

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias de la Salud

**Efectividad de Ivermectina más Praziquantel contra
ciatostomas en équidos de trabajo agrícola en el cantón
Quinindé, provincia de Esmeraldas, Ecuador**

Artículo Académico

Nicole Carolina Flores Villavicencio

Medicina Veterinaria

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

Quito, 2 de julio de 2018

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ
COLEGIO CIENCIAS DE LA SALUD

**HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

Efectividad de Ivermectina más Praziquantel contra ciatostomas en équidos de trabajo agrícola en el cantón Quinindé, provincia de Esmeraldas, Ecuador

Nicole Carolina Flores Villavicencio

Calificación:

Nombre del profesor, Título académico

Juan Sebastián Galecio, MV., MSc

Firma del profesor

Quito, 2 de julio 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: Nicole Carolina Flores Villavicencio

Código: 00116027

Cédula de Identidad: 1717372385

Lugar y fecha: Quito, 2 de julio de 2018

Resumen

La resistencia antihelmíntica consiste en la disminución cuantitativa de la eficacia de un antiparasitario sobre una población parasitaria que antes era susceptible. La principal causa para el desarrollo de resistencia antihelmíntica es el tratamiento frecuente con una sola clase de fármaco. De esta forma los parásitos resistentes aumentan y transmiten sus genes de resistencia mientras se van reproduciendo. Existen pocos estudios sobre resistencia antihelmíntica contra ciatosomas en Ecuador. Además, pocos propietarios realizan exámenes coproparasitarios para evaluar la efectividad de un antiparasitario y con protocolos de desparasitación anticuados. El objetivo del presente trabajo es determinar la efectividad de la administración de Ivermectina más Praziquantel como tratamiento contra ciatostomas en équidos de trabajo agrícola en el cantón Quinindé, provincia de Esmeraldas, Ecuador. El estudio se realizó en el mes de julio de 2017. Se tomaron muestras fecales de 123 équidos de cuatro propiedades del cantón Quinindé. Se establecieron dos grupos de estudio: el Grupo Control con 59 équidos, a los que no se desparasitó, y el Grupo Ivermectina más Praziquantel (I+P) con 64 équidos a los cuales se les administró un compuesto genérico de Ivermectina 1.59% (0.2mg/kg) y Praziquantel 3.75% (0.48mg/kg) por vía oral (Farbiopharma S.A, Ecuador). Las muestras fecales fueron obtenidas en los días 0 y 14 del estudio ya sea directamente del recto del animal o del suelo inmediatamente después de que el animal haya defecado. Las muestras se analizaron mediante la técnica McMaster modificada, se calcularon los huevos por gramo de heces (hpg) y el porcentaje de reducción de la oviposición (PRO). En base a los hpg del día 0 del estudio, los équidos fueron clasificados en rangos de contaminadores (bajos contaminadores 0-200hpg, moderados contaminadores 200-500 hpg, altos contaminadores > 500 hpg) donde el 46% fueron altos contaminadores, 20% moderados contaminadores y 34% bajos contaminadores. En los días 0 y 14, el grupo control tuvo un hpg de 375 ± 356 y 350 ± 613 respectivamente, con un PRO del 7%. En cambio, el grupo I+P, los hpg de los días 0 y 14 fueron de 525 ± 463 y 0 ± 0 respectivamente, con un PRO del 100%. Se concluye que el uso de Ivermectina más Praziquantel, para el grupo de équidos del cantón Quinindé, tiene una efectividad completa (100%) para el tratamiento de ciatostomas. La desparasitación anual se debe realizar en los équidos durante el mes de abril o mayo junto con una evaluación de la efectividad del antiparasitario cada año.

Palabras clave: Ciatostomas, Ivermectina, Praziquantel, Quinindé, Efectividad.

Abstract

Anthelmintic resistance is the quantitative reduction of the efficacy of an antiparasitic drug over the parasites that were previously susceptible. The main cause for the development of anthelmintic resistance is the frequent use of a single class of drug. Thus, resistant parasites increase and transmit their resistance genes while reproducing. There are few studies regarding anthelmintic resistance against cyathostomes in Ecuador. Only few owners do fecal exams to evaluate the anthelmintic drug effectiveness, implement a strategic anthelmintic therapy, and co-grazing methods. The aim of the study is to determine the effectiveness of Ivermectin + Praziquantel as a treatment against cyathostomes in draught equids in Quinindé, Esmeraldas, Ecuador. This study took place in July 2017. Fecal samples were taken from one hundred and twenty-three equids from four properties in Quinindé. These equids were divided in two groups: Control Group with 59 equids that were not dewormed, and Group Ivermectin + Praziquantel (I+P) with 64 equids that were dewormed with a generic drug composed by Ivermectin 1.59% (0.2mg/kg) and Praziquantel 3.75% (0.48mg/kg) applied PO (Farbiopharma S.A, Ecuador). Fecal samples were obtained on days 0 and 14 directly from the animal's rectum or from the soil immediately after the animal defecated. Fecal samples were processed using modified McMaster technique, eggs per gram (epg) and Fecal Egg Count Reduction Test (FECRT) were performed. Based on the epg from day 0 of the study, the equids were classified in ranges of shedders (low shedders 0-200 epg, moderate shedders 200-500 epg, high shedders >500 epg) where 46% of the equids were high shedders, 20% moderate shedders, and 34% low shedders. In days 0 and 14, epg from Control Group was 375 ± 356 and 350 ± 613 respectively, with a FECRT of 7%. In contrast, the epg for I+P group in days 0 and 14 was 525 ± 463 and 0 ± 0 , with a FECRT of 100%. In conclusion, the use of Ivermectin and Praziquantel in equids from Quinindé is 100% effective against cyathostomes. Annual deworming must be performed during April or May along with the evaluation of the antiparasitic effectiveness.

Keywords: Cyathostomes, Ivermectin, Praziquantel, Quinindé, Effectiveness.

Tabla de contenido

Resumen.....	4
Abstract.....	5
Tabla de contenido.....	6
Índice de tablas.....	7
Índice de Figuras.....	8
Introducción.....	9
Materiales y Métodos.....	13
Resultados.....	18
Discusión.....	20
Conclusiones.....	28
Referencias.....	29

Índice de tablas

Tabla 1. Mediana, desviación intercuartil, PRO e intervalos de confianza de los conteos de huevos en heces en los días 0 y 14 de los grupos Control e I+P de los équidos del cantón Quinindé.....	19
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Índice de Figuras

Figura 1. Distribución de hpg de los grupos Control e I+P en los días 0 y 14. Se indican los límites de 200 y 500 hpg para la distribución de bajos, moderados y altos contaminadores.....	18
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Introducción

En las zonas de clima tropical, existe la predisposición por parte de los animales de producción a presentar infestaciones externas por ectoparásitos, en donde las garrapatas además de causar molestia, lesiones cutáneas, son vectores que pueden transmitir enfermedades como la Piroplasmosis y Anaplasmosis. Por tal razón, los propietarios de los animales utilizan varios tipos de compuestos para el tratamiento y prevención de este tipo de infestaciones, como son los baños con organofosforados, Amitraz, aplicación cutánea de piretroides sintéticos y administración oral o intramuscular de lactonas macrocíclicas. Sin embargo, el uso continuo e indiscriminado de estos compuestos puede generar resistencia por parte de los ectoparásitos. Las lactonas macrocíclicas, además de su uso como tratamiento y prevención para garrapatas, también se utilizan para parásitos gastrointestinales, especialmente para nemátodos. Debido a esto, el uso indiscriminado de lactonas macrocíclicas podría establecer una presión selectiva sobre los endoparásitos del animal y de esta forma conllevar a una resistencia antiparasitaria de los pequeños strongílidos. Al respecto, Martins (2001) indica que en Brasil existe la presencia de resistencia de las garrapatas a la Avermectina. Esta condición de resistencia a lactonas macrocíclicas por parte de las garrapatas, puede estar asociada al desarrollo resistencia de pequeños strongílidos.

Con respecto a lo anterior, la resistencia antihelmíntica se define como una disminución cuantitativa de la eficacia de un antiparasitario sobre la población parasitaria que antes era susceptible. Esta resistencia se desarrolla debido al tratamiento frecuente con una sola clase de fármaco, que hace que los genes de resistencia de los parásitos sobrevivan y aumenten conforme los parásitos se van reproduciendo y transmitiendo los genes de resistencia a los

antiparasitarios. De esta forma y a medida que se utilice más frecuentemente antiparasitarios en una población, la cantidad de parásitos resistentes predominaría sobre la población susceptible de parásitos. Solo están disponibles tres grupos de antihelmínticos para el control de nemátodos en equinos: benzimidazoles, tetrahidropirimidinas, y las lactonas macrocíclicas; cada grupo tiene diferente mecanismo de acción. En la actualidad, no se ha desarrollado nuevos antihelmínticos que tengan diferentes mecanismos de acción, por lo que es de suma importancia mantener su efectividad y alternancia de estos fármacos para el tratamiento de parásitos gastrointestinales y disminuir la infección entre los animales (Coles, *et al.*, 2006; Reinemeyer, 2009).

El fenómeno de la resistencia antihelmíntica se ha reportado en varios países tales como: Estados Unidos, Canadá, Australia, Nueva Zelanda, Reino Unido, Países Bajos (Bauer, 1986), Ecuador (Febendazol; Lepoutre, 2015), Chile (Ivermectina; Sievers & Alocilla, 2007), Argentina y Brasil (Ivermectina y Ricobendazol; Anziani, *et al.*, 2004). En Ecuador, existen pocos estudios sobre resistencia antihelmíntica contra ciatostomas y poca información sanitaria de la población equina en zonas de la región costa. En la mayoría de los lugares, se desparasita a los equinos con antihelmínticos cada dos meses cambiando el antiparasitario en cada desparasitación; pero apenas un 5% de estos lugares realiza exámenes coproparasitarios para la selección del tratamiento antihelmíntico en los animales que lo necesitan (Lepoutre, 2015).

Los ciatostomas son considerados como el grupo de helmintos más importante que afecta a los equinos y también son considerados como uno de los grupos que mayor prevalencia tienen en el mundo (Corning, 2009; Lester, *et al.*, 2013). La resistencia de estos parásitos es difícil de controlar, debido a su imposibilidad de revertir esta condición. La resistencia a un antihelmíntico se da por zonas dentro del país por lo que, en algunos lugares, se han

determinado resistencias variables que se deben a la rotación inexistente y al uso indiscriminado de los antiparasitarios. Esto provoca que los tratamientos antihelmínticos usados durante todos estos años dejen de tener un efecto sobre los endoparásitos de los équidos (Kaplan, 2004). Debido a este problema, es importante verificar si existe resistencia o no en una población de animales. .

La resistencia antihelmíntica depende de la presión de selección por los fármacos y el mantenimiento de la eficacia de los grupos de antihelmínticos que existen al momento. El desarrollo de la resistencia antihelmíntica en explotaciones de animales de producción está influenciado por factores propios de los parásitos y del medio ambiente. Es importante que se realicen investigaciones que promuevan programas de control de parásitos por cada región para que sirvan de guía para un correcto uso de antihelmínticos, debido a que su uso indiscriminado puede alterar condiciones de producción, económicos y de sostenibilidad en una zona en la cual ocurra un proceso de resistencia antihelmíntica (Márquez, 2003; Waller, 1993).

La información con respecto a la población ecuestre en el país es limitada y solo se cuenta con datos de la población de équidos hasta el año 2016, donde indica que hay un total de 348.382 animales de los cuales 219.134 son ganado caballar, 79.287 ganado mular y 49.960 ganado asnal. La población dentro de la provincia de Esmeraldas es de 34.212 (9,8% de la población del país) animales, en donde 1.357 son ganado asnal, 19.824 son ganado caballar y 13.032 son ganado mular (INEC, 2016).

Los problemas parasitarios son locales. Pueden existir en lugares específicos dentro de una misma zona, en los cuales puede existir resistencia, mientras que en otros lugares no tienen este problema, por lo que es importante analizar la efectividad de los antiparasitarios que se

administran a los animales, ya que los patrones de transmisión son diferentes en cada zona de un país. Tomando en cuenta la población equina en el año 2016 y la alta frecuencia del uso de lactonas macrocíclicas como tratamiento principal para la desparasitación interna y externa, se debería analizar la efectividad de estos antihelmínticos en diferentes zonas del país (Zajac, 2009).

El objetivo del presente trabajo es determinar la efectividad de la administración de Ivermectina más Praziquantel como tratamiento contra ciatostomas en équidos de trabajo agrícola en el cantón Quinindé, provincia de Esmeraldas, Ecuador.

Materiales y Métodos

Todos los procedimientos de manejo de animales, obtención y procesamiento de muestras, y administración de antiparasitarios fue aprobado por el comité de bioética de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad San Francisco de Quito, mediante el oficio No. 2017-03. El estudio se realizó en cuatro propiedades ubicadas en el cantón Quinindé, Esmeraldas, durante el mes de Julio de 2017. El sector presentó un clima templado, con una precipitación de 0 mm, humedad relativa 96,6% y una temperatura promedio de 24,7°C (INAMHI, 2017). Los équidos de estas propiedades se encontraban en las mismas condiciones tanto ambientales como de manejo: todos eran animales de carga para la industria de aceite de palma africana.

Selección de animales

En los équidos seleccionados, no hubo preferencias de raza ni sexo. Se incluyeron un total de 123 équidos. Los criterios de exclusión para la selección fueron hembras preñadas o con sospecha de preñez, animales estabulados, menores a 2 años o mayores a 20 años y animales que no estén clínicamente sanos. El peso de los équidos se estimó utilizando una cinta zootécnica, obteniendo un rango de pesos entre los 102-360 kg.

Grupos experimentales

Los équidos se distribuyeron en 2 grupos experimentales: un grupo control y un grupo Ivermectina más Praziquantel (I+P). La distribución de los grupos no fue aleatoria dentro de cada propiedad. La organización de los grupos Control e I+P se realizó por predios.

Los équidos del grupo control correspondieron a los predios de Guacharaco y El Descanso, en donde un total de 59 équidos fueron muestreados. Al ser el grupo control, no se administró el antiparasitario.

Los animales del grupo Ivermectina + Praziquantel pertenecieron a los predios Boca Arenal Alto y Bajo, en donde un total de 64 équidos fueron desparasitados con un compuesto genérico de Ivermectina 1.59% (0.2mg/kg) y Praziquantel 3.75% (0.48mg/kg) por vía oral (Farbiopharma S.A, Ecuador).

Obtención de muestras fecales

El muestreo fue realizado en el día 0 antes de administrar el antiparasitario, y 14 días después de la administración del antiparasitario (día 14). Las muestras fecales fueron obtenidas directamente del recto del animal o del suelo inmediatamente después de que el animal haya defecado. No se pudo obtener muestras en el 100% de los animales de ambos grupos durante primer y segundo muestreo, debido a dificultades en su obtención o por ausencia de heces en el recto. Para la obtención de muestras fecales se utilizaron guantes de manejo y vaselina líquida para extraer las heces del recto. Las muestras fueron guardadas en fundas de plástico e identificadas y antes de cerrar las fundas fueron comprimidas para eliminar el aire y evitar la eclosión de los huevos. Las muestras fueron almacenadas en un

cooler con hielo para mantener una temperatura de 4°C y ser transportadas al laboratorio del Hospital Docente de Especialidades Veterinarias de la Universidad San Francisco de Quito, para su posterior procesamiento y análisis. El tiempo transcurrido desde el muestreo hasta el procesamiento de las muestras fue de 12 a 18 horas.

Métodos analíticos

Para los conteos fecales se utilizó la técnica McMaster modificada, la cual consiste en realizar una flotación de los huevos para que sean separados de la materia fecal y se puedan observar y contar en el microscopio (Lepoutre, 2015; Zajac, 2009; Nielsen, 2015). Se tomó 4 gramos de la muestra fecal que no haya tenido contacto con el aire o la vaselina. La muestra fue pesada en un recipiente de plástico sobre una balanza. Luego, se agregó 26 ml de solución de flotación que consistía en sulfato de magnesio al 33.1% en agua destilada. La solución y la muestra se mezclaron utilizando un palo de madera hasta homogeneizar. Posterior a esto, inmediatamente se filtró la mezcla sobre una gasa y el filtrado se colocó en un recipiente de recolección de orina estéril y se obtuvo el líquido del recipiente con una pipeta para llenar la cámara McMaster sin que se formen burbujas de aire y dejar reposando por 5 minutos antes de analizar en el microscopio (LW Scientific Revelation III) para que los huevos floten en la solución.

Para analizar en el microscopio, se enfocó la cámara con el objetivo 4X, en donde se observó el área marcada de la cámara, luego se utilizó el objetivo 10X para hacer el conteo de huevos. El conteo de huevos se realizó tomando en cuenta solamente los huevos que se encontraban dentro de la rejilla de cada cámara. No se contaron los huevos sobrepuestos en los filos de la rejilla de la cámara. El conteo de huevos de cada muestra se realizó en las dos áreas

marcadas de la cámara y se fue sumando un total de estos. Para el cálculo de los huevos por gramo de heces (hpg), se utilizó la siguiente fórmula:

$$hpg = \frac{[(Total\ de\ huevos\ contados \times Volumen\ total^*) \div (Volumen\ contado^{**})]}{gr.\ de\ heces}$$

*Gramos de heces utilizados y la cantidad de solución de flotación. En este caso, al utilizar 4 gramos de heces y 26 ml de solución de flotación, el volumen total fue de 30ml.

**Volumen de la cámara donde se cuentan los huevos. Al ser dos áreas marcadas de las cámaras que representan 0,15 ml cada una, el volumen contado corresponde a 0,3ml.

Un total de 207 conteos fecales fueron realizados durante los dos muestreos. Las muestras del día 0 que se procesaron en la primera semana correspondieron a 59 équidos del grupo control y 39 del grupo I+P. Para el día 14, se contabilizaron 45 équidos del grupo control y 64 del grupo I+P.

Los hpg obtenidos de los équidos en los muestreos del día 0 fueron clasificados por rangos de contaminadores: bajos contaminadores (0-200 hpg), moderados contaminadores (200-500 hpg) y altos contaminadores (> 500 hpg) (AAEP, 2013).

Después de calcular los hpg de heces se calculó el porcentaje de reducción de la oviposición (PRO) con la siguiente fórmula:

$$PRO = \frac{hpg \text{ Basal} - hpg \text{ 14 días post Tratamiento}}{hpg \text{ Basal}} \times 100$$

El PRO hace una comparación de los conteos fecales basales previos al tratamiento con los conteos fecales 14 días post tratamiento con el antiparasitario. Los límites de corte utilizados para establecer la efectividad del antiparasitario fueron: si la mediana del PRO era mayor al 95% y el límite de confianza mayor al 90%, en donde los parásitos fueron considerados sensibles y el fármaco efectivo (Coles, 1992; Lepoutre, 2015).

Para calcular el coeficiente de variación de la técnica, se realizó 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 conteos de huevos en heces se analizó con la prueba de Shapiro Wilk, determinando que todas las distribuciones de los datos fueron no paramétricas. Por lo tanto, los datos se describieron mediante mediana y la desviación intercuartil. Adicionalmente, se obtuvieron los intervalos de confianza utilizando Bootstrapping. Los grupos se compararon mediante la prueba de suma de rangos de Wilcoxon o prueba U de Mann Whitney considerando significativos valores de $p < 0,05$.

Los conteos fecales se presentaron en tablas donde se comparan las medianas, desviación intercuartil, PRO e intervalos de confianza. Se graficaron los datos de cada grupo de los días 0 y 14 en un diagrama de valores individuales.

Resultados

En cuanto a la diseminación de huevos en la población del presente estudio, la mayoría de los individuos son altos contaminadores (46%), en segundo orden los bajos contaminadores (34%) y por último los moderados contaminadores (20%). La dispersión de los conteos fecales del grupo Control y el grupo I+P al día 0 fueron similares entre ambos grupos ($P= 0,40$) con valores de 375 ± 356 hpg para el grupo control y de 525 ± 463 hpg para el grupo I+P (Tabla 1).

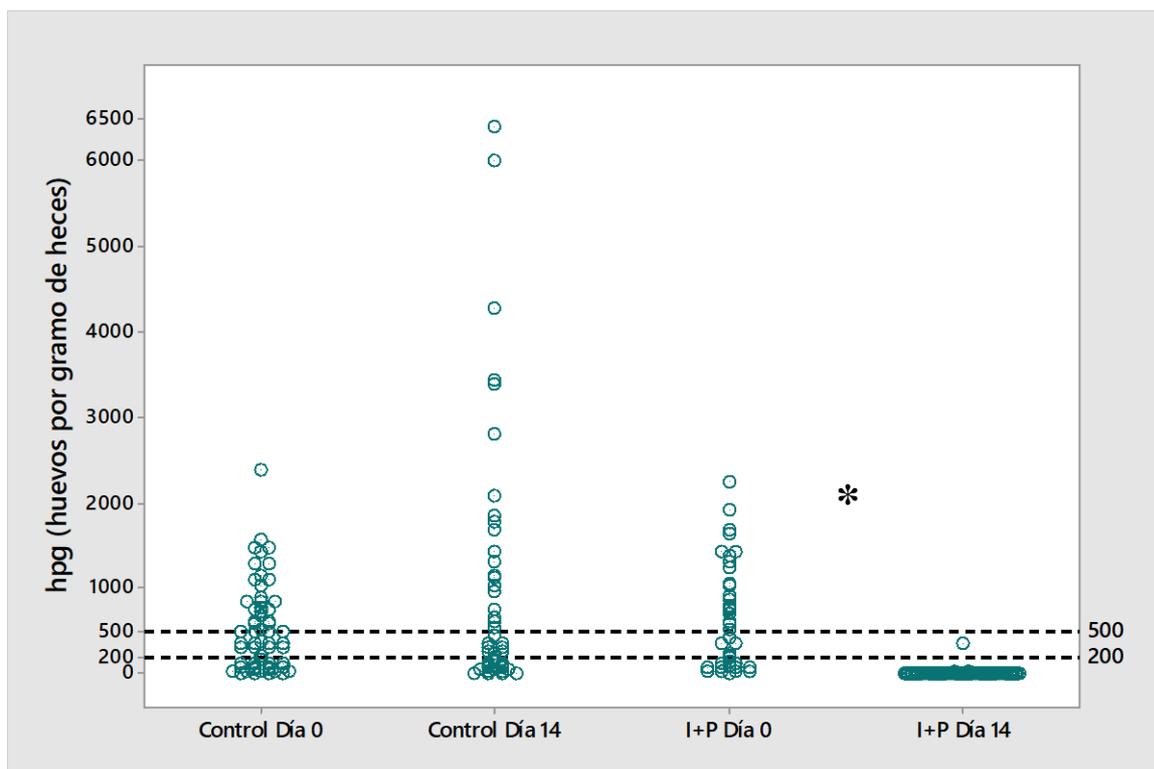


Figura 1. Distribución de hpg de los grupos Control e I+P en los días 0 y 14. Se indican los límites de 200 y 500 hpg para la distribución de bajos, moderados y altos contaminadores.

* Diferencia significativa del grupo I+P en los días 0 y 14. $p < 0,05$

Por otro lado, posterior a la administración de Ivermectina + Praziquantel, el grupo I+P presentó un conteo de 0 ± 0 hpg en el día 14, el cual al ser comparado con los conteos del día 0, se determinó una disminución significativa ($P=0,00$), lo cual condicionó una reducción en la cantidad de huevos depositados (PRO=100%) (Tabla 1).

La distribución de los datos de los conteos fecales del grupo control al día 14 no tuvieron diferencia significativa al realizar la comparación de estos datos con los del día 0 ($P=0,54$), indicando que se mantuvo la oviposición (PRO= 7%), con una mediana de los conteos de 350 ± 613 hpg.

Tabla 1. Mediana, desviación intercuartil, PRO e intervalos de confianza de los conteos de huevos en heces en los días 0 y 14 de los grupos Control e I+P de los équidos del cantón Quinindé.

Tratamientos	Día 0 (hpg*)	Día 14 (hpg*)	PRO** (%)	Intervalos de confianza (95%)
Control	375 \pm 356 (n=59)	350 \pm 613 (n=45)	7	-128,00 - 47,06
Ivermectina + Praziquantel	525 \pm 463 (n=39)	0 \pm 0 * (n=64)	100	100-100

*hpg: huevos por gramo de heces.

**PRO: Porcentaje de reducción de oviposición.

* Diferencia significativa en el grupo I+P en los días 0 y 14 $P= 0,000$.

Discusión

La sobre-dispersión consiste en una proporción de bajos contaminadores mayor a la de moderados y altos contaminadores, en donde pocos individuos son los que contaminan la pradera (AAEP, 2013). Los grupos de équidos del presente estudio no presentan este patrón de sobre-dispersión (Figura 1). Generalmente, los bajos contaminadores ocupan el 50 al 75 % de la población de equinos, los moderados contaminadores un 10- 20% y los altos contaminadores ocupan tan solo un 13 a 30% (AAEP, 2013). Según Kaplan y Nielsen (2010), solo el 20 a 30% de los equinos diseminan el 80% del total de los huevos en el ambiente. En el presente estudio, la mayoría de los équidos corresponden a los altos contaminadores, los cuales contaminan de manera significativa la pradera en relación con los bajos contaminadores.

Al comparar la contaminación de la pradera que ejerce una población de équidos con una curva de sobre-dispersión (AAEP, 2013), en comparación al tipo de dispersión de la población de los équidos del presente estudio, se establece que una población con un mismo número de animales, aquellos con sobre- dispersión contaminan con alrededor de 103.600 huevos por día, mientras que la población del presente estudio contamina 286.600 huevos diarios. Por lo tanto, los équidos de Quinindé contaminan casi 2.7 veces más la pradera en comparación a una población que tiene una curva de sobre- dispersión.

La supervivencia de las diferentes fases del parásito está determinada por factores ambientales como la humedad y la temperatura (Soulsby, 2007). La temperatura óptima para el desarrollo de los huevos y las larvas es de 25 a 33°C. Si la temperatura es igual o mayor a los 40°C, las fases larvarias del parásito mueren inmediatamente. La aplicación de un

tratamiento antiparasitario es necesaria cuando las condiciones ambientales son favorables para el desarrollo de los huevos y larvas del parásito (AAEP, 2013). La temperatura en las fechas de recolección de heces del presente estudio (julio, 2017) estuvo en 24,7°C. Por lo tanto, al estar bajo el rango óptimo para el desarrollo de las larvas, hay un aumento en la oviposición para garantizar la supervivencia del tercer estado larvario infectante (L3) en el ambiente. Bajo estas temperaturas los huevos embrionados desarrollan a L3 dentro de dos a tres semanas, donde L3 puede sobrevivir únicamente por unas semanas (AAEP, 2013). Si L3 puede sobrevivir por más tiempo, tiene mayor oportunidad de llegar a infectar a los individuos del predio.

Se ha reportado que las larvas en su etapa de L3 han sobrevivido temperaturas mayores a 35°C. Este fenómeno se da por la restricción en la migración y motilidad al momento que hay una baja humedad, ya que de esta forma no utilizan sus reservas de energía y prolongan su tiempo de vida. Los estados larvarios L3 pueden sobrevivir durante unas semanas a temperaturas mayores a 40°C dentro de las heces que retienen humedad (Nielsen, *et al.*, 2007; AAEP, 2013). Cuando las temperaturas son altas, la humedad es un factor que limita la supervivencia de L3, mientras que para las fases de desarrollo larvario (L1 y L2) la desecación es una amenaza para su supervivencia y la humedad favorece su desarrollo. Los factores que favorecen el desarrollo de las larvas no favorecen su supervivencia. Cuando las condiciones medioambientales son de temperatura alta y húmedas, el desarrollo de las larvas es rápido pero su tiempo de vida es corto. Por otro lado, en periodos secos la temperatura y la humedad son menores a los 25°C, por lo que las larvas se desarrollan lentamente y sobreviven por más tiempo (Banks, *et al.*, 1990; Quinelato, *et al.*, 2008). En el caso del cantón Quinindé, la temperatura que varía entre los 22 a 30°C durante el año. La época de mayor humedad y lluvias va desde enero hasta abril, y la época seca desde mayo a diciembre (INAMHI, 2006). Bajo estas

condiciones ambientales, los parásitos responden con un aumento en la oviposición para garantizar la supervivencia de las larvas. No existen estudios del comportamiento de la oviposición en zonas tropicales, por lo que sería recomendable realizar estudios para establecer un programa estratégico de desparasitación para estos animales.

Efectividad de Ivermectina más Praziquantel.

Para el grupo Control, el PRO (7%) fue menor a 95% y los límites de confianza (-128% a 47%) estuvieron por debajo del valor de corte de 90%. Estos valores indican que no hubo reducción significativa de huevos en heces y que se mantuvo la oviposición bajo las condiciones climáticas en el lugar.

Por otro lado, los resultados del PRO para Ivermectina + Praziquantel (100%) indican que hay completa susceptibilidad de los parásitos a la administración de Ivermectina y Praziquantel, en donde los límites de confianza fueron mayores al 90%. Los resultados de efectividad obtenidos fueron similares a los resultados para Ivermectina en el estudio de Chaparro (2008) en la ciudad de Bogotá. El porcentaje de reducción obtenido de 40 equinos tratados con Ivermectina en los municipios de Aguazul, El Yopal, Maní y Paz de Ariporo, fue del 100%. Los resultados de este estudio fueron similares a resultados de eficacia para Ivermectina reportados en Estados Unidos (>99,0%; Klei, *et al.*, 2001), Australia (99,9% Pook, *et al.*, 2002), Suecia (>99,9%; Osterman Lind, *et al.*, 2007), Polonia (99,99%; Zak, *et al.*, 2017), Italia (99,5%; Traversa, *et al.*, 2007), Inglaterra (>95%; Lester, *et al.*, 2013) y Ecuador (100%; Lepoutre, 2015). El estudio de Lepoutre (2015) evaluó la efectividad de Ivermectina en 19 equinos de siete diferentes propiedades en Machachi, Ecuador, donde se obtuvo una efectividad del 100% para Ivermectina. Según Comer, *et al.* (2006) obtuvo una reducción completa en la

oviposición de huevos de estróngilos para Ivermectina en 55 de 57 equinos en Reino Unido, luego de administrar por segunda vez el tratamiento, los dos equinos que aún tenían presencia de huevos ya no los presentaron.

Por otro lado, los resultados de este estudio y los estudios mencionados contrastan con estudios donde se reporta baja efectividad de Ivermectina en Brasil (Molento, *et al.*, 2008), quienes evaluaron la efectividad de efectividad de la Ivermectina y de Ivermectina más Praziquantel en 54 equinos distribuidos en seis grupos. El PRO de ambos antiparasitarios fue menor a 95% (5% para Ivermectina 1,8%; 65% para Ivermectina 2%; 56% para Ivermectina más Praziquantel) contra ciatostomas.

Otros estudios reportan resistencia a Ivermectina para *P. equorum* en Finlandia (Näreaho, *et al.*, 2011), Brasil (Canever, *et al.*, 2013). Una de las principales preocupaciones es la inefectividad del antiparasitario para ciatostomas. Los estudios de los autores mencionados en este trabajo reportan que la alta efectividad del uso de Ivermectina continúa. Sin embargo, otros estudios están reportando que existe resistencia a varios antihelmínticos además de la Ivermectina y otras lactonas macrocíclicas. La resistencia a múltiples fármacos se da en caso de inefectividad de múltiples fármacos al mismo tiempo (Canever, *et al.*, 2013). Debido a que existen pocos antiparasitarios para el tratamiento en equinos, es importante probar diferentes fármacos para tener una alternabilidad entre los antiparasitarios existentes y no crear resistencia al utilizar un solo antiparasitario.

Según, Klei, *et al.* (2001) quienes indican que el uso de Ivermectina oral tiene una alta efectividad contra 24 especies de ciatostomas, cinco especies de grandes estróngilos, ascáridos, oxiuros y *Gasterophilus spp.* En el presente estudio, a la observación de huevos en el

microscopio en el día 0, se identificaron en su mayoría huevos de pequeños estróngilos, aunque también se identificaron oxiuros, y grandes estróngilos, pero en menor cantidad. En el día 14 no se observaron huevos de ningún tipo.

En cuanto a estudios de efectividad de Ivermectina más Praziquantel, se ha reportado efectividad en Lima, Perú (Casas & Chávez, 2008) con una efectividad del 98,5% al 100% utilizando Doramectina 1,78% + Praziquantel 2.29% (doraQuest® duo). El estudio se realizó en 20 equinos de la Escuela de Equitación del Ejército de La Molina. También se reportó efectividad en Estados Unidos (>99,9%; Marley, *et al.*, 2004) donde indican que la combinación de lactonas macrocíclicas y Praziquantel ha dado una alta efectividad.

La prueba de reducción de oviposición actualmente es considerada como la prueba de oro para la determinación de la efectividad de un antihelmíntico. Esta prueba tiene baja sensibilidad, ya que puede existir la pérdida de huevos durante la colecta, almacenamiento y procesamiento de las muestras fecales. Los conteos fecales pueden subestimar la cantidad real de huevos de la muestra fecal, por lo que, si un conteo tiene como valor 0, no necesariamente significa que, al realizar la PRO, el porcentaje de efectividad del fármaco sea del 100%. Se debe tomar en cuenta la sensibilidad de la técnica que se utilice para el conteo fecal para realizar la prueba de reducción de oviposición y así no hacer una sobreestimación de la efectividad del fármaco (Matthews, *et al.*, 2012; Vidyashankar, 2012; Lepoutre, 2015). Para comprobación del buen funcionamiento de la técnica McMaster, se podría realizar un duplicado de dos muestras al azar trimestralmente (AGROCALIDAD, 2015).

Las fases de desarrollo de los parásitos que no fueron expuestos al tratamiento antiparasitario se encuentran en refugia. La refugia consiste en la proporción de parásitos que

no está expuesta al antiparasitario al momento del tratamiento. Las fases larvarias de estos parásitos en la pastura conforman la mayor parte de la refugia y también están incluidos las fases de parásitos que no tienen contacto con el antiparasitario dentro del animal, los cuales son las fases larvarias de los ciatostomas que se enquistan en la mucosa intestinal (Soulsby, 2007; Dobson, *et al*, 2001). Es importante considerar el papel de la refugia para preservar la eficacia de los antihelmínticos dentro de un programa integral de control de parásitos en équidos. Al mantener una carga adecuada de parásitos en refugia, se mantiene parásitos potencialmente susceptibles que, al reproducirse con parásitos resistentes, disminuye la velocidad de transmisión de alelos de resistencia en la población parasitaria (Zajac, 2009; van Wyk, 2001).

Dentro de las limitaciones de este estudio estuvieron la falta de identificaciones de los animales, por lo que no se pudo hacer un cálculo de los conteos fecales y PRO pareados, sino que esto se hizo por predios. Además de la falta de identificación de los animales, los propietarios no manejaban ningún registro ni fichas de los équidos, por lo que no se pudo saber la edad exacta de los animales o si estos habían sido desparasitados recientemente. Debido a estas dificultades durante el estudio, se hubieran realizado encuestas en esta zona para saber el manejo que tienen los propietarios con los équidos que se utilizan como animales de carga.

Para disminuir la alta contaminación de la pradera en la zona del presente estudio, se debe seguir un programa de desparasitación estratégica para estos équidos. De acuerdo con los registros del INAMHI (2006), la temperatura de Quinindé fluctúa entre los 22 y 30°C. La temporada de lluvias (invierno) va desde enero hasta abril, en donde la temperatura es óptima para el desarrollo de los huevos y L3, pero el desarrollo es lento la supervivencia de L3 es larga. Tomando en cuenta esto, se debería desparasitar una vez al año al final del invierno

(finales de abril o inicios de mayo), ya que al comenzar la época seca (mayo a diciembre), hay un incremento en la oviposición para que haya un aumento en la cantidad de larvas que sobreviven por un periodo corto de tiempo. Al desparasitar en estos meses, disminuye la cantidad de huevos en la pradera, por lo que la contaminación va a ser menor. Debido a que los équidos no tienen identificaciones y no se realizarán debido a temas de costos, se debe desparasitar a la población entera. Desde el punto de vista de mantener refugia, no se deberían desparasitar a los bajos contaminadores, sin embargo, en base a que no se dispone de los recursos económicos para realizar una identificación de cada animal y realizar exámenes de laboratorio individuales, se realizará la desparasitación de todo el grupo en una época específica del año, donde exista un aumento de la oviposición, pero que las larvas tengan menos tiempo de supervivencia. Se recomendaría realizar la prueba de reducción de oviposición cada año antes de desparasitar a los individuos. Esta prueba se podría realizar seleccionando 7 a 10 animales de la población para determinar si se mantiene el mismo antiparasitario o se debe cambiar (AAEP, 2013).

Los propietarios de los équidos del presente estudio no manejan ningún tipo de programa antiparasitario ni llevaban a cabo algún manejo específico de los animales, por lo que la desparasitación de todos los animales no funcionará sin tener en cuenta un manejo de estos équidos. Basándose en la información de Molento, *et al.* (2008) y AAEP (2013), para evitar la diseminación de nemátodos resistentes a los antihelmínticos en la zona del presente estudio, se debería evaluar anualmente la efectividad de cada predio para tomar en cuenta si debe realizarse un cambio o no del producto. Adicionalmente, se podría realizar co-pastoreo con bovinos u ovinos dentro del mismo potrero para que estos consuman las fases larvianas y disminuir la contaminación de la pradera. Cabe mencionar, que los rumiantes no se ven afectados al ingerir las larvas de un parásito de équidos, debido que los parásitos son especie

es específico (Almeida, *et al.*, 2009; Laugier & Sallé, 2015). Tomando en cuenta el desarrollo de los ciatostomas que depende de factores ambientales, se podría realizar estudios en otras zonas de la región litoral y otras regiones del país para analizar el comportamiento de estos parásitos y cómo estos se adaptan a las condiciones medioambientales de cada zona.

Praziquantel

El Praziquantel ha sido utilizado para el tratamiento de céstodos y tremátodos. A diferencia de la técnica para conteos fecales de huevos de ciatostomas, el conteo de huevos de céstodos se realiza con una técnica de flotación con solución salina o de sacarosa y realizando una centrifugación. La observación de huevos de céstodos es cualitativa, por lo que mide con cruces (+ a +++). En el presente estudio no se realizó la observación cualitativa de huevos para céstodos, y tampoco se encontraron huevos de estos mediante la técnica McMaster. Teóricamente la prueba de oro para determinar si hay efectividad de un antihelmíntico es contando el número de parásitos vivos y muertos del animal que sigue el tratamiento o bien comparando el número de parásitos de animales tratados y no tratados. Esta estimación parasitaria es muy larga como para realizarla en un grupo grande de animales, además que esto se hace mediante la realización de necropsias de al menos seis animales de cada grupo tratamiento. (Casas & Chávez, 2008; Vidyashankar, 2012).

La resistencia a un fármaco tiende a evolucionar lentamente con el paso del tiempo y no se muestran signos de resistencia sino hasta estados más avanzados. Si el parásito tiene alta patogenicidad, la resistencia se manifiesta como fallo en el tratamiento que mantiene signos de enfermedad. Para parásitos con baja patogenicidad, la detección de la resistencia solo se hace si se corren pruebas específicas (Vidyashankar, 2012). Para la preservación de la eficacia del

uso de antihelmínticos, es necesario realizar un diagnóstico oportuno y detectar temprano los signos que puedan sugerir resistencia, especialmente hacia las lactonas macrocíclicas que, según los estudios mencionados, aún mantienen una alta efectividad como tratamiento antiparasitario (von Samson Himmelstjerna, 2012).

Conclusiones

El uso de Ivermectina más Praziquantel para el grupo de équidos del cantón Quinindé, Esmeraldas, Ecuador, tiene una efectividad completa (100%) para el tratamiento de ciatostomas.

La desparasitación anual se debe realizar en los équidos durante el mes de abril o mayo junto con una evaluación de la efectividad del antiparasitario cada año.

Referencias

- AGROCALIDAD (2015). Diagnóstico de parásitos mediante la técnica de McMaster.
Laboratorio de Parasitología.
- Almeida, G. L., Molento, M. B., Jardim, J. O. & Flores, W. N. (2009). Efeito da criação consorciada de ovinos como estratégia de controle de *Parascaris equorum* em equinos.
Revista Acadêmica: Ciência Animal, 7, (3), 305-310.
- AAEP. (2013). AAEP Parasite Control Guidelines. *AAEP*, 1-24.
- Anziani, O.S., Suarez, V., Guglielmone, A.A., Warnke, O., Grande, H. & Coles, G.C. (2004). Resistance to benzimidazole and macrocyclic lactone anthelmintics in cattle nematodes in Argentina. *Veterinary Parasitology*, 122, 303- 306.
- Banks, D.J.D., Singh, R., Barger, I.A., Pratap, B. & Le Jambre, L.F. (1990). Development and survival of infective larvae of *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in a tropical environment. *International Journal for Parasitology* 20, 155–160.
- Bauer, C., Merkt, J., Janke-Grimm, G. & Bürger, H. (1986). Prevalence and control of benzimidazole-resistant small strongyles on German thoroughbred studs.
Veterinary Parasitology, 21, 1889- 203.

Canever, R. J., Braga, P. R., Boeck, A., Grycajuck, M., Bier, D., & Molento, M. B.

(2013). Lack of *Cyathostomin* sp. reduction after anthelmintic treatment in horses in Brazil. *Veterinary Parasitology*, 194, 35-39.

Casas, E. & Chávez, A. (2008) *Evaluación de la eficacia de dos antiparasitarios vía oral conteniendo, Doramectina/ Praziquantel (doraQuest® duo) para el control de parásitos en equinos. Perú.* (Tesis, Universidad Nacional Mayor de San Marcos). Recuperado el 5 de mayo de 2018 de:

<http://www.agrovvetmarket.com/pdf/antiparasitario/DoraquestLA/doraQuest%20duo%20Equinos%202008.pdf>

Chaparro, E. (2008) *Determinación de resistencia antihelmíntica frente a las lactonas macrocíclicas por parte de nemátodos gastrointestinales del equino mediante test de reducción de la oviposición (FECRT) en los municipios de Aguazul, El Yopal, Maní y Paz de Ariporo, Departamento del Casanare.* (Tesis, Universidad de la Salle). Recuperado el 26 de abril de 2018 de:

<http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/6008/T14.08%20C365d.pdf;sequence=1>

Coles, G., Jackson, F., Pomroy, W., Prichard, R., von Samson Himmelstjerna, G.,

Silvestre, A., *et al.*, (2006). The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 136, 167- 185.

Comer, K. C., Hillyer, M. H. & Coles, G. C. (2006). Anthelmintic use and resistance on thoroughbred training yards in the UK. *Veterinary Record*, 58, 596-598.

Cornig, S. (2009). Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. *Parasites & Vectors* 2, Suppl 2, 1-6.

Dobson, R.J., Besier, R.B., Barnes, E.H., Love, S.C.J., Visard, A., Bell, L.F., Le Jambre, L.F. (2001). Principles for the use of macrocyclic lactones to minimise selection for resistance. *Australian Veterinary Journal* 79, 756–761.

INAMHI (2006) *Anuario meteorológico 2006*. Quito: INAMHI. Recuperado el 26 de junio de 2018 de: <http://www.serviciometeorologico.gob.ec/wp-content/uploads/anuarios/meteorologicos/Am%202006.pdf>

INAMHI (2017). Datos meteorológicos del mes de Julio 2017.

INEC (2016). *Encuesta de superficie y producción agropecuaria continua*. Recuperado el 24 de abril de 2018 de: www.ecuadorencifras.gob.ec/estadisticas-agropecuarias-2/

Kaplan, R. (2004). Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. *TRENDS in Parasitology*, 20 (10) 477- 481.

Kaplan, R., & Nielsen, M. (2010). An evidence-based approach to equine parasite control: It ain't the 60s anymore. *Equine Veterinary Education*, 22 (6), 306-316.

Klei, T. P., Rehbein, S., Visser, M., Langholff, W. K., Chapman, M. R., French, D. D., et al. (2001). Re-evaluation of ivermectin efficacy against equine gastrointestinal parasites. *Veterinary Parasitology*, 98, 315-320.

- Laugier, C. & Sallé, G. (2015). La résistance aux anthelminthiques chez les nématodes des équidés. *Bulletin De l'Academie Veterinaire De France*, 168, 303-313.
- Lepoutre, A. (2015). *Determinación de resistencia de ciatostomas equinos a febendazol o ivermectina en caballos en pastoreo de Machachi, Ecuador*. (Tesis, Universidad San francisco de Quito). Recuperado el 1 de septiembre de 2018 de: <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/4466/1/114026.pdf>
- Lester, H. E., Spanton, J., Stratford, C. H., Bartley, D. J., Morgan, E. R., Hodgkinson, J. E., *et al.* (2013). Anthelmintic efficacy against cyathostomins in horses in Southern England. *Veterinary Parasitology*, 19, 189-196.
- Marley, S. E., Hutchens, D. E., Reinemeyer, C.R., Holste, J. E., Paul, A. J., Rehbein, S. (2004). Antiparasitic activity of an Ivermectin and Praziquantel combination paste in horses. *Veterinary Therapeutics*, 5, (2). 105-119.
- Márquez, D. (2003). Resistencia a los antihelmínticos: origen, desarrollo y control. *Revista Corpoica*, 4 (1) 55-71.
- Martins, J. (2001). Avermectine resistance of the cattle tick *Boophilus microplus* in Brazil. *The Veterinary Record*, 149(2), pp. 64
- Matthews, J. B., McArthur, C., Robinson, A., & Jackson, F. (2012). The in vitro diagnosis of anthelmintic resistance in cyathostomins. *Veterinary Parasitology*, 185, 25-31.

- Molento, M., Antunes, J., Bentes, R., & Coles, G. (2008). Anthelmintic resistant nematodes in Brazilian horses. *Veterinary Record*, 162, 384-385.
- Näreaho, A., Vainio, K., & Oksanen, A. (2011). Impaired efficacy of ivermectin against *Parascaris equorum*, and both ivermectin and pyrantel against strongyle infections in trotter foals in Finland. *Veterinary Parasitology*, 182, 372-377.
- Nielsen, M. K., Kaplan, R. M., Thamsborg, S. M., Monrad, J. & Olsen, S. N. (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*, 174, 23-32.
- Nielsen, M.K., (2015). Internal parasite screening and control, 336-340. In: Robinson N.E.& Sprayberry, K.A.(Eds.), *Robinson´s Current Therapy in Equine Medicine*. Missouri: Elsevier.
- Osterman Lind, E., Kuzmina, T., Ugglå, A., Waller, P.J., Höglund, J. (2007). A field study on the effect of some anthelmintic on cyathostomins of horses in Sweden. *Veterinary Research Communications*, 31, 53–65.
- Pook, J. F., Power, M. L., Sangster, N. C., Hodgson, J. L., & Hodgson, D. R. (2002). Evaluation of tests for anthelmintic resistance in cyathostomes. *Veterinary Parasitology*, 106, 331-343.
- Quinelato, S., Couto, M. C., Ribeiro, B. C., Santos, C. N., de Souza, L. S., dos Anjos, D. H., et al. (2008). The ecology of horse cyathostomin infective larvae

- (Nematoda-Cyathostominae) in tropical southeast Brazil. *Veterinary Parasitology*, 153, 100-107.
- Reinemeyer, C. (2009). Rational Approaches to Equine Parasite Control. *Advances in equine nutrition*, 4.
- Sievers, G. & Alocilla, A. (2007). Determinación de resistencia antihelmíntica frente a ivermectina de nematodos del bovino en dos predios del sur de Chile. *Archivos de Medicina Veterinaria* 39, 1.
- Soulsby, L. (2007). New concepts in strongyle control and anthelmintic resistance: The role of refugia. *The Veterinary Journal*, 174, 6–7.
- Traversa, D., Klei, T.R., Iorio, R., Paoletti, B., Lia, R.P., Otranto, D., Sparagano, O.A.E., Giangaspero, A. (2007). Occurrence of anthelmintic resistant equine cyathostome population in central and southern Italy. *Preventive Veterinary Medicine*, 82, 314–320.
- van Wyk, J. A. (2001). Refugia - Overlooked as perhaps the most potent factor concerning the development of anthelmintic resistance. *The Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 68, 55-67.
- Vidyashankar, A. N., Hanlon, B. M., & Kaplan, R. M. (2012). Statistical and biological considerations in evaluating drug efficacy in equine strongyle parasites using fecal egg count data . *Veterinary Parasitology*, 185, 45-56 .

von Samson-Himmelstjerna, G. (2012). Anthelmintic resistance in equine parasites detection, potential clinical relevance and implications for control. *Veterinary Parasitology*, 185, 2-8.

Waller, P. (1993). Towards sustainable nematode parasite control of livestock. *Veterinary Parasitology*, 48, 295- 309.

Zajac, A. (2009). Integrated Control of Equine Cyathostomes, 443-447. In: *Robinson, N. E. & Sprayberry, K.A. Current Therapy in Equine Medicine Equine Medicine*. St. Louis: Saunders Elsevier.

Zak, A., Siwinska, N., Slowikowska, M., Borowicz, H., Kubiak, K., Hildebrand, J., *et al.* (2017). Searching for ivermectin resistance in a Strongylidae population of horses stabled in Poland. *BMC Veterinary Research*, 13, 210.