

Estudio sobre resistencia frente a los bencimidazoles de pequeños estróngilos (Cyathostominae) del equino en el sur de Chile*

A survey of benzimidazole resistance in small strongyles (Cyathostominae) in the south of Chile

C. von WITZENDORFF¹, Dipl.-Biol.; I. QUINTANA², T.M.; G. SIEVERS², Dr. med.vet.;
T. SCHNIEDER¹, Prof. Dr. med.vet.; G. von SAMSON-HIMMELSTJERNA¹, Dr. med.vet.

¹Institut für Parasitologie, Tierärztliche Hochschule, Bünteweg 17, D-30559, Hannover, Germany.

²Parasitología, Instituto de Patología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile.

SUMMARY

A survey of three stables in the Xth Region in Chile involving 100 horses was performed to evaluate the presence of benzimidazole (BZ)-resistance in the equine small strongyles. BZ-resistance was examined by two different methods, namely the faecal egg count reduction test (FECRT) and the egg hatch assay (EHA). Faecal samples were collected seven days before and seven days after treatment with fenbendazole to determine a possible increase in the degree of resistance. The arithmetic means of the faecal egg counts were between 476.6 (S.D. \pm 356.7) and 1095.3 (S.D. \pm 755) epg before and between 137.1 (S.D. \pm 171.8) and 725 (S.D. \pm 481.3) epg after treatment. The FECRT indicated resistance in all studied farms with a faecal egg count reductions (FECR) of 27% (S.D. \pm 33), 26.5% (S.D. \pm 26.9) and 83.9% (S.D. \pm 22.8). With the EHA BZ-resistance was found in one stable before (LD_{50} = 0.141 μ g TBZ/ml) and in two stables after treatment with fenbendazole (LD_{50} = 0.149 and 0.158 μ g TBZ/ml).

Palabras claves: Cyathostominae, resistencia, bencimidazoles.

Key words: Cyathostominae, resistance, benzimidazoles.

INTRODUCCION

Los pequeños estróngilos (Cyathostominae) son los nemátodos más frecuentes de los equinos de todas las edades. La represión frecuente, parcial y subterapéutica de estos parásitos con bencimidazoles (BZ) ha causado el desarrollo universal de resistencia frente a dichos productos. Según Prichard y col. (1980) hay resistencia cuando, frente a una dosis terapéutica de un antihelmíntico, sobrevive un mayor número de individuos que los que sobreviven en

una población normal de parásitos. Esta resistencia es hereditaria, y el uso repetido de antihelmínticos con el mismo mecanismo de acción selecciona los individuos resistentes aumentando su población en forma creciente (Prichard, 1994; Sangster, 1999).

Los BZ producen un efecto letal en los parásitos nemátodos al detener la polimerización de la tubulina; en cambio, los mismos productos presentan una afinidad menor a la tubulina del huésped mamífero y, por ello, no son afectados (Martin y col., 1997). Para detectar resistencia frente a los BZ se usan, por ejemplo, la prueba de reducción de oviposición o FECRT (faecal egg count reduction test) y la prueba de eclosión de huevos o EHA (egg hatch assay) (Várady y Čorba 1999). La prueba de FECR determina el efecto

Aceptado: 23.04.2003.

* Trabajo realizado en el marco del Convenio DAAD-CONICYT N° 1999 2 109.

letal que el antihelmíntico tiene sobre los estados adultos de los nemátodos, mientras que la prueba EHA se basa en la actividad ovicida de los BZ. Según Coles y col. (1992) una reducción de oviposición <90% en la prueba FECRT y una dosis letal 50 (DL₅₀) a una concentración >0.1 µg BZ/ml en la prueba EHA indican la presencia de una población de pequeños estróngilos (Cyathostominae) resistente.

El primer informe sobre resistencia de los pequeños estróngilos del equino a los BZ proviene de los Estados Unidos (Drudge y Lyons, 1965). Luego se suceden informes de todo el mundo: Nueva Zelanda (Hope y Kemp, 1980), Australia (Kelly y col., 1981), Canadá (Slocombe y col., 1989), Sudáfrica (Van Wyk y Van Wijk, 1992), Europa (Ullrich, 1987; Dorny y col., 1988; Nilsson y col., 1989; O'Brien y Geraghty, 1990; King y col., 1990; Fisher y col., 1992; Ihler, 1995; Borgsteede y col., 1997; Craven y col., 1999; Várady y col., 2000), Estados Unidos (Young y col., 1999) y en Brasil (Luz Pereira y col., 1994).

El objetivo del presente estudio fue determinar en el sur de Chile la presencia de pequeños estróngilos del equinos resistentes a los bencimidazoles. Para detectar la resistencia se usaron las pruebas FECRT y EHA con los límites recomendados por Coles y col. (1992).

MATERIAL Y METODOS

El trabajo se realizó entre marzo y julio del año 2000 en tres planteles de equinos ubicados en la Xª Región de Chile: Ubicados en Valdivia (1), Riñihue (2) y Frutillar (3). En los planteles de 1 y 2 se habían establecido programas de aplicación de BZ desde el año 1979 y, sólo recientemente, se inició la administración de lactonas macrocíclicas. El plantel 3 se formó en el año 1994 y no se ha aplicado un programa antihelmíntico regular, siendo sólo esporádico el uso de BZ.

Se obtuvieron muestras fecales desde el recto de todos los equinos de los tres planteles y, mediante la técnica de McMaster modificada por Schmidt (1971), se seleccionaron aquellos que presentaban recuentos superiores a 150 huevos

tipo estróngilido por gramo de materia fecal (hpg). En el plantel 1 se trabajó con 32 equinos, en el 2 con 36 y en el 3 con 32.

Siete días después del primer muestreo se trataron los equinos seleccionados con 7,5 mg/kg de fenbendazol (Panacur®, Hoechst Roussel Vet S.A.) y una semana después del tratamiento se llevó a cabo otro recuento de huevos. Con los recuentos de huevos antes y después del tratamiento de los equinos se realizó la prueba FECR utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{FECR (\%)} = (\text{hpg}_{\text{at}} - \text{hpg}_{\text{dt}}) \times 100 / \text{hpg}_{\text{at}}$$

FECR: reducción de oviposición

at: antes del tratamiento

hpg: huevos por gramo de materia fecal

dt: después del tratamiento

Para la realización de la prueba EHA fue necesario detener el desarrollo de las larvas dentro de los huevos en la materia fecal inmediatamente después de haber sido obtenidas desde el recto. Para ello, todas las muestras se sometieron a refrigeración con hielo hasta ser procesadas en el laboratorio. Luego de haber realizado el recuento de huevos de cada muestra, éstas se mantuvieron a 4° C durante la noche y, a la mañana siguiente se obtuvo el máximo de huevos por medio de una flotación en una solución saturada de cloruro de sodio y una posterior sedimentación en un litro de agua.

Se preparó una solución base de BZ con el producto tiabendazol (TBZ) (Sigma, Steinheim) como sustancia pura, en agua destilada + 0.074% HCl. Después de la adición de 1990 µl de suspensión de huevos a cada pocillo de placas de cultivo de 24 pocillos (Renner GmbH, Dannstadt), se agregaron 10 µl de la solución base de TBZ en 11 diferentes concentraciones. Las concentraciones finales en cada pocillo fueron: 0.01; 0.03; 0.05; 0.07; 0.09; 0.1; 0.125; 0.15; 0.2; 0.25 y 0.3 µg TBZ/ml. Como control se preparó un pocillo con agua con 0.074% HCl. Para asegurar el resultado se realizó una réplica de todas las concentraciones y del control. Después de una incubación durante 48 horas, a aproximadamente 26° C, se detuvo el desarrollo

de las larvas agregando 2 gotas de solución de Lugol. Se contaron 100 estadios (larvas eclosionadas y huevos muertos) en todas las concentraciones y se determinó la media aritmética entre las réplicas. Los resultados se corrigieron con los resultados obtenidos en los pocillos control, y se calculó la DL_{50} respectiva, según el análisis de Probit mediante el programa SigmaPlot 2000, Jandel (von Samson-Himmelstjerna y col., 2002). La $DL_{50} > 0.1 \mu\text{g}$ TBZ/ml indicó la presencia de cepas resistentes frente a los BZ en la población de pequeños estróngilos respectiva de cada equino. En caso de encontrarse recuentos superiores a 150 hpg después del tratamiento, se realizó otra prueba de EHA.

Con las DL_{50} individuales de cada equino se calculó la DL_{50} total para cada plantel mediante la media aritmética de los datos obtenidos en cada concentración. No se calculó la desviación estándar.

Con una parte adicional de cada muestra fecal se realizaron cultivos de larvas mediante la técnica de Roberts y O'Sullivan (1950). Las larvas obtenidas se conservaron en etanol 70%. Se mezclaron todas las larvas de cada muestreo del plantel respectivo y se diferenciaron 100 larvas.

Una correlación de los parámetros "reducción de oviposición" y DL_{50} se determinó según Spearman (Craven y col., 1999). La distribución normal de los datos se examinó

según el análisis de Kolmogorov-Smirnov mediante el programa SigmaStat 2.0, Jandel. Las diferencias significativas entre los planteles antes y después del tratamiento en cada plantel se calcularon mediante las pruebas "t-student" o "Mann Whitney Sum Test" usando el mismo programa.

RESULTADOS

Las medias aritméticas de la oviposición antes y después del tratamiento con fenbendazol se presentan en el cuadro 1. Hubo diferencia significativa antes y después del tratamiento en el plantel 3 ($p < 0.001$), mientras que no se encontró diferencia significativa entre los recuentos de huevos efectuados en el 2 ($P = 0.842$) y en el 1 ($p = 0.924$). La reducción de oviposición (FECR) se presenta en el cuadro 2. En el plantel 1, el 50% de los valores se distribuyeron entre 0 y 57%, con una dispersión de la reducción de la oviposición que alcanzó 87.5%; en el 2 el 50% de los valores se distribuyeron entre 0 y 53%, con una dispersión de la reducción de la oviposición que alcanzó un 75%; y, en el 3, el 50% de los valores se encontraron entre 78.2 y 100%, con una dispersión de un 0% (figura 1). Hubo diferencia significativa ($p < 0.001$) entre los resultados obtenidos en el 3 y aquellos obtenidos en el 1 y 2. No hubo diferencia significativa ($p = 0.854$) entre las reducciones obtenidas en el plantel 1 y 2.

CUADRO 1. Efecto de un tratamiento con fenbendazol sobre la oviposición (hpg) de estróngilos y porcentaje de reducción de la oviposición (FECRT) en equinos de tres planteles del sur de Chile. Los resultados son expresados en medias aritméticas (MA) \pm desviación estándar (D.E).

Effect of a treatment with fenbendazol on strongyles faecal egg count (hpg) and percentage of egg count reduction (FECRT) in horses of 3 farms in the south of Chile. Results are expressed in arithmetic mean (MA) \pm standard deviation (D.E.).

Plantel	Hpg (MA + D.E.)		FECRT % (MA \pm D.E.)	P
	Antes tratamiento	Después tratamiento		
1	476.6 \pm 356.7	483.3 \pm 361.3	27.0 \pm 33.0	0.842
2	715.5 \pm 543.8	725.0 \pm 481.3	26.5 \pm 26.9	0.924
3	1095.3 \pm 755.0	137.1 \pm 171.8	38.9 \pm 22.8	< 0.001

CUADRO 2. Concentración de tiabendazol ($\mu\text{g TBZ/ml}$) necesarios para alcanzar la dosis letal 50 (DL_{50}) y la dosis letal 96 (DL_{96}) de las larvas en los huevos obtenidos mediante la prueba de eclosión de huevos (EHA) de estrongilidos en muestras fecales de equinos de 3 planteles del sur de Chile antes y después de un tratamiento con fenbendazol.

Concentration of tiabendazol ($\mu\text{g TBZ/ml}$) needed to produce the lethal dose 50 (DL_{50}) and the lethal dose 96 (DL_{96}) of the larvae in the eggs obtained with the egg hatch assay (EHA) on strongyles from fecal samples of 3 horse farms of the south of Chile before and after the treatment with fenbendazol.

Concentración de Tiabendazol ($\mu\text{g TBZ/ml}$)				
Plantel	antes del tratamiento		después del tratamiento	
	DL_{50}	DL_{96}	DL_{50}	DL_{96}
1	0.093	0.222	0.149	0.316
2	0.141	0.263	0.158	0.322
3	0.066	0.188	0.091	0.221

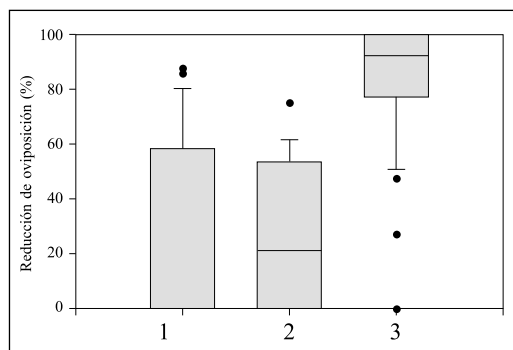


FIGURA 1. Distribución frecuencial de los datos de la reducción de oviposición en tres planteles de equinos del sur de Chile. Los datos son representados en «Box- y Whisker-Plots» (SigmaPlot 2000, Jandel).

Frequency distribution of the faecal egg count reduction results in three horse farms of the south of Chile. The results are presented in “Box- and Whisker-Plots” (SigmaPlot 2000, Jandel).

Mediante la prueba de eclosión de huevos, EHA, se encontró una DL_{50} superior a $0.1 \mu\text{g TBZ/ml}$ antes del tratamiento con fenbendazol solamente en el plantel 2; después del tratamiento se evidenció en el 1 y en el 2 (cuadro 2). Antes del tratamiento el 50% de los valores fluctuó en el 1 entre 0.055 y $0.096 \mu\text{g TBZ/ml}$, en el 2 entre 0.113 y $0.15 \mu\text{g TBZ/ml}$ y en el 3 entre 0.05 y $0.082 \mu\text{g TBZ/ml}$ con una dispersión de $0.029 - 0.122 \mu\text{g TBZ/ml}$. Después

del tratamiento el 50% de los valores fluctuó en el 1 entre 0.101 y $0.167 \mu\text{g TBZ/ml}$, en el 2 entre 0.130 y $0.159 \mu\text{g TBZ/ml}$, y en el 3 entre 0.067 y $0.099 \mu\text{g TBZ/ml}$ (figura 2). En el plantel 1 se diferenciaron significativamente ($p < 0.001$) las DL_{50} antes, de aquellas obtenidas después del tratamiento. En cambio no se observaron diferencias significativas en plantel 2 ($p = 0.076$) y 3 ($p = 0.061$). Entre 2 y 3 hubo diferencia significativa ($p < 0.001$) entre las DL_{50} obtenidas antes y después del tratamiento. En el 2 y en el 1 se encontró diferencia significativa antes ($p < 0.001$), pero no después del tratamiento

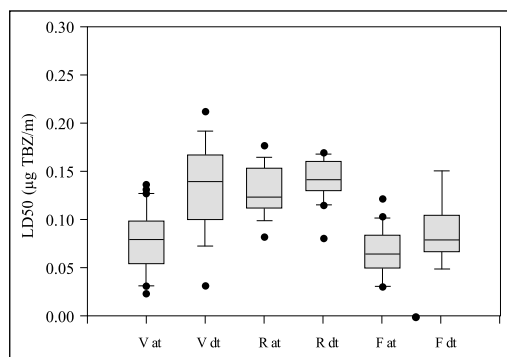


FIGURA 2. Distribución frecuencial de los valores DL_{50} antes (at) y después (dt) del tratamiento en los tres planteles de equinos: 1 (V), 2 (R) y 3 (F).

Frequency distribution of the LD_{50} results before (at) and after (dt) treatment in three horse farms: 1 (V), 2 (R) and 3 (F).

($p=0.388$). En cambio, entre el plantel 1 y 3 no hubo diferencia ($p=0.139$) antes, pero sí después del tratamiento ($p=0.017$).

No se estableció correlación significativa entre los parámetros obtenidos mediante la prueba de reducción de oviposición FECR y los de DL_{50} obtenidos mediante la prueba EHA, ni antes ($r=-0.197$; $p=0.0816$) ni después del tratamiento ($r=-0.0674$; $p=0.647$).

Todas las larvas diferenciadas en la materia fecal de los equinos de los planteles 1 y 2 fueron larvas de pequeños estróngilos. En cambio, en el 3, se encontró un 8% de larvas de grandes estróngilos, antes del tratamiento; después del tratamiento se encontraron solamente larvas de pequeños estróngilos.

DISCUSION

Mediante la prueba de reducción de oviposición (FECR) y según las indicaciones de la WAAVP (Coles y col., 1992) se encontró resistencia de los pequeños estróngilos frente a los bencimidazoles en los tres planteles de equinos (cuadro 1). Sin embargo, los resultados del plantel 3 se diferenciaron de aquellos obtenidos en el 2 y en el 1 que, a su vez, no se diferenciaron entre sí. Esto último es explicable ya que el criadero 2 surte de caballos al 1, por lo tanto, se puede asumir que las cepas de pequeños estróngilos resistentes fueron trasladadas con los caballos de un plantel al otro. La aparente discrepancia entre los recuentos de huevos después del tratamiento (cuadro 1) y los resultados de la FECR se origina en el hecho de que un recuento de huevos superior, después del tratamiento, al encontrado antes del tratamiento se consideró como 0% de reducción de oviposición.

Mediante la prueba de eclosión de huevos (EHA) y según las indicaciones de la WAAVP (Coles y col., 1992) se encontró resistencia en el plantel 2, tanto antes como después del tratamiento, mientras que en el 1 se encontró solamente después del tratamiento.

Várady y col. (2000) describen que los datos obtenidos mediante las pruebas FECR y EHA son comparables si se trata de pequeños estróngilos de equinos. Ellos explican que

diferencias ocasionales, también descritas por Craven y col. (1999), se deben a que ambas pruebas miden atributos diferentes: la primera mide el efecto letal del producto frente a los parásitos adultos, en cambio, la segunda se basa en el efecto ovicida del tiabendazole. Después del tratamiento de los equinos con fenbendazol, se encontraron reducciones de la oviposición muy variables en los tres planteles (figura 1), a pesar de haber sido manejados como grupo en forma similar. Es probable que los equinos hayan sido infectados con una población heterogénea de pequeños estróngilos, y no se puede partir de la base que el bencimidazol utilizado haya tenido un efecto similar sobre los diferentes géneros de pequeños estróngilos. Ello también puede ser una razón adicional que explica la ausencia de correlación entre las pruebas (Craven y col., 1999). Según Young y col. (2000), las variaciones pueden ser causadas por diferencias fisiológicas de los animales examinados y por la diferente fertilidad que tienen los distintos parásitos. También Nilsson y col. (1989) indican que es probable que los equinos de un plantel se infecten con poblaciones de pequeños estróngilos diferentes; pero por otro lado mencionan que las diferencias en la reducción de oviposición pueden ser causadas por variaciones en la dosis del antihelmíntico administrado. Cabe mencionar que en el presente estudio se establecieron variaciones considerables de la oviposición de 0 a 66% en algunos animales no tratados (datos no presentados), y por ello se puede asegurar que la causa de las variaciones observadas no debe ser buscada en la dosificación del antihelmíntico. No fue posible sacar conclusiones sobre las diferencias en la composición de la población de parásitos, porque las larvas obtenidas se conservaron en etanol, lo que les produjo una deshidratación desformante que impidió la determinación de los géneros de los pequeños estróngilos presentes. En este contexto sólo es importante recordar que la oviposición de los parásitos en un animal infectado no permite sacar conclusiones sobre la cantidad de parásitos que tenga el animal, porque las variaciones de la oviposición dependen de los parásitos así

como también del huésped. Según Young y col. (2000) la media aritmética en la reducción de la oviposición es influida considerablemente por los datos extremos; y en caso de altas variaciones en los datos una reducción de la oviposición <90% permite un margen muy pequeño para definir resistencia a los bencimidazoles porque, con mucha facilidad, se puede cambiar un diagnóstico negativo por uno positivo y viceversa. Si se considera la indicación de Craven y col. (1998), que fijan resistencia cuando hay una reducción de oviposición inferior al 80%, se habría determinado resistencia solamente en los predios 1 y 2. Este resultado también coincide con las diferencias encontradas entre los datos de reducción de oviposición en los dos planteles. Sin embargo, la reducción de la oviposición de 83.9%, muy cercana al límite, es un claro indicador de una incipiente formación de resistencia. Por las variaciones arriba mencionadas, Fisher y col. (1992) aconsejan no hacer interpretaciones individuales, sino hablar de una tendencia general en un plantel, lo que se aplicó en el presente estudio.

Según Coles y col. (1992) una $DL_{50} > 0.1 \mu\text{g}$ TBZ/ml indica presencia de resistencia a los bencimidazoles para el caso de pequeños estróngilos del equino. En el presente estudio, la población de pequeños estróngilos encontrados antes del tratamiento (DL_{50} de $0.093 \mu\text{g}$ TBZ/ml) en el plantel 1 tendría que ser clasificada como sensible a los bencimidazoles (cuadro 2), mientras que la reducción de oviposición de 27% indica claramente resistencia a ellos. Por ese motivo es recomendable disminuir el valor límite de la DL_{50} de $0.1 \mu\text{g}$ TBZ/ml a $0.09 \mu\text{g}$ TBZ/ml como indicador de resistencia. De esa forma, también la población de pequeños estróngilos en el plantel 3, detectada después del tratamiento, podría ser clasificada como resistente, lo que sería justificable en vista de la relativamente baja reducción de oviposición de 83.9% obtenida después del tratamiento y que indica que hubo una selección de individuos resistentes. Un valor límite de $0.09 \mu\text{g}$ TBZ/ml, comparado con el valor de $0.1 \mu\text{g}$ TBZ/ml, en la prueba EHA,

significa una probabilidad menor de un diagnóstico falso positivo. En este contexto es válido preguntarse si un diagnóstico falso negativo es de menos trascendencia que un diagnóstico falso positivo. En general, es dudoso que sea posible determinar resistencia mediante la fijación de un valor límite (Ihler y Bjørn, 1996).

Las grandes variaciones de las DL_{50} , observadas mediante la prueba EHA (figura 2), también hacen sospechar que los equinos estaban infectados con una población muy heterogénea de pequeños estróngilos, con diferentes sensibilidades frente a los bencimidazoles. Según los límites indicados por WAAVP (Coles y col., 1992), la prueba de eclosión de los huevos EHA demostró una sensibilidad menor que la prueba de reducción de la oviposición FECR. También Craven y col. (1999) encontraron resistencia a los bencimidazoles en 79% de los planteles estudiados por medio de la prueba FECR, mientras que la prueba EHA indicó resistencias en 62% de los casos. Según McKenna (1990), la prueba FECR no es menos sensible que la prueba EHA. Martin y col. (1989), en estudios con *Trichostrongylus colubriformis* y *Ostertagia sp.*, encontraron que la prueba EHA era menos sensible que la prueba FECR cuando la cantidad de individuos resistentes de una población era inferior al 25%. También Grimshaw y col. (1994) describen una sensibilidad menor de la prueba EHA al compararla con la prueba FECR. Por los motivos expuestos es recomendable utilizar y combinar las dos pruebas para obtener resultados más seguros. Según Ullrich (1987) debe valorarse como resistencia cuando la DL_{96} es superior a $0.15 \mu\text{g}$ TBZ/ml. Mediante esta interpretación, habría habido presencia de pequeños estróngilos resistentes a los bencimidazoles en los tres planteles (cuadro 2).

Se observó un aumento de las medias aritméticas de la DL_{50} , como consecuencia del tratamiento con fenbendazol, en los tres planteles pero solamente en el plantel 1 se diagnosticó diferencia significativa entre los datos obtenidos antes y después del tratamiento. Sin embargo, a pesar de ausencia de diferencia significativa en

los otros planteles, es reconocible la selección de individuos resistentes.

En el presente estudio se encontró solamente 8% de grandes estróngilos antes del tratamiento en el plantel 3. Después del tratamiento hubo ausencia de grandes estróngilos en los cultivos respectivos. Ello confirma lo observado por Drudge y col. (1979), Dorny y col. (1988), Tolliver y col. (1993), Ihler (1995), Ihler y Bjørn (1996) y Borgsteede y col. (1997) que también describen un 100% de efectividad de los bencimidazoles frente a los grandes estróngilos y, al mismo tiempo, resistencia de los pequeños estróngilos. Kelly y col. (1981) y Tolliver y col. (1993) atribuyen la ausencia de resistencia de los grandes estróngilos a sus prolongados períodos prepatentes que sólo permiten una generación al año. En caso de los pequeños estróngilos es teóricamente posible que ocurran dos o tres generaciones en un año. De esa forma, la cantidad de parásitos bajo presión de selección es muy superior y la selección de cepas resistentes es mucho más rápida que en los grandes estróngilos. El hecho que en los planteles 1 y 3 no se hayan diagnosticado grandes estróngilos, se puede explicar por el programa de desparasitaciones con bencimidazoles que, durante más de 15 años, se llevó a cabo en el criadero 2.

RESUMEN

La presencia de resistencia de los pequeños estróngilos a los benzimidazoles se determinó, en un total de 100 equinos, en tres planteles del Sur de Chile mediante las pruebas de reducción de oviposición (faecal egg count reduction test, FECRT) y de eclosión de huevos (egg hatch assay, EHA). A cada equino se le tomaron muestras fecales desde el recto siete días antes y siete días después de un tratamiento con fenbendazol (Panacur®) con el objeto de determinar un posible aumento del grado de resistencia. Las medias aritméticas de los recuentos de huevos se distribuyeron entre 476.7 (± 356.7) y 1095.3 (± 755) hpg antes, y entre 137.1 (± 171.8) y 725 (± 481.3) hpg después del tratamiento. Mediante la prueba FECR se

determinó resistencia en los tres planteles al encontrar reducciones de 27% (± 33), 26.5% (± 26.9) y 83.9% (± 22.8). Por medio de la prueba EHA se constató resistencia antes del tratamiento en un plantel ($DL_{50} = 0.141$ TBZ/ml) y, después del tratamiento, en dos planteles ($DL_{50} = 0.149$ y 0.158 μ g TBZ/ml respectivamente).

AGRADECIMIENTOS

Al señor Belisario Monsalve por su gran ayuda en los quehaceres del laboratorio.

BIBLIOGRAFIA

- BORGSTEEDE, F. H., G. M. DVOJNOS, V. A. KHARCHENKO. 1997. Benzimidazole resistance in cyathostomes in horses in the Ukraine. *Vet. Parasitol.* 68: 113-117.
- COLES, G. C., C. BAUER, F. H. BORGSTEEDE, S. GEERTS, T. R. KLEI, M. A. TAYLOR, P. J. WALLER. 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.* 44: 35-44.
- CRAVEN, J., H. BJØRN, S. A. HENRIKSEN, P. NANSEN, M. LARSEN, S. LENDAL. 1998. Survey of anthelmintic resistance on Danish horse farms, using 5 different methods of calculating faecal egg count reduction. *Equine Vet. J.* 30: 289-293.
- CRAVEN, J., H. BJØRN, E. H. BARNES, S. A. HENRIKSEN, P. NANSEN. 1999. A comparison of in vitro tests and a faecal egg count reduction test in detecting anthelmintic resistance in horse strongyles. *Vet. Parasitol.* 85: 49-59.
- DORNY, P., J. VERCRUYSSSE, P. BERGHEN. 1988. Resistance of equine small strongyles to benzimidazoles in Belgium. *Zentralbl. Veterinarmed.* 35: 72-75.
- DRUDGE, J. H., E. T. LYONS. 1965. Newer developments in helminth control and *Strongylus vulgaris* research. *Proc. Annu. Meet. Am. Assoc. Equine Pract.* 11: 381-389.
- DRUDGE, J. H., E. T. LYONS, S. C. TOLLIVER. 1979. Benzimidazole resistance of equine strongyles-critical tests of six compounds against population B. *Am. J. Vet. Res.* 40: 590-594.
- FISHER, M. A., D. E. JACOBS, W. T. GRIMSHAW, L. M. GIBBONS. 1992. Prevalence of benzimidazole-resistance in equine cyathostome

- populations in south east England. *Vet. Rec.* 130: 315-318.
- GRIMSHAW, W. T. R., K. R. HUNT, C. HONG, G. C. COLES. 1994. Detection of anthelmintic resistant nematodes in sheep in southern England by a faecal egg count reduction test. *Vet. Rec.* 135: 372-374.
- HOPE, J. J., G. K. KEMP. 1980. Apparent *Trichonema* resistance to fenbendazole. *N. Z. Vet. J.* 28: 80-81.
- IHLER, C. F. 1995. A field survey on anthelmintic resistance in equine small strongyles in Norway. *Acta Vet. Scand.* 36: 135-143.
- IHLER, C. F., H. BJØRN. 1996. Use of two in vitro methods for the detection of benzimidazole resistance in equine small strongyles (*Cyathostoma* spp.). *Vet. Parasitol.* 65: 117-125.
- KELLY, J. D., J. H. WEBSTER, D. L. GRIFFIN, H. V. WHITLOCK, I. C. MARTIN, M. GUNAWAN. 1981. Resistance to benzimidazole anthelmintics in equine strongyles. 1. Frequency, geographical distribution and relationship between occurrence, animal husbandry procedures and anthelmintic usage. *Aust. Vet. J.* 57: 163-171.
- KING, A. I., S. LOVE, J. L. DUNCAN. 1990. Field investigation of anthelmintic resistance of small strongyles in horses. *Vet. Rec.* 127: 232-233.
- LUZ PEREIRA, A. B., J. H. CAVICHIOLLI, J. S. GUIMARAES Jr., A. BATISTON, R. A. M. GUSMAO. 1994. Eficácia a campo do mebendazole, oxibendazole, pamoato de pirantel e doramectin contra pequenos estrongilídeos (cyathostominae) de equinos. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 3: 93-97.
- MARTIN, P. J., N. ANDERSON, R. G. JARRETT. 1989. Detecting benzimidazole resistance with faecal egg count reduction tests and in vitro assays. *Aust. Vet. J.* 66: 236-240.
- MARTIN, P. J., A. P. ROBERTSON, H. BJØRN. 1997. Target sites of anthelmintics. *Parasitology* 114: 111-124.
- MCKENNA, P. B. 1990. The detection of anthelmintic resistance by the faecal egg count reduction test: An examination of some of the factors affecting performance and interpretation. *N. Z. Vet. J.* 38: 142-147.
- NILSSON, O., A. LINDHOLM, D. CHRISTENSSON. 1989. A field evaluation of anthelmintics in horses in Sweden. *Vet. Parasitol.* 32: 163-171.
- O'BRIEN, D. J., V. GERAGHTY. 1990. Possible benzimidazole resistance in horses in Ireland. *Ir. Vet. J.* 43: 104-107.
- PRICHARD, R. K., C. A. HALL, J. D. KELLY, I. C. A. MARTIN, A. D. DONALD. 1980. The problem of anthelmintic resistance in nematodes. *Aust. Vet. J.* 56: 239-251.
- PRICHARD, R. 1994. Anthelmintic resistance. *Vet. Parasitol.* 54: 259-268.
- ROBERTS, F., P. J. O'SULLIVAN. 1950. Methods for eggs counts and larval cultives for strongylus infesting the gastrointestinal tract of cattle. *Austr. J. Agr. Res.* 1: 99-102.
- SANGSTER, N. C. 1999. Anthelmintic resistance: past, present and future. *Int. J. Parasitol.* 29: 115-124.
- SCHMIDT, U. 1971. Parasitologische Kotuntersuchung durch ein neues Verdünnungsverfahren. *Tierärztl. Umsch.* 26: 229-230.
- SLOCOMBE, J. O. D., J. F. COTE, I. MCMILLAN. 1989. Effectiveness of oxibendazole against benzimidazole-resistant strongyles in horses. *Can. Vet. J.* 30: 663-665.
- TOLLIVER, S. C., E. T. LYONS, J. H. DRUDGE, S. STAMPER, D. E. GRANSTROM. 1993. Critical tests of thiabendazole, oxibendazole, and oxfendazole for drug resistance of population-B equine small strongyles (1989 and 1990). *Am. J. Vet. Res.* 54: 908-913.
- ULLRICH, D. 1987. Verbreitung benzimidazol-resistenter Strongyliden in Nordrhein-Westfalen. Tesis. Doctorado. Tierärztliche Hochschule Hannover. Alemania.
- VAN WYK, J. A., E. F. VAN WIJK. 1992. Resistance of small strongyles in an equine stud in South Africa to the benzimidazole anthelmintics. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 63: 144-147.
- VÁRADY, M., J. CORBA. 1999. Comparison of six in vitro tests in determining benzimidazole and levamisole resistance in *Haemonchus contortus* and *Ostertagia circumcincta* of sheep. *Vet. Parasitol.* 80: 239-249.
- VÁRADY, M., A. KONIGOVA, J. ČORBA. 2000. Benzimidazole resistance in equine cyathostomes in slovakia. *Vet. Parasitol.* 94: 67-74.
- VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., C. VON WITZENDORFF, G. SIEVERS, T. SCHNIEDER. 2002. Comparative use of faecal egg count reduction test, egg hatch assay and beta-tubulin codon 200 genotyping in small strongyles (cyathostominae) before and after benzimidazole treatment. *Vet. Parasitol.* 108: 229-237
- YOUNG, K. E., V. GARZA, K. SNOWDEN, R. J. DOBSON, D. POWELL, T. M. CRAIG. 1999. Parasite diversity and anthelmintic resistance in two herds of horses. *Vet. Parasitol.* 85: 205-214.
- YOUNG, K. E., J. M. JENSEN, T. M. CRAIG. 2000. Evaluation of anthelmintic activity in captive wild ruminants by fecal egg reduction tests and a larval development assay. *J. Zoo Wildl. Med.* 31: 348-352.