.

Bemrick, W. (1978). Tolerance of Equine Strongylid Larvae to Desiccation and Freezing.

Cryobiology, 214-218.

- Bjørn, H., Monrad, J., & Nansen, P. (1991). Anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Denmark with special emphasis on levamisole resistance in *Ostertagia circumcincta*. *Acta vet Scand*, 145-154.
- Bjørn, H., Sommer, C., Schougård, H., Henriksen, S., & Nansen, P. (1991). Resistance to benzimidazole anthelmintics in small strongyles (*Cyathostominae*) of horses in Denmark. *Acta vet Scand*, 253-260.
- Burden, F., Du Toit, N., Hernández-Gil, M., Prado-Ortiz, O., & Trawford, A. (2010). Selected health and management issues facing working donkeys presented for veterinary treatment in rural Mexico: some possible risk factors and potential intervention strategies. *Trop Anim Health Prod*, 597-605.
- Canadian Council on Animal Care. (2017). *Guide to the Care and Use of Experimental Animals*. Ottawa: Canadian Council on Animal Care.
- Canever, R., Braga, P., Boeckh, A., Grycajuck, M., Bier, D., & Molento, M. (2013). Lack of *Cyathostomin* sp. reduction after anthelmintic treatment in horses in Brazil. *Veterinary Parasitology*, 35-39.
- Castells, D. (2004). Métodos integrados de control de parásitos gastrointestinales: Manejo del pastoreo. En I. Uruguay, Seminario de Actualización: Parásitos gastrointestinales en ovinos y bovinos (págs. 2-6). Tucumán: INIA Uruguay.
- Cernea, L., Cernea, M., Ognean, L., Nastasa, V., Raileanu, S., Mares, M., . . . Carvalho, L. (2010). The efficacy of macrocyclic lactones and benzimidazoles combination in equine strongylidosis. *Symposium Progress and Perspectives in Veterinary Medicine*, 40-44.

- Committee for Medicinal Products for Veterinary Use. (2013). Reflection paper on anthelmintic resistance. European Medicines Agency, 1-19.
- Courtney, C. (1999). Seasonal transmission of equine cyathostomes in warm climates. *Veterinary Parasitology*, 173-180.
- Duval, J. (enero de 1994). THE CONTROL OF INTERNAL PARASITES IN RUMINANTS. Obtenido de Ecological Agricultural Projects: <https://eap.mcgill.ca/agrobio/ab370-04e.htm#PREVENTIVE%20MEASURES>
- Elsener, J., & Villeneuve, A. (2009). Comparative long-term efficacy of ivermectin and moxidectin over winter in Canadian horses treated at removal from pastures for winter housing. *The Canadian Veterinary Journal*, 486-490.
- Giles, C., Urquhart, K., & Longstaffe, J. (1985). Larval cyathostomiasis (immature trichonemainduced enteropathy) : A report of 15 clinical cases. *Equine Veterinary Journal*, 196-201.
- Grisi, L., Cerqueira, R., De Souza, J., Medeiros, A., Andreotti, R., Duarte, P., . . . Silva, H. (2014). Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil . *Veterinary Parasitology*, 150-156.
- Ihler, C. (1995). A field survey on anthelmintic resistance in equine small strongyles in Norway. *Acta vet Scand*, 135-143.
- INEC. (2016). Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua. Instituto Nacional de Estadística y Censos.

Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología. (2017). Datos de Julio 2017 Quinindé.

Quito: Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología.

Kaplan, R. (2004). Drug Resistance in nematodos of veterinary importante: a status report.

Trends in Parasitology, 20(10), 477-481.

Kaplan, R. (2013). Prescription-Only Anthelmintic Drugs: The Time Is Now. *BioScience*,

63(11), 852-853.

Köhler, M., & Hiepe, T. (1986). Effectiveness of ivermectin in *Strongyloides westeri* cases in

foals. *Angewandte Parasitologie*, 181-186.

Lanusse, C., Lifschitz, A., & Alvarez, L. (2015). Basic and clinical pharmacology contribution to

extend anthelmintic molecules lifespan. *Veterinary Parasitology*, 35-46.

Lepoutre, A. (2015). Determinación de resistencia de ciatostomas equinos afebendazol o

ivermectina en caballos en pastoreo de Machachi, Ecuador. Quito: Universidad San

Francisco de Quito.

Lyons, E., Drudge, J., & Tolliver, S. (2000). LARVAL CYATHOSTOMIASIS. *Emerging Infectious*

Diseases, 501-513.

Márquez Lara, D., & Suárez Londoño, A. (2008). El uso de taninos condensados como

alternativa nutricional y sanitaria en rumiantes. *Revista de Medicina Veterinaria*, 87-

109.

Martins, J. (2001). Avermectin resistance of the cattle tick *Boophilus microplus* in Brazil. *The*

Veterinary Record, 149(2), 64.

- Matthews, J. (2014). Anthelmintic resistance in equine nematodes. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 310-315.
- Mfitilodze, M., & Hutchinson, G. (1987). Development and survival of free-living stages of equine strongyles under laboratory conditions. *Veterinary Parasitology*, 121-133.
- Mfitilodze, M., & Hutchinson, G. (1988). Development of Free-living Stages of Equine Strongyles in Faeces on Pasture in a Tropical Environment. *Veterinary Parasitology*, 285-296.
- Miangi, N., Bjørn, H., Thamsborg, S., Bøgh, H., & Nansen, P. (1996). A survey of anthelmintic resistance in nematode parasites of goats in Denmark. *Vet Parasitol.*, 53-56.
- Miller, C., Waghorn, T., Leathwick, D., Candy, P., Oliver, A., & Watson, T. (2012). The production cost of anthelmintic resistance in lambs. *Veterinary Parasitology*, 376-381.
- Molento, M., Antunes, J., Bentes, R., & Coles, G. (2014). Anthelmintic resistant nematodes in Brazilian horses. *The Veterinary Record*, 384-385.
- Nielsen, M. (2009). Restrictions of anthelmintic usage: perspectives and potential consequences. *Parasites & Vectors*.
- Nielsen, M., & Reinemeyer, C. (2018). *Handbook of Equine Parasite Control*. Hoboken: Wiley Blackwell.
- Nielsen, M., Branan, M., Wiedenheft, A., Digianantonio, R., Scare, J., Bellaw, J., . . . Traub-Dargatz, J. (2018). Risk factors associated with strongylid egg count prevalence and abundance in the United States equine population. *Veterinary Parasitology*, 58-68.

- Nielsen, M., Kaplan, R., Thamsborg, S., Monrad, J., & Olsen, S. (2007). Climatic influences on development and survival of free-living stages of equine strongyles: Implications for worm control strategies and managing anthelmintic resistance. *The Veterinary Journal*, 23-32.
- Nilsson, O., Lindholm, A., & Christensson, D. (1989). A field evaluation of anthelmintics in horses in Sweden. *Vet Parasitol*, 163-171.
- Pech, C., Doole, G., & Pluske, J. (2009). The value of refugia in managing anthelmintic resistance: a modelling approach. *Australian Agricultural & Resource Economics Society's Annual*, 1-31.
- Quinelato, S., Couto, M., Ribeiro, B., Santos, C., De Souza, L., Dos Anjos, D., . . . Rodrigues, L. (2008). The ecology of horse cyathostomin infective larvae (Nematoda-Cyathostominae) in tropical southeast Brazil. *Veterinary Parasitology*, 100-107.
- Rawlinson, K. (2018). Equine Anthelmintic Resistance. Honors Theses, University of Nebraska-Lincoln, 17.
- Rodríguez, J., Arece, J., Olivares, J., Alemán, Y., & Sánchez, Y. (2015). Antihelmínticos, resistencia y método FAMACHA. Experiencia cubana en ovinos. *Revista de Salud Animal*, 37(1), 57-63. Recuperado el 25 de octubre de 2018
- Rodríguez-Vivas, R., Arieta-Román, R., Pérez-Cogollo, L., Rosado-Aguilar, J., Ramírez-Cruz, G., & Basto-Estrella, G. (2010). Uso de lactonas macrocíclicas para el control de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en el ganado bovino. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 115-123.

- Sangster, N. (1999). Pharmacology of anthelmintic resistance in cyathostomes: will it occur with the avermectin/milbemycins? *Veterinary Parasitology*, 189-204.
- Scare, J., Lyons, E., Wielgus, K., & Nielsen, M. (2018). Combination deworming for the control of double-resistant cyathostomin parasites – short and long term consequences. *Veterinary Parasitology*, 112-118.
- Slocombe, J., Coté, J., & de Gannes, R. (2008). The persistence of benzimidazole-resistant cyathostomes on horse farms in Ontario over 10 years and the effectiveness of ivermectin and moxidectin against these resistant strains. *The Canadian Veterinary Journal*, 56-60.
- Stratford, C. (2014). Anthelmintic resistance: what do we tell our clients? *BEVA Congress*, 262-263.
- Sumano, H., & Ocampo, L. (2006). *Farmacología Veterinaria*. Madrid: MCGRAW-HILL.
- Thomas, F., Brown, S., Sukhdeo, M., & Renaud, F. (2002). Understanding parasite strategies: a state-dependent approach. *Trends in Parasitology*, 387-390.
- Traversa, D., Von Samson-Himmelstjerna, G., Demeler, J., Milillo, P., Schurmann, S., Barnes, H., . . . Cobb, R. (2009). Anthelmintic Resistance in Horse Cyathostomins in Italy, United Kingdom and Germany. *Proceedings des 37èmes Journées Annuelles de l'Association Vétérinaire Equine Française*, 200-202.
- Vega, P. (2018). *Seroprevalencia de Piroplasmosis Equina en equinos de trabajo del cantón Quinindé en Esmeraldas, Ecuador*. Quito: Universidad San Francisco de Quito.

Vidyashankar, A., Hanlon, B., & Kaplan, R. (2012). Statistical and biological considerations in evaluating drug efficacy in equine strongyle parasites using fecal egg count data. *Veterinary Parasitology*, 45-56.

Weischer, B., & Brown, D. (2000). *An Introduction to Nematodes: General Nematology : a Student's Textbook*. Moscú: Pensoft.

Zajac, A. (2009). Integrated Control of Equine Cyathostomes. En N. Robinson, & K. Sprayberry, *Current Therapy in Equine Medicine*. St. Louis: Elsevier.

Zajac, A., & Conboy, G. (2012). *Veterinary Clinical Parasitology*. Iowa: Wiley-Blackwell.