

Recibido 28 de abril de 2016 // Aceptado 30 de octubre de 2016 // Publicado online 29 de marzo de 2017

Resistencia a los antihelmínticos en nematodos intestinales que parasitan a los equinos en la Argentina

ANZIANI O.¹, ARDUSSO G.²

RESUMEN

En la Argentina la prevalencia de la resistencia antihelmíntica (RA) es particularmente alta en nematodos de los rumiantes, pero también parece estar incrementándose rápidamente en los equinos. Los nematodos intestinales de mayor prevalencia e importancia sanitaria son los pequeños estróngilos en adultos y *Parascaris spp* en potrillos, y en ambos, se han desarrollado fenómenos de RA. El test *in vivo* conocido como test de reducción en el conteo de huevos es actualmente el más utilizado en todo el mundo para determinar el estatus de susceptibilidad o resistencia de las poblaciones de nematodos bajo condiciones de campo. De acuerdo a este test, la resistencia de los pequeños estróngilos a los bencimidazoles está extremadamente generalizada en el país mientras que la ivermectina mantiene una eficacia alta en equinos jóvenes y adultos parasitados por estos nematodos. Por el contrario, existen fallas de la ivermectina para controlar *Parascaris spp* en potrillos. La información en la Argentina es fragmentaria, pero ni las lactonas ni los bencimidazoles por sí solos están logrando un adecuado control de ambos parásitos simultáneamente. Debido a la relativa baja patogenicidad de los pequeños estróngilos (a excepción del síndrome de ciatostomiasis larval) la importancia clínica de la RA en estos nematodos no está bien determinada, pero existe preocupación sobre las fallas para controlar *Parascaris spp* ya que representa una seria amenaza para la salud de los potrillos menores al año de edad. El desarrollo de la RA implica que bajo condiciones de campo, las posibilidades de reversión a susceptibilidad son muy escasas. Hasta el momento, solo dos grupos químicos son de uso masivo en la Argentina (bencimidazoles y lactonas macrocíclicas) y los veterinarios involucrados con la especie equina deberían evaluar el estatus de susceptibilidad o resistencia en cada establecimiento antes de establecer un programa de control parasitario. En este contexto, son indispensables los análisis coparazitológicos para garantizar la necesidad, así como la efectividad del tratamiento. Sin embargo, esta metodología está siendo muy pobremente adoptada y generalmente los antihelmínticos se administran sin considerar ninguna de las dos premisas. La RA en los equinos requiere de la documentación y sistematización de la información, abandonando las evidencias anecdóticas y circunstanciales como premisa inicial a una medicina veterinaria basada en evidencias para responder al uso racional y sustentable de los antihelmínticos.

Palabras clave: resistencia, antihelmínticos, equinos, Argentina.

ABSTRACT

In Argentina the prevalence of anthelmintic resistance (AR) is particularly high in nematodes of ruminants but also appears to be increasing rapidly in horses. Intestinal nematodes of higher prevalence and health importance in the horse are small strongyles (Cyathostomes) in adults and Parascaris spp in foals, and both

¹EEA INTA Rafaela-Facultad de Ciencias Agropecuarias Universidad Católica de Córdoba. Correo electrónico: anziani.oscar@inta.gob.ar

²Facultad Ciencias Veterinarias-Universidad Nacional de Rosario.

parasite groups have developed AR. Under field conditions, the *in vivo* test, known as reduction in egg counts is currently the most used worldwide to determine the status of susceptibility or resistance of populations of nematodes. According to this test, the resistance of small strongyles to benzimidazoles is extremely widespread in the country while ivermectin maintains high efficiency in young and adult horses parasitized by these nematodes. On the contrary, there are evidences of failures of ivermectin to control *Parascaris* spp in foals. The information in Argentina is fragmentary, but either lactones or benzimidazoles by themselves are achieving adequate control of both parasites simultaneously. Due to the relative low pathogenicity of most cyathostomin infections the AR impact should be considered when this issue is discussed. In contrast, there is concern over the failure to control *Parascaris* spp as it represents a severe threat to the health of colts. The development of AR implies that under field conditions, the chances of reversion to susceptibility are very slim. So far, only two chemical groups are in widespread use in Argentina (benzimidazoles and macrocyclic lactones) and veterinarians involved with the equine species should assess the status of susceptibility or resistance in each establishment before establishing a parasite control program. In this context coproparasitological analysis are indispensable to ensure the need and effectiveness of treatment. However, this methodology is being poorly adopted and anthelmintics are generally administered without considering any of the two premises. The AR in horses requires documentation and systematization of information, leaving the anecdotal and circumstantial evidence as initial veterinary evidence-based medicine to respond to rational and sustainable use of anthelmintics drugs.

Keywords: horses, anthelmintic resistance, Argentina.

INTRODUCCIÓN

Los nematodos gastrointestinales constituyen serias limitantes a la productividad y al bienestar animal de todos los herbívoros domésticos y el control de estos parásitos actualmente depende casi exclusivamente en la administración de drogas antihelmínticas. Sin embargo, el desarrollo de nematodos resistentes a estas drogas se está transformando en un problema sanitario de importancia al comprometer la salud de los herbívoros y dificultar la reducción de los costos inherentes al parasitismo. En la Argentina la prevalencia de la resistencia antihelmíntica (RA) es particularmente alta en nematodos de los rumiantes, pero también parece estar incrementándose seriamente en los equinos (Anziani, 2013). La RA se define básicamente como la disminución de eficacia de un antihelmíntico frente a poblaciones parasitarias, que normalmente y a una dosis determinada son susceptibles a este (Sangster y Gill, 1999). Esto puede ser consecuencia de una modificación genética o de un incremento en la frecuencia de expresión de un carácter hereditario, pero en ambos casos, los nematodos que sobreviven al tratamiento van a transmitir estos alelos resistentes a su progenie.

En los equinos de nuestro país y al igual que en la mayor parte del mundo, los antihelmínticos se administran masiva y frecuentemente a todos los animales que constituyen la población del establecimiento y a intervalos relativamente fijos. Este tradicional método de control ejerce una severa presión de selección sobre los parásitos, lo cual ha resultado en el desarrollo de altos niveles de RA en algunos grupos de nematodos equinos (Peregrine *et al*, 2014). Los objetivos de la presente revisión son 1) actualizar el conoci-

miento sobre la prevalencia de este fenómeno en los equinos de nuestro país y 2) revisar y discutir estrategias para el manejo de la RA o para demorar su desarrollo y priorizar alternativas de control que limiten el uso de antihelmínticos en los equinos sin afectar la salud de esta especie.

CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE LOS NEMATODOS INTESTINALES QUE PARASITAN A LOS EQUINOS

El intestino de los equinos hospeda a varios nematodos específicos de estos herbívoros, pero los de mayor importancia por su impacto clínico y patológico son *Parascaris* spp. (estados adultos en intestino delgado) y los grandes y pequeños estróngilos (estados adultos en intestino grueso). En el contexto de esta publicación se hará referencia exclusiva a estos tres grupos de nematodos intestinales.

El género *Parascaris* presenta dos especies *P. equorum* y *P. univalens* y contrariamente a la presunción general, la segunda es mucho más común y de mayor distribución mundial que la primera (Nielsen, 2014 a). Ambas especies son morfológicamente idénticas (difieren solo en el número de cromosomas) y la importancia clínica de estos hallazgos taxonómicos son considerados actualmente nulos, pero la nomenclatura más apropiada, en ausencia del diagnóstico de especie, es *Parascaris* spp. (Nielsen, 2016 a). Este nematode es el parásito de mayor patogenicidad para potrillos y equinos jóvenes y su ciclo de vida se inicia con la ingestión de los huevos cuyas larvas resultantes migran a través del hígado, pulmón y vías aéreas para luego retornar al intestino delgado donde ma-

durán y se reproducen (Clayton, 1986). Los huevos son eliminados en la materia fecal (figura 1) y permanecen viables en el ambiente por períodos muy prolongados (incluso años) lo cual contribuye a la prevalencia alta de este parásito en los equinos jóvenes de todo el mundo.

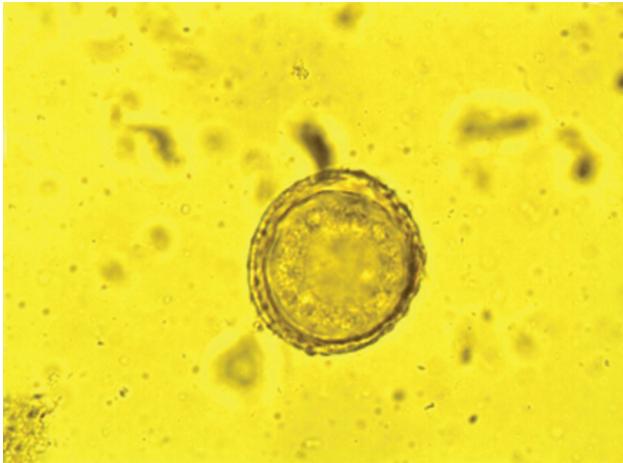


Figura 1. Huevo de *Parascaris* spp en la materia fecal de un potrillo de 8 meses de edad).

Las migraciones larvales ocasionan daño hepático-pulmonar (tos y descarga nasal comúnmente observada) y los nematodos adultos (generalmente 10 a 20 cm de longitud) pueden causar retardo en el crecimiento, pérdida de peso, cólico y muerte por impacción o perforación intestinal (Clayton, 1986; Crib *et al.*, 2006). El período prepatente (el tiempo entre la ingestión y la detección de huevos en las heces) es de 75 a 80 días. Los potrillos desarrollan una inmunidad adquirida sólida contra *P. equorum* y son muy raras las formas clínicas de este parásito en caballos mayores a los dos años de edad (Reinemeyer y Nielsen, 2009).

Los grandes estróngilos equinos (*Strongylus vulgaris*; *Strongylus equinus* y *Strongylus edentatus*) a pesar de su nombre vulgar son de mucho menor tamaño relativo que *P. equorum* alcanzando los adultos entre los 2 a 4,5 cm de longitud. En este grupo de nematodos (conocidos también como estróngilos migratorios) los estadios infectivos son las larvas que se encuentran en las pasturas y las que, una vez ingeridas por los equinos, comienzan una compleja y larga migración por arterias u órganos abdominales para finalmente alcanzar el intestino grueso como adultos jóvenes donde maduran y copulan. Los huevos son eliminados con la materia fecal y la eclosión de estos en el ambiente origina las larvas que contaminan las pasturas y cuya ingestión por los equinos cierra el ciclo biológico. El período prepatente (ingestión de larvas hasta la detección de huevos en las heces) es especie dependiente oscilando entre 6 meses para *S. vulgaris* hasta 12 meses para *S. edentatus* (Urquhart *et al.*, 1996). Si bien la alimentación de los nematodos adultos puede causar daños en la mucosa intestinal, síndromes de mala absorción y anemia, la mayor patogeni-

idad es producida por las migraciones larvales (Urquhart *et al.*, 1996). El más conocido de los grandes estróngilos y el de mayor patogenicidad es *S. vulgaris*, cuya migración larval por la arterias mesentéricas puede dar lugar al desarrollo de arteritis tromboembólica y a severos cólicos isquémicos, en muchos casos fatales (Drudge *et al.*, 1966; Drudge *et al.*, 1979; White, 1981). Desde la introducción de los antihelmínticos modernos y muy especialmente de la ivermectina, los grandes estróngilos están en retirada y actualmente su prevalencia es muy baja en poblaciones equinas que reciben algún tipo de tratamiento antihelmíntico (Herd, 1990) e incluso erradicadas (Reinemeyer y Nielsen, 2009) en establecimientos que realizan más de un tratamiento al año con lactonas macrocíclicas (ivermectina o moxidectina).

Los pequeños estróngilos (grupo *Ciathostoma* o *Trichonema*) son un grupo numeroso de nematodos no migratorios que pertenecen a 13 géneros reconocidos en los equinos (con más de 40 especies) los que se localizan como adultos en ciego y colon alcanzando los 2,5 cm de longitud. Actualmente y en todo el mundo son considerados (por lejos) los parásitos equinos de mayor prevalencia y prácticamente todos los caballos en pastoreo adquieren este nematode. (Brady y Nichols, 2009; Nielsen *et al.*, 2014 a; Scott *et al.*, 2015).

En nuestro país, por ejemplo, los análisis coproparasitológicos equinos para determinar el número de huevos por gramo de heces (hpg) muestran que más del 97% de los huevos observados en animales mayores de dos años (figura 2) pertenecen a los pequeños estróngilos (Laboratorios de Parasitología Veterinaria de Universidad Nacional de Rosario, Universidad Católica de Córdoba y EEA INTA Rafaela; datos no publicados).

Muchas de las especies que componen el grupo no desarrollan inmunidad protectora y, por lo tanto, son comunes en todas las categorías de equinos (Von Samson-Himmelstjerna, 2012). Todos tienen un ciclo de vida simi-



Figura 2. Huevo de nematodos del grupo *Ciathostoma* (pequeños estróngilos) en un equino de 4 años de edad).

lar y al igual que los grandes estróngilos, los equinos se infectan al consumir pasturas contaminadas con larvas. A diferencia de los grandes estróngilos, no realizan migraciones extraintestinales y las larvas permanecen enquistadas en la mucosa y submucosa del intestino grueso para luego emerger, madurar y reproducirse, cerrando de este modo el ciclo de vida. Una proporción de las larvas puede temporariamente detener su desarrollo en la mucosa y submucosa (inhibición larval similar a la observada en nematodos de rumiantes) por períodos prolongados. El período de prepatencia promedio es de aproximadamente dos meses aunque puede variar considerablemente en función de la inhibición larval (Urquhart *et al.*, 1996). En general, los adultos son de patogenicidad moderada a leve, pero un severo síndrome clínico denominado ciatostomiasis larval puede ocurrir cuando existe una masiva y sincronizada reactivación de las larvas inhibidas lo que produce inflamación y severas alteraciones de la mucosa con diarreas profusas y a veces fatales (Murphy y Love, 1997; Love *et al.*, 1999). A excepción del citado síndrome, y en contraposición a un estudio local que muestra una disminución en la eficiencia reproductiva de yeguas y padrillos (Mejía *et al.*, 2011) el consenso general actual parece indicar que en animales con los requerimientos nutricionales cubiertos, no existe una correlación ($p > 0,05$) entre los valores del hpg y el peso, el crecimiento, la condición corporal o parámetros hematológicos como el volumen globular, el conteo relativo de leucocitos y la eosinofilia (Von Samson-Himmelstjerna, 2012; Molento *et al.*, 2016; Abrahao *et al.*, 2016; Bellaw, 2016; Silva *et al.*, 2016; Nielsen 2016b).

CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE LOS ANTIHELMÍNTICOS DE USO COMÚN EN LOS EQUINOS DE NUESTRO PAÍS

Los antiparasitarios mayoritariamente utilizados en la Argentina para el control de los nematodos de los equinos incluyen principalmente a los bencimidazoles (más utilizados mebendazole, febendazole, oxibendazole) y las lactonas macrocíclicas (ivermectina y moxidectina únicamente registrados para esta especie). La primera de estas lactonas es probablemente la droga antiparasitaria más utilizada en los equinos en la Argentina y, como regla general, presenta una mayor actividad contra artrópodos aunque menor persistencia nematodocida que la moxidectina (Xiao *et al.*, 1994; Schumacher y Taintor, 2008). Si bien existen numerosas formulaciones específicas de uso oral para esta especie, la utilización también *per os*, pero de formulaciones inyectables de ivermectinas al 1% para bovinos es una práctica extremadamente común en nuestro país (Cerutti *et al.*, 2012) y generalmente la más utilizada en equinos de trabajo. Existe también un tercer grupo de nematodocidas, el de las tetrahidropirimidinas con una formulación registrada conteniendo pyrantel, pero llamativamente y a diferencia de lo observado en otras partes del mundo como por ejemplo América del Norte (Kaplan, 2004; Owen, *et al.*, 2007), Europa (Traversa *et al.*, 2009; Traversa *et al.*, 2012) y Oceanía (Armstrong *et al.*, 2014; Scott *et al.*,

2015) el uso de esta droga en los equinos ha sido hasta el presente poco común en nuestro país. Todos los antihelmínticos mencionados se utilizan como nematodocidas de amplio espectro para el control de grandes y de pequeños estróngilos (con actividad reducida frente a larvas inhibidas de estos últimos) así como de *Parascaris* spp.

Los productos que contienen combinaciones de drogas nematodocidas como por ejemplo bencimidazoles más lactonas macrocíclicas o estas últimas más pyrantel, comunes en otros países como por ejemplo Brasil (Toscan *et al.*, 2012) o Nueva Zelanda (Scott *et al.*, 2015) no se encuentran disponibles en Argentina; aunque sí son de uso frecuente las presentaciones de ivermectina o moxidectina más praziquantel para el control simultáneo de nematodos y de cestodes (*Anoplocephala* spp). En general, la mayoría de los tratamientos contra parásitos internos en equinos de nuestro país se realizan bajo esquemas prefijados o en forma esporádica y son muy poco utilizados los análisis coproparasitológicos (aún menos que en los rumiantes) para la toma de decisiones en los programas de control o para evaluar la eficacia de estos.

Antecedentes en el mundo de RA en nematodos equinos y situación en nuestro país

1. *Parascaris equorum*: las primeras fallas para el control de este parásito fue informada en el año 2002 en Holanda con el uso de lactonas macrocíclicas en potrillos (Boersema, 2002) y en el 2006 Kaplan *et al.*, a través de infecciones experimentales, confirmaron la resistencia de *P. equorum* a la ivermectina. Desde entonces, en numerosos países se registraron evidencias clínicas crecientes sobre las fallas de la ivermectina o la moxidectina para reducir el número de huevos en las heces luego del tratamiento (algunos antecedentes son presentados en la tabla 1).

Con respecto a nuestro país, la información existente es escasa y se circunscribe al área central. En el 2006, se informó de fallas de la ivermectina sobre la eliminación de huevos de *Parascaris* spp en potrillos de un centro de transferencia embrionaria de caballos de polo de la provincia de Córdoba. En este estudio, once potrillos de tres a cinco meses de edad (sin manifestaciones de parasitismo, pero con presencia de huevos en las heces) fueron tratados con esta droga en forma oral (0,2 mg/kg) mientras que otros ocho animales de similares características permanecieron como controles sin tratamiento. Catorce días posteriores a la administración de ivermectina la eficacia de la droga no superó el 65% y en tres de estos potrillos el número de huevos se había incrementado; en cuatro se mantuvo constante y en cuatro decreció. Treinta días posteriores al tratamiento con ivermectina, seis potrillos que aún eliminaban huevos en las heces fueron tratados nuevamente con fenbendazole y 28 días más tarde todos los análisis coprológicos de estos animales fueron negativos (Anziani *et al.*, 2006).

En este mismo año en una caballeriza de caballos de trote de la provincia de Santa Fe, al realizar la necropsia

País	Droga	Eficacia (%)	referencias
EE. UU.	Ivermectina	< 75	Craig <i>et al.</i> , 2007
Canadá	Ivermectina	33	Owen <i>et al.</i> , 2007
	Moxidectina	47	
Alemania	Ivermectina	0	Von Samson-Himmelsjerma <i>et al.</i> , 2007
Dinamarca	Ivermectina	70	Schougaard y Nielsen 2007
Suecia	Ivermectina	0	Lindgren <i>et al.</i> , 2008
Brasil	Ivermectina	66	Molento <i>et al.</i> , 2008
	Moxidectina	84	
	Abamectina	42	
Italia	Ivermectina	63; 71	Veronesi <i>et al.</i> , 2009
Francia	Ivermectina	32, 55; 68	Laugier <i>et al.</i> , 2012
Nueva Zelanda	Ivermectina	0; 0	Bishop <i>et al.</i> , 2014
Australia	Ivermectina	0 ; 50; 61; 84	Armstrong <i>et al.</i> , 2014

Tabla 1. Estudios clínicos que mostraron resistencia de *P equorum* a las lactonas macrocíclicas en el extranjero.

de un potrillo se observó la presencia de numerosos ejemplares de *Parascaris* adultos en forma de ovillos ocluyendo la luz intestinal. El establecimiento realiza anualmente la recría de potrillos de 7 a 9 meses de edad y utiliza un programa de control basado en tratamientos con ivermectina en esta categoría de animales cada 60 días. En la nueva cohorte de potrillos 2007 y sujeta al mismo esquema de tratamientos se observó en la materia fecal la presencia de *Parascaris* adultos en animales tratados aproximadamente un mes antes con ivermectina lo cual motivó la consulta al Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Nacional de Rosario. Los análisis coprológicos realizados en dos potrancas y un potrillo que habían recibido el mismo tratamiento mostraron valores de 120 a 160 huevos de *Parascaris* spp. por gramo de heces. Debido a las fallas de tratamiento con ivermectina, estos potrillos fueron tratados (al igual que el caso anterior) con febendazole y posteriormente no se observaron huevos en la materia fecal. Desde entonces se realizan esporádicamente análisis coproparasitológicos luego de tratamientos con bencimidazoles, no registrándose hasta el presente (2016) fallas de eficacia con este grupo químico (Arduzzo, comunicación personal).

2. Grandes y pequeños estróngilos: en todo el mundo los programas de control de los nematodos intestinales se orientaron originalmente sobre los grandes *Strongylus*, especialmente *S. vulgaris* debido a la reconocida patogenicidad de este parásito. Por su potencia contra estadios larvales y adultos, la aplicación masiva de ivermectina resultó en la disminución dramática de la prevalencia de estos parásitos y de los fenómenos de cólicos asociados a estos. En Brasil un trabajo reciente (Toscan *et al.*, 2012) detectó ineficacias de algunas formulaciones (pero no en otras) de abamectina o ivermectina para el control de *S. vulgaris*, *S. equinus* y *S. edentatus*. No obstante, hasta el

momento existe consenso para considerar que la RA no constituye un problema en el control de los grandes estróngilos y estos permanecen susceptibles a las drogas en uso (Nielsen *et al.*, 2013; Nielsen, 2016b).

Por el contrario, en los pequeños estróngilos el desarrollo de resistencia a los bencimidazoles ha sido informada en numerosos países (Kaplan, 2002 y 2004; Brady y Nichols, 2009; Von Samson-Himmelstjerna *et al.*, 2009) y por su elevada prevalencia, actualmente estos fenómenos parecen ser la regla más que la excepción (Kaplan, 2011). La resistencia de pequeños estróngilos a los bencimidazoles fue descripta por primera vez en la Argentina durante el año 2005 en un establecimiento del norte de la provincia de Santa Fe (Anziani y Catanzaritti, 2005). En el año 2012, un estudio en las provincias de Santa Fe y de Córdoba indicó ineficacias en la totalidad de nueve establecimientos evaluados (con antecedentes de uso de bencimidazoles) así como en más del 50% de los caballos remitidos al hospital veterinario de la Universidad Católica de Córdoba y en los que se desconocían antecedentes de tratamientos con estas drogas (Cerutti *et al.*, 2012). Más recientemente Vignaroli y Arduzzo, 2014 informaron sobre ineficacias similares con este grupo químico en equinos de la provincia de Santa Fe. En este contexto, al menos para el área central de nuestro país, la utilización de tratamientos con bencimidazoles para controlar pequeños estróngilos de los equinos podría ser actualmente desaconsejada a menos que se realicen controles postratamiento para establecer la eficacia de estos.

A diferencia de lo observado con los bencimidazoles, la ivermectina mantiene una eficacia alta para reducir el conteo de huevos en la materia fecal de caballos jóvenes y adultos parasitados por pequeños estróngilos. Durante los últimos cinco años en estudios llevados a cabo en las

Estab y (N.º de Caballos)	HPG Pretrat.	Semanas Postrat. (% eficacia en Test Reducción Conteo de Huevos)								% larvas Ciatostoma (pre* y postratamiento)	
		2. ^a	3. ^a	4. ^a	5. ^a	6. ^a	7. ^a	8. ^a			
A (12)	630 (300-1020)	100	100	98,4	89,6	88,2	90	88,5	>98	100	
B (17)	1047 (450-2040)	100	100	98,8	99,7	99,2	95,9	85,2	>95	100	
C (9)	980 (420-2100)	100	100	98,3	97,2	97	96,5	93,9	>98	100	
D (10)	521 (300-1000)	100	100	97	97	95,3	95,1	87,8	100	100	

Tabla 2. Promedio del hpg pre tratamiento (día 1), porcentajes de eficacia observado en el TRCH durante 8 semanas pos tratamiento con ivermectina y porcentaje de larvas de ciatostoma identificadas por coprocultivos.

*Estab 1 a 3, porcentaje restante perteneciente a larvas de grandes estróngilos (*Strongylus edentatus*).

provincias de Santa Fe y Córdoba (laboratorios de Parasitología Veterinaria de la Universidad Nacional de Rosario Y Universidad Católica de Córdoba) la droga produjo en más de 500 animales de diferentes biotipos y categorías reducciones en el TRCH > al 98,5% entre los 12 y 15 días posttratamiento, demostrando que luego de más de 30 años de uso esta droga mantiene una eficacia muy alta de acuerdo a este test *in vivo*. En 48 de estos equinos pertenecientes a cuatro establecimientos se estudió además durante el 2015 el período de reaparición de huevos (PRH) en la materia fecal luego del tratamiento con ivermectina (Arduzzo *et al.*, 2016). Este período se considera como un potencial alerta temprano al desarrollo de los fenómenos de resistencia y originalmente este era de 9 a 13 semanas cuando la droga fue registrada en el mercado veterinario mundial. Actualmente el PRH para la ivermectina es de 6 a 8 semanas y valores inferiores son interpretados como resistencia emergente (Lyons *et al.*, 2011; Nielsen *et al.*, 2013) y estarían asociados a la sobrevivencia de larvas ciatostomas de cuarto estadio ((Lyons *et al.*, 2011; Lyons y Tolliver, 2013). Si bien existen varias definiciones para determinar el PRH y por ende la duración de este) la utilizada en nuestras experiencias consideró como tal a la semana posttratamiento en la cual se observó en el TRCH valores inferiores al 90% (Larsen *et al.*, 2011; Nielsen *et al.*, 2013). Una síntesis de estas observaciones está presentada en la tabla 2.

En todos los establecimientos la eficacia de la ivermectina fue del 100% a las dos y tres semanas posteriores al tratamiento y ningún equino liberó en sus heces huevos de nematodos durante este período. Con respecto al PRH, en tres de los establecimientos (2, 3 y 4) y en el 84% de los individuos este período fue mayor a las seis semanas en línea con lo esperado para la ivermectina. En el establecimiento restante (1) la eficacia fue > al 90% solo durante las primeras cinco semanas lo cual podría sugerir el desarrollo incipiente de menor susceptibilidad a la ivermectina en esta población de ciatostomas. Estos datos comprenden un número

reducido de animales y obviamente son necesarios estudios adicionales antes de extraer conclusiones, pero este corto PRH en este establecimiento podría considerarse al menos como una situación sospechosa. Recientes trabajos en establecimientos con uso intensivo de ivermectina en EE. UU. informaron sobre resistencia emergente de ciatostoma a esta droga con PRH de cuatro a cinco semanas (Lyons *et al.*, 2008 y 2011).

En síntesis, la situación actual sobre RA en nematodos equinos muestra que en nuestro país, como en otros países del mundo, el uso de drogas de amplio espectro para el control de diferentes parásitos en diferentes categorías requiere una nueva visión del control químico. La información en la Argentina es fragmentaria, pero muestra que en el control de *P. equorum* en los potrillos o en el de los pequeños estróngilos de equinos jóvenes y adultos, ni las lactonas ni los bencimidazoles por sí solos están logrando un adecuado control de ambos parásitos simultáneamente. De particular preocupación son las fallas de las lactonas para controlar el primero de estos parásitos ya que son las drogas más utilizadas en la especie equina y *Parascaris* spp. representa una seria amenaza para la salud de los potrillos menores al año de edad.

¿La resistencia es para siempre?

En los rumiantes es comúnmente aceptado que, una vez que se desarrollan nematodos resistentes a un grupo químico, la persistencia de este fenómeno permanece por mucho tiempo después de que cesa el uso de estos antihelmínticos (Borgsteede y Duyn, 1989; Anziani *et al.*, 2011; Leathwick, 2013). Una situación similar ha sido documentada recientemente en los pequeños estróngilos que parasitan a los equinos, en donde una población de estos parásitos con resistencia a los bencimidazoles continúa con este estatus luego de nueve años sin el uso de estas drogas (Anziani *et al.*, 2016). Este estudio se llevó

	Caballo N.º												Promedio HPG	TRCH* (%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
HPG														
Día 0	320	300	400	860	400	600	840	300	120	400	220	520	440	No corresponde
Día 10	360	180	440	300	320	320	180	350	90	120	200	280	261,67	40,53
Día 36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100

Tabla 3. Número de huevos en materia fecal de equinos antes y luego del tratamiento con mebendazole (día 0) o ivermectina (tratamiento realizado día 12), promedio del hpg y porcentaje de reducción para cada tratamiento.

*Test Reducción Conteo de Huevos.

a cabo en un establecimiento del norte de la provincia de Santa Fe con una población equina relativamente estable, con documentación sobre nematodos resistentes a los bencimidazoles y donde la ivermectina había sido la droga de reemplazo desde el 2005. En el 2014, doce equinos de este mismo establecimiento fueron tratados con mebendazole (6,25 mg/kg oral) para determinar si la suspensión de su uso durante los nueve años previos podría haber recuperado la susceptibilidad de estos parásitos a los bencimidazoles. A los 10 días postratamiento el TRCH indicó una eficacia de 40,5% y ante estos resultados, dos días más tarde los mismos animales fueron tratados nuevamente con ivermectina (0,2 mg/kg oral) la cual resultó en una eficacia del 100% (tabla 3).

Estas observaciones de nuestro país concuerdan con trabajos realizados en Canadá donde poblaciones de campo de pequeños estróngilos resistentes a los bencimidazoles persistieron con esta condición luego de 10 años sin ser utilizados estos antihelmínticos (Owen *et al.*, 2008). Ambas experiencias muestran que bajo condiciones de campo y una vez que la RA se desarrolla en nematodos equinos como los pequeños estróngilos (y al menos con antihelmínticos como los bencimidazoles) las posibilidades de reversión a susceptibilidad son muy escasas.

DIAGNÓSTICO DE LA RESISTENCIA ANTIHELMÍNTICA

Los métodos *in vivo* son actualmente considerados como referencia o gold standard para el diagnóstico de la RA en los equinos. Estos métodos determinan, por necropsia de los animales tratados, el número de nematodos adultos que sobreviven al tratamiento (test de eficacia controlada) o en animales vivos, la postura de huevos por las hembras de los nematodos sobrevivientes a este a través de un test de reducción en el conteo de huevos (TRCH). El TRCH compara el número de huevos por gramo de heces (hpg) antes y después del tratamiento, no requiere el sacrificio de los hospedadores y es el más difundido en todo el mundo ya que se puede determinar la susceptibilidad o resistencia a todos los tipos de antihelmínticos bajo condiciones de campo. La reducción en el conteo de huevos puede ser

basada en los valores del hpg pre y postratamiento de los mismos caballos o comparada con un grupo control no tratado. En general, actualmente se considera que la primera de estas formas de evaluar la actividad de las drogas no solo es más simple, pero también reduce la variabilidad en las estimaciones de eficacia con resultados más consistentes (Mc Kenna, 2006; Dobson, 2012). El análisis de los mismos animales permite establecer porcentajes individuales en el TRCH y es la única alternativa para condiciones de campo donde generalmente el número de equinos disponibles es pequeño. En estas circunstancias un mínimo de seis (Nielsen *et al.*, 2013) a ocho equinos ha sido sugerido como aconsejable (Pook *et al.*, 2002) o al menos el 80% de la población equina del establecimiento (Coles *et al.*, 2006). Uno de las controversias suscitadas con el TRCH en equinos es el porcentaje de eficacia que debe tener una droga (línea de corte o cut off) para considerar a los parásitos como susceptibles o resistentes. En general, existe consenso para que eficacias menores al 85% para el pyrantel, 90% para bencimidazoles y 95% para las lactonas deberían ser consideradas como el cut off por debajo del cual podría asumirse presencia de resistencia (Kaplan, 2002; Kaplan y Nielsen, 2010; Nielsen *et al.*, 2013). Sin embargo, las determinaciones del hpg presentan una gran variabilidad intrínseca y, por ende, también influyen los resultados del TRCH. Por lo tanto y más aún cuando se utiliza un número reducido de animales y la variabilidad de los datos es grande se requiere de una actitud conservadora antes de establecer el estatus de resistencia bajo condiciones de campo.

Además de estos métodos *in vivo*, se están evaluando alternativas *in vitro* que determinan los efectos de los antihelmínticos sobre el desarrollo, crecimiento o movimiento de diferentes estadios de los nematodos. Hasta el momento su uso ha sido limitado y se hace necesario una mayor estandarización de estos para su empleo masivo y, por el momento, en los equinos no constituyen una alternativa confiable que pueda sustituir al TRCH (Von Samson-Himmelstjerna, 2012; Mathews, 2014). Existen también métodos que utilizan marcadores moleculares los que generalmente presentan mayor sensibilidad que los métodos *in vivo* para detectar nematodos resistentes, especialmente cuando estos fenómenos están emergiendo (Hoglund *et*

al., 2009; Guzman *et al.*, 2011). Sin embargo, actualmente estos métodos no pueden cuantificar o indicar la magnitud del fenómeno y, por lo tanto, la correlación entre la detección de resistencia y la eficacia de una determinada droga es difícil de establecer y para un determinado establecimiento no parece tener sentido el dejar de utilizar un antihelmíntico que muestra reducciones en la postura de huevos cercanos al 100% aunque los marcadores moleculares indiquen presencia de resistencia (Kaplan y Vidyashankar, 2012). En este contexto y hasta el presente, estos tests están siendo usados exclusivamente en trabajos de investigación y no están disponibles para servicios diagnósticos.

Cómo prevenir, demorar y manejar los problemas de resistencia

Presión de selección y poblaciones en “refugio”. La presión de selección que ejerce una droga antihelmíntica depende fuertemente del modo que esta es utilizada en el campo. Además del uso masivo y frecuente, otra forma de presión de selección es la aplicación cuando las posibilidades de reinfección son bajas (refugio mínimo). Se denomina refugio a las poblaciones de nematodos que no son alcanzadas por los antihelmínticos cuando se realizan los tratamientos (Van Wyk, 2001). El refugio lo constituyen mayormente los huevos y estados larvales que se encuentran en las pasturas, los nematodos que se encuentran en animales que no reciben tratamiento y también en el caso de los ciatostomas (pequeños estróngilos no migratorios) de los equinos, las larvas de tercer y cuarto estadio que permanecen enquistadas y que son generalmente refractarias a los tratamientos antihelmínticos convencionales. Estas subpoblaciones dejadas en refugio representan un reservorio de parásitos susceptibles que pueden reproducirse con los nematodos resistentes que sobreviven al tratamiento. De esta forma, los genes resistentes pueden “diluirse” con los susceptibles y, por lo tanto, cuando el refugio es incrementado, se reduce el desarrollo de la resistencia. En los rumiantes existen estudios de campo (Waghorn *et al.*, 2008; Anziani *et al.*, 2014) así como modelos simulados (Dobson *et al.*, 2011; Leathwick *et al.*, 2012) que señalan la importancia del refugio para aminorar la presión de selección y el desarrollo de la resistencia. En los equinos el efecto beneficioso de las poblaciones en refugio para el control parasitario es considerado como una hipótesis altamente probable, pero no existen aún estudios específicos en estos herbívoros que lo confirmen (Nielsen *et al.*, 2014c). Así, por ejemplo, ha sido sugerido que una de las potenciales causas sobre la ausencia de fenómenos generalizados de resistencia a las lactonas macrocíclicas por los ciatostomas, a pesar de más de treinta años de uso intensivo, podría ser la importante población en refugio que constituyen las larvas enquistadas en la mucosa del intestino grueso y sobre las cuales estas drogas prácticamente no tienen actividad (Kaplan, 2002; Matthews, 2008).

Tratamientos selectivos. La RA exige una profunda reformulación de los actuales programas de control así como de nuevas recomendaciones y estrategias para disminuir la

presión de selección que ejercen los antihelmínticos sobre el genoma parasitario y favorecer ciertos niveles de nematodos en refugio a través de tratamientos menos intensivos y masivos (VanWyk 2006; Greer *et al.*, 2009; Stafford *et al.*, 2009). Una de las estrategias que aparece como más promisorias es la de los tratamientos selectivos (T.S.) la cual se basa en el principio de seleccionar individuos dentro del grupo animal y dejar el resto sin tratamiento. Este principio muy simple se contrapone con los tratamientos masivos actuales y la mayor ventaja de estos T.S. es que todos los animales que probablemente se beneficiarían con los antihelmínticos son incluidos y aquellos con menor probabilidad de beneficiarse son excluidos. El fundamento es que los nematodos que parasitan a los herbívoros siguen la distribución de la binomial negativa con la minoría de estos últimos soportando el mayor número de parásitos o sufriendo el mayor impacto sanitario-productivo (Kenyon *et al.*, 2009). Este tipo de distribución es particularmente evidente en los equinos parasitados por pequeños estróngilos (Wood *et al.*, 2013) y desde una perspectiva teórica, los T.S. podrían dirigirse solamente al 20 o 30% de los animales que constituyen el principal grupo de riesgo. Si en un grupo de equinos determinados, estos T.S. se realizaran con drogas de alta eficacia (>99%) y solo sobre caballos que por ejemplo muestren valores del hpg > 200, se lograría una reducción en la contaminación por huevos (realizada por toda la tropilla) en las pasturas, cercanas al 95% a pesar de que los tratamientos alcanzarían solo a la mitad aproximada de los integrantes de esta (Kaplan y Nielsen, 2010). La correlación entre el hpg y la carga total de pequeños estróngilos es baja especialmente cuando la proporción de larvas enquistadas es alta (Dowdall *et al.*, 2002) en forma similar a la observada en con las larvas hipobióticas de los nematodos de los rumiantes. No obstante, y a diferencia de estos últimos, en los pequeños estróngilos, existen varios estudios que muestran en el tiempo una consistencia alta y estable en los valores individuales del hpg para un animal determinado (Gomez y Giorgi, 1991; Nielsen *et al.*, 2006). En este contexto, el valor del hpg ha sido propuesto en Europa y EE. UU. como un indicador confiable para los T.S. en pequeños estróngilos (grupo ciatostoma) de animales adultos utilizando un cut off para la administración de antihelmínticos de 100 a 300 hpg (Nielsen *et al.*, 2006; Nielsen *et al.*, 2014b). Existe actualmente una tendencia incluso a aumentar este valor del hpg como línea de corte y aparentemente valores de 400 en adultos jóvenes o de 600 en yeguas de cría no requerirían tratamientos específicos (Molento *et al.*, 2016; Abrahao *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2016). No obstante estas importantes ventajas (menor presión de selección y mayor refugio) existe actualmente preocupación ya que con los T.S. muchos equinos no reciben ningún tratamiento nematocidas por períodos prolongados lo cual podría favorecer la reemergencia de otros nematodos de mayor patogenicidad como por ejemplo *Strongylus vulgaris* cuya prevalencia se encuentra mundialmente en disminución (Nielsen, 2014b). Los huevos de *S. vulgaris* no pueden ser morfológicamente diferenciados de los pequeños estróngilos por su tamaño y forma, por lo que existe un riesgo alto para que los T.S. dejen infecciones con este

parásito sin tratamiento. En nuestro país, la prevalencia de los grandes estróngilos es muy baja (ver punto 2), pero “aún están aquí” y por ejemplo Fuse *et al.* (2013) demostraron que sobre 32 necropsias realizadas en el 2003 y 2004 en equinos de 2,5 a 3 años que no habían recibido tratamientos antihelmínticos previos, el 100% de estos animales presentaba lesiones de la mesentérica anterior compatibles con *Strongylus vulgaris*. Así mismo los T.S. basados en el hpg no se consideran actualmente aplicables tampoco en potrillos y equinos jóvenes donde *Parascaris spp.* puede dar lugar a falsos negativos (Nielsen, 2016 a y b) con un importante riesgo sanitario para estas categorías.

CONCLUSIONES Y PROPUESTAS

Al igual que en los rumiantes, los nematodos de mayor importancia y prevalencia que actualmente parasitan el intestino de los equinos han desarrollado resistencia a los antihelmínticos. Sin embargo, la real importancia clínica de la RA en ciatostomas (pequeños estróngilos) o *Parascaris spp.* que parasitan a la especie equina, hasta el momento no ha sido bien establecida y clarificada.

La relativa baja patogenicidad de la mayoría de las infecciones por ciatostomas (a excepción del síndrome poco frecuente de la ciatostomiasis larval) debería ser considerada al evaluar las implicancias de la RA. Debido a la presencia generalizada de las fallas de tratamiento con el uso de bencimidazoles, esta droga no debería ser recomendada para el control de estos nematodos a menos que se realicen controles postratamiento para evaluar la eficacia de estos. Por el contrario, las fallas para controlar *Parascaris spp.* en potrillos con el uso de lactonas macrocíclicas podría llevar a síndromes severos con diarrea, impacción gastrointestinal y ocasionalmente perforación o ruptura del intestino delgado. Estos fenómenos de RA en los equinos muestran que en nuestro país, como en otros países del mundo, el uso de drogas de amplio espectro para el control de diferentes parásitos en diferentes categorías requiere una nueva visión del control químico. La información disponible en Argentina es fragmentaria, pero denota que en el control de *Parascaris spp.* en los potrillos o en el de los pequeños estróngilos de equinos en los adultos, ni las lactonas ni los bencimidazoles por sí solos están logrando un adecuado control de ambos parásitos simultáneamente.

En este contexto, el objetivo de los programas de control actuales no debería dirigirse a la eliminación total de los nematodos, pero sí a reducir su transmisión y mantener las cargas parasitarias por debajo de niveles que potencialmente afecten la salud, productividad o performance de los equinos. No hay dudas de que la aplicación de antihelmínticos es actualmente el método más efectivo y práctico para el control parasitario, pero es imperativo disminuir la frecuencia de estos, maximizando su utilización racional para disminuir la presión de selección que resulta en poblaciones de nematodos resistentes. Las drogas disponibles pertenecen solo a tres grupos químicos y desde el lanzamiento de la ivermectina en 1981-1982, no han sido

introducidos al mercado veterinario equino mundial antihelmínticos con nuevos modos de acción. A pesar de estar comercialmente disponible, llamativamente el uso de pyrantel ha sido hasta el momento muy restringido en nuestro país y debido a los pocos grupos de antihelmínticos existentes, la droga podría jugar un papel importante en cualquier esquema de rotación (especialmente en presencia de RA) para el control de ciatostomas así como de *Parascaris spp.* y amerita la realización de estudios locales para obtener información actualizada sobre su eficacia.

En el control de ciatostomas en equinos adultos, el uso de tratamientos selectivos utilizando niveles de corte de 300 a 500 en los valores del hpg, aparece con un interesante potencial por su baja presión de selección sobre el genoma parasitario ya que disminuye el número de tratamientos y aumenta las poblaciones parasitarias en *refugio*. Los riesgos de la reaparición de los grandes estróngilos (especialmente *Strongylus vulgaris*) provocados por equinos sin tratamientos (lo cual permitiría cumplimentar el ciclo biológico y la contaminación de las pasturas) podrían ser reducidos con una única aplicación masiva anual de antihelmínticos. Esta práctica podría simplificarse si se realiza junto con la administración anual de praziquantel recomendada para el control de cestodos (Nielsen, 2016b) ya que esta droga se encuentra comercialmente disponible en combinación con bencimidazoles y lactonas macrocíclicas.

Los veterinarios involucrados con la especie equina deberían evaluar el estatus de susceptibilidad o resistencia en cada establecimiento antes de establecer un programa de control parasitario, y en este contexto el TRCH debería ser usado al menos anualmente para monitorear la eficacia de las drogas. A pesar de sus limitantes los análisis coproparasitológicos están lejos de ser sofisticados o de alto costo y los TRCH pueden ser utilizados sin modificar el manejo habitual del establecimiento y actuar como prueba tamiz de eficacia luego del tratamiento. Las sospechas de ineficacia pueden ser identificadas y confirmadas posteriormente con protocolos de mayor exigencia permitiendo al veterinario cambiar rápidamente de droga y evitar potenciales problemas sanitarios o en la performance de los animales. En forma adicional, esta información basada en técnicas parasitológicas muy sencillas podría servir de base para un sistema de investigación diagnóstica temprana de estos fenómenos de resistencia a nivel regional. Estas acciones permitirían movernos desde las observaciones circunstanciales y anecdóticas actuales, hacia la documentación y sistematización de la información como premisa inicial a una medicina veterinaria basada en evidencias para responder al uso racional y sustentable de los antihelmínticos.

AGRADECIMIENTOS

Al convenio INTA AUDEAS CONADEV y a la Secretaría de Investigación de la Universidad Católica de Córdoba por el financiamiento de algunos de los trabajos de la presente revisión.

BIBLIOGRAFÍA

- ABRAHAO, C.I.; CASTRO, I.I.; MIYAZAKI, C.M.; YOSHITANI, U.Y.; ANTUNES, J.; MOLENTO, M.B. 2016. Body development of five Thoroughbred foal generations naturally infected with cyathostomins. *Jour. Equ. Vet. Sci.* 39 Supp: S45.
- ANZIANI, O.S. ; CATANZARITTI, H. 2005. Resistencia a los benzimidazoles en nematodos de los equinos en Santa Fe, Argentina. *Vet. Arg.* 218: 571-578.
- ANZIANI, O.S.; CAFFE, G.; SALAMONE, J.; ROMANUTTI, J. 2006. Probable resistencia de *Parascaris equorum* a la ivermectina. Facultad Ciencias Agropecuarias. Primeras Jornadas de Difusión Científicas, Universidad Católica de Córdoba. Disponible: <http://rafaela.inta.gov.ar/info/documentos/anuarios/anuario2006/sanidad-27.pdf> verificado 03 de marzo de 2016).
- ANZIANI, O.; PAGGI, P.; BURGOS, G.; FERREIRA, M.; GALARZA, R. 2011. MACROCYCLIC LACTONES IN CATTLE IN ARGENTINA. PERSISTANCE OF STATUS OF RESISTANCE. (Abstract) Session L. 23rd International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology Proceedings; Buenos Aires, Argentina, p. 261.
- ANZIANI, O.S. 2013. Anthelmintic resistance in nematodes of herbivores hosts in Argentina. 2013. Proceedings 24th International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, Perth, Australia.
- ANZIANI, O.S.; DIRUSCUI, I.; IBARLUCEA, J.; MACIEL, M. ; COOPER, L.; CERUTTI, J. 2014. Los tratamientos masivos con ivermectina para erradicación de la garrapata común del bovino (*Rhipicephalus sanguineus*) y sus efectos sobre poblaciones de nematodos gastrointestinales. Observaciones sobre un caso de campo. *Rev Arg. Prod. Anim.* 34 (Sup. 1). 66.
- ANZIANI, O.S.; MUCHIUT, S.; COOPER, L.; CERUTTI, J. 2016. The small strongyles (cyathostomes) and benzimidazoles. Persistence of status of resistance after nine years without the use of these drugs and efficacy of ivermectin against this parasite population. *Jour. Equ. Vet. Sci.* 39 Supp: S52-S53.
- ARDUSSO, G.; CERUTTI, G.; CAFFE, G.; COOPER, L.; PI-RANI L. ;ANZIANI, O. 2016. Anthelmintic resistance in equine nematodes in Argentina. *Jour. Equ. Vet. Sci.* 39 Supp: S52.
- ARMSTRONG, S.K.; WOODGATE, R.G.; GOUGH, S.; HELLER, J.; SANGSTER, N.C.; HUGHES, K.J. 2014. The efficacy of ivermectin, pyrantel and fenbendazole against *Parascaris equorum* infection in foals on farms in Australia. *Vet. Parasitol.* 205: 575-580.
- BELLAW, J.; PAGAN, J.; CADELL, S.; PHETHEAN, E.; DONECKER, J.; NIELSEN, M. 2016. Objective evaluation of two deworming regimens in young Thoroughbreds using parasitological and performance parameters. *Vet Parasitol.* 221:69-75.
- BISHOP, R.M.; SCOTT, I.; GEE, E.K.; ROGERS, C.W.; POMROY, W.E.; MAYHEW, I.G. 2014. Sub-optimal efficacy of ivermectin against *Parascaris equorum* in foals on three Thoroughbred stud farms in the Manawatu región of New Zealand. *New Z. Vet J.* 62 : 91-95.
- BOERSEMA, J.H.; EYSKER, M.; NAS, J.W. 2002. Apparent resistance of *Parascaris equorum* to macrocyclic lactones. *Vet. Rec.* 150: 279-281.
- BORGSTEEDE, F.; DUYN, S. 1989. Lack of reversion of a benzimidazole resistant strain of *Haemonchus contortus* after six years of levamisole usage. *Res. Vet. Sci.* 47: 270-2.
- BRADY, H.; NICHOLS W. 2009. Drug resistance in equine parasites: an emerging global problem. *J. Equine Vet. Sci.* 29: 285-295.
- CERUTTI, J.; COOPER, L.; CAFFE, G.; CERVILLA, N.; MUCHIUT, S.; ANZIANI, O.S. 2012. Resistencia de los pequeños strongilidos (grupo *Ciatostoma*) a los benzimidazoles en equinos del área central de la Argentina. *Rev. InVet. (Bs. As., Argentina)*, 14: 41-46.
- CLAYTON, H.M.; DUNCAN, J.L. 1979. The migration and development of *Parascaris equorum* in the foal. *Res. Vet. Sci.* 26: 383-384.
- CLAYTON, H.M. 1986. Ascarids. Recent advances. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 2: 313-328.
- COLES, G.C.; JACKSON, F.; POMROY, W.E.; PRICHARD, R. K.; Von SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; SILVESTRE, A.; TAYLOR, A.; VERCRUYSSSE, J. 2006. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.* 85: 49-59.
- CRAIG, T.M.; DIAMMOND, P.I.; FERWERDA, N.S.; THOMPSON, J.A. 2007. Evidence of ivermectin resistance by *Parascaris equorum* on a Texas horse farm. *Jour. Equ. Vet. Sci.* 27: 67-71.
- CRIBB, N.C.; COTE, N.M.; BOURÉ, L.P.; PEREGRINE, A.S. 2006. Acute small intestinal obstruction associated with *Parascaris equorum* infection in young horses: 25 cases (1985-2004). *N. Z. Vet. J.* 54: 338-343.
- DOBSON, R.J.; BARNES, E.H.; TYRELL, K.L.; HOSKING, B.C.; LARSEN, J.W.A.; BESIÉ, R.B.; LOVE, S.; ROLFE, P.F.; BAILEY, J.N. 2011. A multi-species model to assess the impact of refugia on worm control and anthelmintic resistance in sheep grazing systems. *Aust. Vet. J.* 89: 200-208.
- DOBSON, R.J.; HOSKING, B.C.; JACOBSON, C.L.; COTTER, J.L.; BESIÉ, R.B.; STEIN, P.A.; REID, S.A. 2012. Preserving new anthelmintics: A simple method for estimating faecal egg count reduction test (FECRT) confidence limits when efficacy and/or nematode aggregation is high. *Vet. Parasitol.* 186: 79-92.
- DOWDALL, S.M.J.; MATTHEWS, J.B.; MAIR, T.; MURPHY, D.; LOVE, S.; PROUDMAN, C.J. 2002. Antigen-specific IG (T) responses in natural and experimental Cyathostome infections in horses. *Vet. Parasitol.* 106: 225-242.
- DRUDGE, J.H. 1979. Clinical aspects of strongylus vulgaris infection in the horse. Emphasis on diagnosis, chemotherapy and prophylaxis. *Vet. Clin. North Am. Large Anim. Pract.* 1: 251-265.
- DRUDGE, J.H.; LYONS, E.T.; SZATO, J. 1966. Pathogenesis of migrating stages of helminthes with special reference to *Strongylus vulgaris*. En: SOULSBY, E.J.L. (editor). *Biology of parasites. Emphasis on veterinary parasites.* Nueva York y Londres; Academic Press Inc. pp. 199-214.
- FUSÉ, L.; SAUMELL, C.; IGLESIAS, L. 2013. Variación estacional del parasitismo interno en equinos: fenómeno de hipobiosis de los pequeños strongilidos (Cyathostominae) en Tandil, Buenos Aires, Argentina. *Rev. Med. Vet. (Bs. As.)* 3: 62-72. Symposium. 385-389.
- GOMEZ, H.H.; GEORGI, J.R. 1991. Equine helminth infections: control by selective chemotherapy. *Equine Vet. J.* 23:198-200.
- GREER, A.W.; KENYON, F.; BARTLEY, D.J.; JACKSON, E.B.; GORDON, Y.; DONNAN, A.A., MCBEAN, D.W. 2009. Development and field evaluation of a decision support model for anthelmintic treatments as part of a targeted selective treatment (TST) regime in lambs. *Vet. Parasitol.* 164: 12-20.
- GUZMÁN, M.; FIEL, C.; STEFFAN, P.; RIVA, E.; SCARCELLA, S.; LUCCHESI, P. 2011. Genotype characterization of strains of *Haemonchus contortus* susceptible or resistant to benzimidazole treatment in Argentina. (Abstract) Session D. 23rd International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology Proceedings; Buenos Aires, Argentina, p. 104.
- HERD, R.P. 1990. The changing world of worms: the rise of the cyathostomes and the decline of strongylus vulgaris. *Compend. Contin. Educ. Vet.* 12: 732-736.

- HOGLUND, J.; GUSTAFSSON, K.; LJUNGSTROM, B. L.; ENGSTROM, A.; DONNAN, A.; SKUCE, P. 2009. Anthelmintic resistance in Swedish sheep flocks based on a comparison of the results from the faecal egg count reduction test and resistant allele frequencies of the beta-tubulin gene. *Vet. Parasitol.* 161: 60-68.
- KAPLAN, R. 2002. Anthelmintic resistance in nematodes of horses. *Vet. Res.* 33: 491-507.
- KAPLAN, R. 2004. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. *Trends Parasitol.* 20:477-481.
- KAPLAN, R. 2011. It is time for change: the rationale for evidence-based parasite control in horses (Abstract) Session H. 23rd International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology. Proceedings; Buenos Aires, Argentina, p. 173.
- KAPLAN, R.M.; REINEMEYER, C.R.; SLOCOMBE, J.O.; MURRAY, M.J. 2006. Confirmation of ivermectin resistance in a purportedly resistant Canadian isolate of *Parascaris equorum* in foals. Proceedings of the American Association of Veterinary Parasitologists, 51st Annual Meeting, Honolulu, Hawaii, 69-70.
- KAPLAN, R.; NIELSEN, M.K. 2010. An evidence-based approach to equine parasite control: it ain't the 60s anymore. *Equine Vet. Educ.* 22: 306-316.
- KAPLAN, R.; VIDYASHANKAR, A.N. 2012. An inconvenient truth: global worming and anthelmintic resistance. *Vet. Parasitol.* 186: 28-37.
- KENYON, F.; GREER, A.W.; COLES, G.C.; CRINGOLI, G.; PAPANDOULUS, E.; CABARET, J.; BERRAG, B.; VARADY, M.; VAN WYK, J.A.; THOMAS, E.; VERCRUYSE, J.; JACKSON F. 2009. The role of targeted selective treatments in the development of refugia-based approaches to the control of gastrointestinal nematodes of small ruminants. *Vet. Parasitol.* 164: 3-11.
- LARSEN, M.L.; RITZ, C.; PETERSEN, S.L.; NIELSEN, M.K. 2011. Determination of ivermectin efficacy against cyathostomins and *Parascaris equorum* on horse farms using selective therapy. *Vet. J.* 188: 44-47.
- LAUGIER, C.; SEVIN, C.; MENARD, S.; MAILLARD, K. 2012. Prevalence of *Parascaris equorum* infection in foals on French stud farms and first report of ivermectin-resistant *P. equorum* populations in France. *Vet Parasitol* 188:185-189.
- LEATHWICK, D. M.; WAGHORN, T.S.; MILLER, C.M.; CANDY, P.M.; OLIVER, A.M.B. 2012. Managing anthelmintic resistance - use of a combination anthelmintic and leaving some lambs untreated to slow the development of resistance to ivermectin. *Vet. Parasitol.* 187: 285-294.
- LEATHWICK, D. M. 2013. Managing anthelmintic resistance - Parasite fitness, drug use strategy and the potential for reversion towards susceptibility. *Vet. Parasitol.* 198: 145-153.
- LINDREN, K.; LJUNGVALL, Ö.; NILSSON, O.; LJUNGSTRÖM, B.L.; LINDAHL, C.; HÖGLUND; J. 2008. *Parascaris equorum* in foals and in their environment on a Swedish stud farm, with notes on treatment failure of ivermectin. *Vet. Parasitol.* 151: 337-343.
- LOVE, S.; MURPHY, D.; MELLOR, D. 1999. Pathogenicity of cyathostome infection. *Vet. Parasitol.* 85: 113-121.
- LYONS, E.T.; TOLLIVER, S.C.; IONITA, M.; LEWELEN, A.; COLLINS, S.S. 2008. Field studies indicating reduced activity of ivermectin on small strongyles in horses on a farm in Central Kentucky. *Parasitol. Res.* 103: 209-215.
- LYONS, E.T.; TOLLIVER, S.C.; COLLINS, S.S. 2009. Probable reason why small strongyle EPG counts are returning "early" after ivermectin treatment of horses on a farm in central Kentucky. *Parasitol. Res.* 104: 569-574.
- LYONS, E.T.; TOLLIVER, S.C.; COLLINS, S.S. 2011. Field tests demonstrating reduced activity of ivermectin and moxidectin against small strongyles in horses on 14 farms in Central Kentucky in 2007-2009. *Parasitol. Res.* 108: 355-360.
- LYONS, E.T.; TOLLIVER, S.C. 2013. Further indication of low-level activity of ivermectin on immature small strongyles in the intestinal lumen of horses on a farm in Central Kentucky. *Parasitol. Res.* 112: 889-891.
- MATTHEWS, J.B. 2008. An update on cyathostomins: anthelmintic resistance and worm control. *Eq. Vet. Educ.* 20: 552-560.
- MATTHEWS, J.B. 2014. Anthelmintic resistance in equine nematodes. *Int. J. Parasitol: Drugs and Drug Resistance* 4: 310-315.
- MC KENNA, P.B. 2006. Further comparison of faecal egg count reduction test procedures: Sensitivity and specificity. *N. Z. Vet. J.* 54: 365-366.
- MEJIA, M., LICOFF, N.; RIERA, F.; ROLDAN, J.; LACAU-MEN-GIDO, I.M. 2011. Gastrointestinal nematode effect on the reproductive performance of mares and stallions under an intensive equine embryo transfer program. (Abstract) Session H. 23rd International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology Proceedings; Buenos Aires, Argentina, p. 168.
- MOLENTO, M.B., ANTUNES, J.; BENTES, R.N.; COLES, G.C. 2008. Anthelmintic resistant nematodes in Brazilian horses. *Vet. Rec.* 162: 384-385.
- MOLENTO, M.B.; CASTRO, I.; ABRAHAO, C.I.; ANTUNES, J. 2016. The perfect tripod for raising healthy horse: simple management, good diagnostic, and a smart team. *Jour. Equ. Vet. Sci.* 39 Supp: S48.
- MURPHY, D.; LOVE, S. 1997. The pathogenic effects of experimental cyathostome infections in ponies. *Vet. Parasitol.* 70: 99-110.
- NIELSEN, M.K. 2016a. Evidence-based considerations for control of *Parascaris* spp. infections in horses. *Equine Vet. Educ.* (en prensa) 01/2016; Doi: 10.1111/eve.12536. (Disponible: <https://www.researchgate.net/publications/288838038> verificado 20 de febrero 2016).
- NIELSEN, M.K. 2016b. Anthelmintic resistance-the need for diagnostic surveillance. 10th International Equine Infectious Diseases Conference. Abril 4-8, Buenos Aires, Argentina.
- NIELSEN, M.K.; HAANING, N.; OLSEN, S.N. 2006. Strongyle egg shedding consistency in horses on farms using selective therapy in Denmark. *Vet. Parasitol.* 135: 333-335.
- NIELSEN, M.K.; MITTEL, L.; GRICE, A.; ERSKINE, M.; GRAVES, E.; VAALA, W.; TULLY, R.C.; FRENCH, D.D.; BOWMAN, R.; KAPLAN, R.M. 2013. AAEP Parasite Control Guidelines, American Association of Equine Practitioner, p. 24 Disponible: www.aaep.org on verificado 03 de marzo de 2016).
- NIELSEN, M.K.; PFISTER, K.; Von SAMSON HIMMELSTJERNA. 2014a. Selective therapy in equine parasite control- Application and limitations. *Vet. Parasitol.* 202: 95-103.
- NIELSEN, M.K.; REINEMEYER, C.R.; DONECKER, J.M.; LEATHWICK, D.M.; MARCHIONDO, A.A.; KAPLAN, R.M. 2014b. Anthelmintic resistance in equine parasites - current evidence and knowledge gaps. *Vet. Parasitol.* 204: 55-63.
- OWEN, J.; SLOCOMBE, D.; DE GANNES, R.; LAKE, M.C. 2007. Macrocyclic lactone-resistant *Parascaris equorum* on stud farms in Canada and effectiveness of fenbendazole and pyrantel pamoate. *Vet. Parasitol.* 145: 371-376.
- OWEN, J.; SLOCOMBE, D.; COTE, 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. *Can. Vet. J.* 49: 56-60.

- PEREGRINE, A.; MOLENTO, B.; KAPLAN, R.; NIELSEN, M.K. 2014. Anthelmintic resistance in important parasites of horses: does it really matter? *Vet Parasitol* 201: 1-8.
- POOK, J.; POWER, M.; SANGSTER N.; HODGSON, J.; HODGSON, D. 2002. Evaluation of tests for anthelmintic resistance in cyathostomes. *Vet. Parasitol.* 106: 331-343.
- REINEMEYER, C.R.; NIELSEN, M.K. 2009. Parasitism and colic. *Vet. Clin. Equine* 25: 233-245.
- SANGSTER, N.C.; GILL, J. 1999. Pharmacology of anthelmintic resistance. *Parasitol. Today.* 15:141-146.
- SCHOUGAARD, H.; NIELSEN, M.K. 2007. Apparent ivermectin resistance of *Parascaris equorum* in foals in Denmark. *Vet. Rec.* 160: 439-440.
- SCHUMAGER, J.; TAINTOR, J. 2008. A review of the use of moxidectin in horses. *Equine Vet. Educ.* 20: 546-551.
- SCOTT, I.; BISHOP, R.M.; POMROY, W.E. 2015. Anthelmintic resistance in equine helminth parasites – a growing issue for horse owners and veterinarians in New Zealand? *N. Z. Vet. J.* 63: 188-198.
- SILVA PRADO, R.H.; CARNEIRO, A.S.; SALIBA, S.O.; DA SILVA, I.F.; MARTINS, S.J.; BORGES, I.; RALSTON, S.L. 2016. The effect of deworming on apparent digestion, body weight, and condition in heavily parasitized mare. *Jour. Equ. Vet. Sc.* 36: 83-89.
- STAFFORD, K.A.; MORGAN, E.R.; COLES, G. 2009. Weight-based targeted selective treatment of gastrointestinal nematodes in a commercial sheep flock. *Vet. Parasitol.* 164: 59-65.
- TOSCAN, G.; CESAR, A.S.; PEREIRA, R.C.F.; SILVA, G.B.; SANGIONI, I.A.; OLIVEIRA, L.S.S.; VOGEL FSF. 2012. Comparative performance of macrocyclic lactones against large strongyles in horses. *Parasitol International* 61: 550-553.
- TRAVERSA, D.; VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; DEMELER, J.; MILILLO, P.; SCHURMANN, S.; BARNES, H.; OTRANTO, D.; PERRUCCI, S.; DI REGALBONO, A.F.; BERALDO, P.; BOECKH, A.; COBB R. 2009. Anthelmintic resistance in cyathostomin populations from horse yards in Italy, United Kingdom and Germany *Parasite Vectors* 2 (Suppl. 2), p. 2.
- TRAVERSA, D.; CASTAGNA, G.; VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; MELONI, S.; BARTOLINI, R.; GEURDEN, T.; PEARCE, M.C.; WORINGER, E.; BESOGNET, B.; MILILLO, P.; D'ESPOIS, M. 2012. Efficacy of major anthelmintics against horse cyathostomins in France. *Vet. Parasitol.* 188: 294-300.
- URQHART, G.M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.L.; DUNN, A.M. 1996. *Veterinary Parasitology*. 2nd ed. Blackwell Science Ltd. Oxford. pp. 4-10, 42-47.
- VAN WYK, J.A. 2001. Refugia-Overlooked as Perhaps the Most Potent Factor Concerning the Development of Anthelmintic Resistance. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 68: 55-67.
- VAN WYK, J.A. 2006. Face facts: drenching with anthelmintics for worm control selects for worm resistance - and no excuses! En: *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 66: 4-13.
- VERONESI, F.; MORETTA, I.; MORETTI, A.; FIORETTI, D.P.; GENCHI, C. 2009. Field effectiveness of pyrantel and failure of *Parascaris equorum* egg count reduction following ivermectin treatment in Italian horse farms. *Vet. Parasitol.* 161: 138-141.
- VIGNAROLI, S.; ARDUSSO, G. 2014. Estudio de la acción antiparasitaria de los benzimidazoles (BZD) en caballos criados y mantenidos en distintos ambientes. xv *Jornadas de Divulgación Técnico Científicas 2014 – II Jornada Latinoamericana Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional de Rosario.*
- VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. 2012. Anthelmintic resistance in equine parasites-detection, potential clinical relevance and implications for control. *Vet. Parasitol.* 185: 2-8.
- VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; FRITZEN, B.; DEMELER, J.; SCHURMANN, S.; ROHN, K.; SCHNIEDER, T.; EPE, C. 2007. 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.* 144: 74-80.
- VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; TRAVERSA, D.; DEMELER, J.; ROHN, K.; MILILLO, P.; SCHURMANN, S. 2009. Effects of worm control practices examined by a combined fecal egg count and questionnaire survey on horse farms in Germany, Italy and the UK. *Parasite Vectors* 2 (suppl 2) S 3, p. 7.
- WAGHORN, T.; LEATHWICK, D.; MILLER, C.; ATKINSON, D. 2008. Brave or gullible: testing the concept that leaving susceptible parasites in refugia will slow the development of anthelmintic resistance. *N. Z. Vet J.* 56: 158-163.
- WHITE, N.A. 1981. Intestinal infarction associated with mesenteric vascular thrombotic disease in the horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 178: 259-262.
- WOOD, E.L.D.; MATTHEWS, J.B.; STEPHENSON, S.; SLOTE, S.; NUSSEY, D.H. 2013. Variation in fecal egg counts in horses managed for conservation purposes: individual egg shedding consistency, age effects and seasonal variation. *Parasitology* 140: 115-128.
- XIAO, L.; HERD, R.P.; MAJEWSKI, G.A. 1994. Comparative efficacy of moxidectin and ivermectin against hypobiotic and encysted cyathostomes and other equine parasites. *Vet. Parasitol.* 53: 83-90.