



Facultad de Veterinaria

Trabajo de  
Fin de Grado

Control integrado de parásitos  
en caballos

Control integrado de parásitos  
en cabalos

Integrated control of horse  
parasites

María Vilá Pena

**Grado en Veterinaria**

Año 2017

Modalidad del Trabajo: Experimental

# Licencia

Esta obra pertenece a MARÍA VILÁ PENA, y está sujeta a la licencia Reconocimiento-Compartir Igual 4.0 Internacional de Creative Commons. Para ver una copia de esta licencia, visite <http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>



## RESUMEN

El control de parásitos se orienta fundamentalmente a la eliminación de los estadios que afectan a los caballos. A pesar de la elevada eficacia de los fármacos, los caballos se reinfectan al cabo de poco tiempo. En el presente estudio se emplearon dos grupos de caballos, ambos tratados con ivermectina y oxibendazol. La eficacia se estableció mediante la estimación de la reducción del número de huevos por gramo de heces (HPG), mostrando unos porcentajes de reducción del 98-100%. Un grupo recibió gelatinas con esporas de los hongos nematófagos *Duddingtonia flagrans* y *Mucor circinelloides*, siendo la eliminación de huevos de estrongílicos inferior a 300 HPG. Sin embargo, se obtuvieron valores superiores a 600 HPG en el grupo testigo. De esta manera se destaca la eficacia de la administración de gelatinas comestibles con hongos parasiticidas como estrategia sostenible en el control integrado de parásitos en caballos.

**Palabras clave:** Estrongílicos, caballos, control integrado, hongos parasiticidas, gelatinas.

## RESUMO

O control de parasitos oriéntase fundamentalmente na eliminación dos estadios que afectan os cabalos. A pesar da elevada eficacia dos fármacos, os cabalos reinféctanse ao cabo de pouco tempo. No presente estudo empleáronse dous grupos de cabalos, ambos tratados con ivermectina e oxibendazol. A eficacia estableceuse mediante a estimación da redución do número de ovos por gramo de feces (OPG), mostrando unhas porcentaxes de redución do 98-100%. Un grupo recibiu xelatinas con esporas dos fungos nematófagos *Duddingtonia flagrans* e *Mucor circinelloides*, sendo a eliminación de ovos de estronxílicos inferior a 300 OPG. Con todo, obtivéronse valores superiores a 600 OPG no grupo testigo. Desta maneira destácase a eficacia da administración de xelatinas comestibles con fungos parasiticidas como estratexia sustentable no control integrado de parasitos en cabalos.

**Palabras chave:** Estronxílicos, cabalos, control integrado, fungos parasiticidas, xelatinas.

## SUMMARY

Control of parasites is aimed to the elimination of the stages affecting horses. Despite the high efficiency of the dewormers, horses become infected readily. In the present study two groups of horses were used, both treated with ivermectin and oxybendazole. Efficacy has been established by the reduction of number of eggs per gram of feces (EPG), showing a reduction percentage of 98-100%. One group received gelatine with spores of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* and *Mucor circinelloides*, being the elimination of strongyles eggs less than 300 EPG. However, values higher than 600 EPG were obtained in the control group. In this way, the efficacy of the administration of edible gelatins with parasiticides fungus is highlighted as a sustainable strategy in the integrated control of parasites in horses.

**Key words:** Strongyles, horses, integrated control, parasiticides fungus, gelatins.

## RESUMEN GRÁFICO



Aspectos a destacar:

- Tras la administración de fármacos antiparasitarios a los caballos, éstos se re infectan en un periodo corto de tiempo.
- El aporte de gelatinas comestibles con esporas de los hongos nematófagos *Duddingtonia flagrans* y *Mucor circinelloides* reduce la presencia de formas parasitarias infectivas en el medio, retrasando la aparición de huevos en las heces de los caballos.
- Se recomienda el uso de hongos parasiticidas en el control integrado de parásitos en caballos

## Índice de FIGURAS

- Fig. 1.- Componentes de un control integrado
- Fig. 2.- Parásitos del tracto digestivo de equinos
- Fig. 3.- Nematodos estrogílicos adultos en el lumen intestinal de un caballo
- Fig. 4.- Larvas de nematodos estrogílicos
- Fig. 5.- Hongos filamentosos. Destrucción de un huevo de *trichuris* por la acción de hongo ovicida (izda.) y estructuras de captura de hongos larvicidas (dcha.)
- Fig. 6.- Ventajas e inconvenientes de diversas formulaciones con esporas de hongos parasiticidas
- Fig. 7.- Prados pertenecientes a la diputación provincial de Lugo
- Fig. 8.- Placa madre con *M. circinelloides*
- Fig. 9.- Cultivo de *M. circinelloides* en medio líquido
- Fig. 10.- Zigospora de *M. circinelloides* con esporas (izda.) y clamidosporas de *D. flagrans* (dcha)
- Fig. 11.- Gelatinas en moldes (izda.) y gelatinas conservadas en refrigeración (dcha.)
- Fig. 12.- Administración de gelatinas enteras (izda.) y gelatinas con concentrado (dcha.)
- Fig. 13.- Tratamientos antiparasitarios a base de ivermectina (izda.) y oxibendazol (dcha.)
- Fig. 14.- Grupo G-E (izda.) y grupo G-T (dcha.)
- Fig. 15.- Huevos de nematodos estrogílicos en heces
- Fig. 16.- Gráfica de tipos de *Cyathostomun* encontrados
- Fig. 17.- Variaciones mensuales de los recuentos de huevos de estrogílicos en heces de caballos en pastoreo continuo
- Fig. 18.- Équidos del G-E ingiriendo gelatinas con esporas parasiticidas
- Fig. 19.- Esporas de *M. circinelloides* (izda.) y *D. flagrans* (dcha) en heces
- Fig. 20.- Ventajas e inconvenientes de la nueva formulación con esporas de hongos parasiticidas

## **Índice de TABLAS**

Tabla 1.- Principales parásitos detectados en caballos en distintos países

Tabla 2.- Principales parásitos detectados en caballos y sus posibles tratamientos

Tabla 3.- Fases infectivas más importantes en caballos

Tabla 4.- Principales hongos filamentosos con actividad parasitocida

Tabla 5.- Ensayos de vehiculación de esporas de hongos ovicidas

Tabla 6.- Composición del medio empleado para el crecimiento de esporas de hongos parasitocidas

Tabla 7.- Valores del FECR en caballos bajo control parasitario

Tabla 8.- Grado de aceptación de gelatinas con esporas de hongos ovicidas entre caballos

**Todas las imágenes se obtuvieron a lo largo de la realización del trabajo. Todas las tablas, figuras y dibujos han sido realizados por la autora del trabajo.**

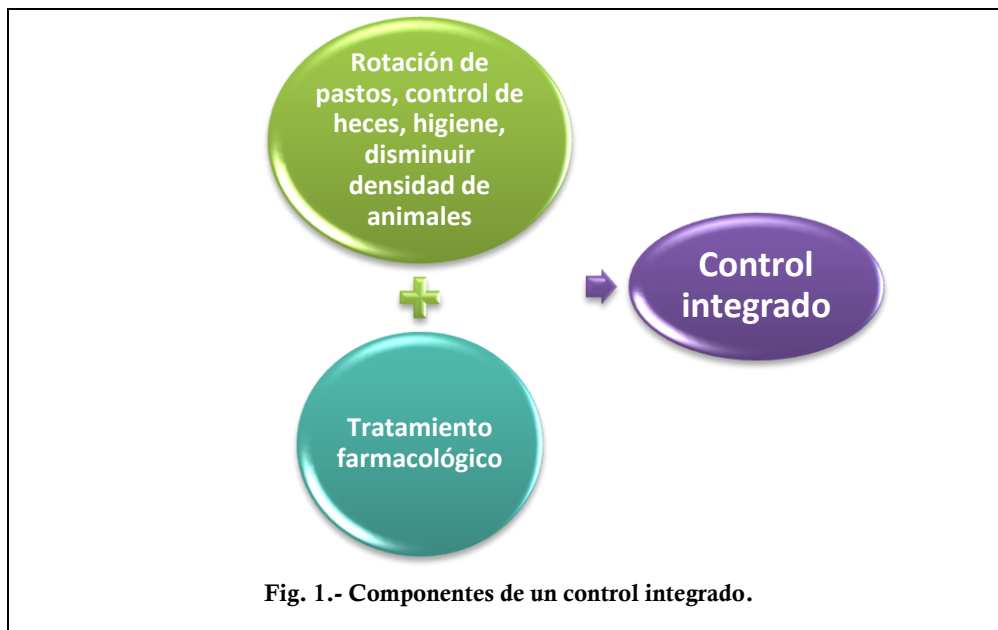
## Índice

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>6</b>
1.1. Control integrado: explicación de las fases endógena y exógena .....	6
1.2. Control de la fase endógena .....	6
1.2.1. Pautas más frecuentes para la desparasitación de caballos .....	9
1.2.2. Principales inconvenientes que plantean los tratamientos antiparasitarios de rutina	10
1.2.3. Racionalidad en el tratamiento: Terapias selectivas.....	12
1.3. Control de la fase exógena .....	13
1.3.1. Hongos parasitoides como agentes preventivos de infección .....	14
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>19</b>
<b>3. MATERIAL y MÉTODOS</b> .....	<b>20</b>
3.1. Caballos.....	20
3.2. Producción de esporas de hongos parasitoides y elaboración de gelatinas .....	21
3.2.1. Grado de aceptación de gelatina con esporas de hongos parasitoides.....	23
3.3. Protocolo de control parasitario en los caballos .....	24
3.4. Evaluación de la eficacia del control parasitario.....	25
3.4.1. Técnicas coprológicas .....	25
3.4.2. Parámetros de eficacia.....	26
3.5. Análisis estadístico.....	27
3.6. Resumen de las actividades realizadas y coste.....	27
<b>4. RESULTADOS y DISCUSIÓN</b> .....	<b>28</b>
4.1. Eficacia de antiparasitarios convencionales .....	28
4.2. Grado de aceptación de las gelatinas.....	30
4.3. Cinética de eliminación de huevos de strongílidos .....	31
<b>5. CONCLUSIONES</b> .....	<b>36</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>37</b>
<b>7. ÍNDICE DE ABREVIATURAS</b> .....	<b>43</b>

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Control integrado: explicación de las fases endógena y exógena

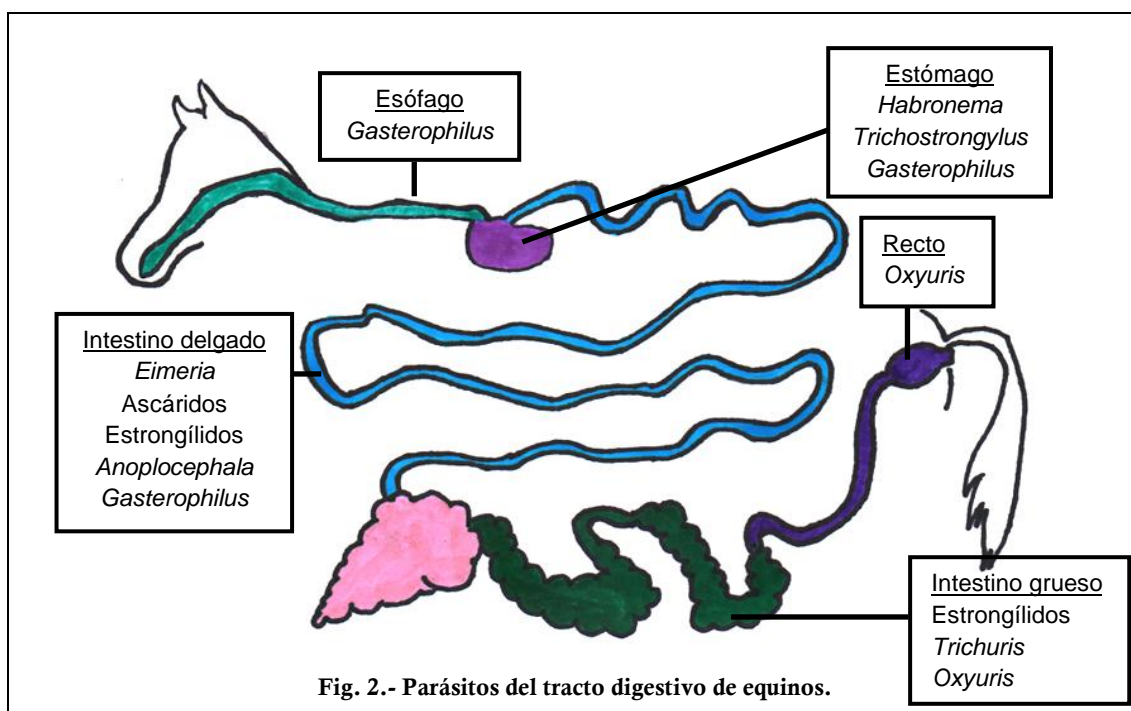
Siempre que se pretenda plantear una estrategia de control antiparasitario, se debe tener en cuenta que además de emplear tratamientos antiparasitarios farmacológicos sobre los organismos infectados, hay que actuar sobre el medio, es decir, prestar atención tanto a la fase endógena como a la fase exógena del ciclo biológico del parásito. Si el animal solo recibe tratamiento farmacológico, es muy probable que se reinfecte al cabo de poco tiempo debido a que las larvas infectivas de los nematodos estrogílicos (L3) se encuentran en el pasto esperando a ser ingeridas por su hospedador definitivo. Además, transcurrido un período de tiempo, el efecto de los antiparasitarios podría decrecer debido a la aparición de resistencias. Por todo ello, se han descrito diversas técnicas que ayudan al control de las larvas en los pastos para prevenir la infección de los animales, y cuando se aplican junto con antiparasitarios constituyen lo que se denomina *control integrado* (Fig. 1).



### 1.2. Control de la fase endógena

En el interior de los distintos órganos y sistemas de los equinos se alojan diferentes formas parasitarias, sobre todo en el aparato digestivo (Figs. 2 y 3). La prevalencia de ectoparásitos y de agentes responsables de miasis resulta importante sobre todo en algunas áreas geográficas, y en determinadas épocas del año, por lo que tampoco constituyen una diana frecuente en el control de parásitos de caballos. Como se comentó anteriormente, son los antiparasitarios los que ejercen su actividad sobre las formas que se encuentran en el interior de los caballos, es

decir, se orientan fundamentalmente a la eliminación de los estadios que afectan a los esteros (actúan sobre la fase *endógena* del ciclo biológico).



En la Tabla 1 se resumen los estudios de prevalencia de infección en caballos desarrollados en los últimos 10 años para determinar la presencia de parásitos. Como se puede ver, los más frecuentes son los nematodos gastrointestinales, por ello la mayor parte de los antiparasitarios disponibles son nematocidas (Tablas 1 y 2). Es preciso destacar que estos resultados se obtuvieron utilizando técnicas coprológicas que permiten ver los huevos de parásitos en las heces y, aunque son muy adecuadas, en algunos casos tienen poca sensibilidad.



Fig. 3.- Nematodos estrongílicos adultos en el lumen intestinal de un caballo.

Tabla 1.- Principales parásitos detectados en caballos en distintos países.			
País	Cestodos	Ascáridos	Estrongílicos
<b>ESPAÑA</b>			
Francisco <i>et al.</i> (2009a)	1%	5%	<b>94%</b>
<b>ITALIA</b>			
von Samson-Himmelstjerna <i>et al.</i> (2009)			<b>56%</b>
<b>ALEMANIA</b>			
Hinney <i>et al.</i> (2011)	14,3%	16,7%	<b>98,4%</b>
Relf <i>et al.</i> (2013)	4%	9%	<b>56%</b>
Rehbein <i>et al.</i> (2013)	28,5%	11,3%	<b>60,8%</b>
<b>GRAN BRETAÑA</b>			
Rehbein <i>et al.</i> (2007)		24%	<b>100%</b>
<b>TURQUÍA</b>			
Gürler <i>et al.</i> (2010)	3,3	12	<b>100%</b>
<b>MÉXICO</b>			
Valdéz-Cruz <i>et al.</i> (2013)			<b>90%</b>
<b>BRASIL</b>			
Teixeira <i>et al.</i> (2014)	8%	20%	<b>100%</b>
<b>NIGERIA</b>			
Ehizibolo <i>et al.</i> (2012)		12%	<b>12%</b>
<b>ETIOPIÁ</b>			
Seyoum <i>et al.</i> (2015)		21,4%	<b>73,4%</b>

De toda la información recabada, se puede concluir que la mayor parte de los caballos están parasitados por nematodos estrongílicos.

Pese a que se han detectado infecciones por protozoos (*Eimeria leuckarti*), prácticamente no existe información acerca de la eficacia de principios como el diclazuril o el toltrazuril, ampliamente empleados en rumiantes y aves.

Otro grupo de infecciones parasitarias diagnosticadas en caballos son las trematodosis, pero aunque parece que su distribución no es muy amplia, es posible que en realidad se trate de un grupo de enfermedades infravaloradas (Arias *et al.*, 2012c).

Con respecto a la vía de administración de antiparasitarios, la vía *oral* es la más empleada en caballos, principalmente como *pasta*, aunque en algunos casos también en forma de granulado.

Hace años se utilizaban formulaciones inyectables, pero el riesgo de aparición de alteraciones secundarias como son la formación de quistes en el punto de inyección o las infecciones bacterianas secundarias, llevó a descartarla (Francisco, 2013). Existen resultados que indican la idoneidad de la aplicación tópica o *pour on* de ivermectina, que son muy fáciles de administrar, y no requieren la inmovilización de los individuos. Este aspecto es especialmente importante cuando se trata de caballos silvestres, como los autóctonos Pura Raza Galega (PRG) (Francisco *et al.*, 2011; 2012).

Los antiparasitarios empleados ofrecen una eficacia elevada en la mayoría de los casos, pero a veces no se alcanzan los resultados esperados porque no se utilizan con buen criterio.

Tabla 2.- Principales parásitos detectados en caballos y sus posibles tratamientos.				
Grupo	Especie		Molécula	Formulación
<b>Protozoos</b>	<i>Eimeria</i> spp.		Diclazuril Toltrazuril	Oral
<b>Trematodos</b>	<i>Fasciola hepatica</i> <i>Dicrocoelium dendriticum</i>		Triclabendazol Albendazol Netobimin	Oral
<b>Cestodos</b>	<i>Anoplocephala</i> spp. <i>Paranoplocephala</i> spp.		Praziquantel Pirantel	Oral
<b>Nematodos</b>	Ascáridos	<i>Parascaris</i>	Fenbendazol Mebendazol Oxibendazol	Oral (pasta)
	Estrongílidos	Ciatostominos Grandes estrongílos	Tiabendazol Febantel Piperazina	
	Oxiúridos	<i>Oxyuris</i>	Ivermectina Moxidectina	
<b>Ectoparásitos</b>	Sarna		Ivermectina	Tópica Oral
<b>Miasis</b>	<i>Gasterophilus</i> spp.		Ivermectina Moxidectina	Oral

### 1.2.1. Pautas más frecuentes para la desparasitación de caballos

Resulta frecuente la administración de antiparasitarios de manera sistemática, sin realizar ningún tipo de análisis coprológico, al igual que no se suele observar cuarentena a la llegada de nuevos ejemplares. Debido a esto, muchas veces se administran fármacos aun cuando los resultados coprológicos son negativos. Para evitar esta situación lo mejor es plantear una pauta

de desparasitación adecuada siguiendo la prescripción veterinaria, basada en los resultados de la coprología, datos epidemiológicos y criterios de terapia selectiva.

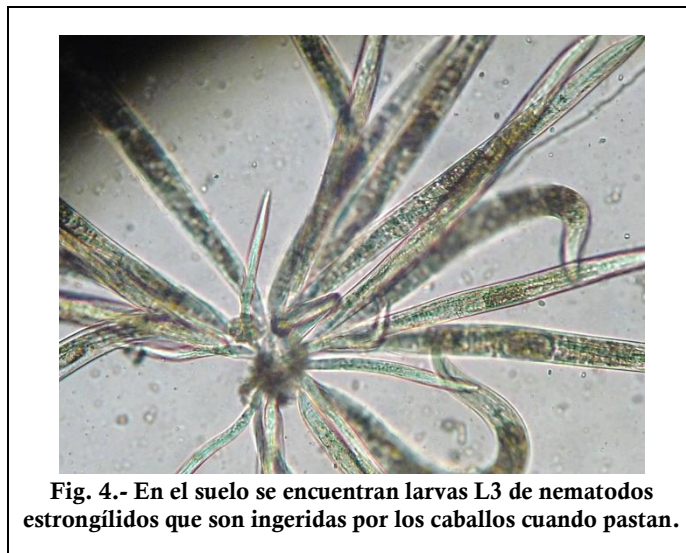
Las pautas de administración suelen estar fijadas por el veterinario al cargo de la explotación, aunque en otros casos se ha demostrado que priman más los consejos de los entrenadores, los anuncios o que se utilizan de manera indiscriminada, sin conocimiento. Con respecto al cálculo de dosis esta se suele realizar mediante estimación visual del peso. Estudios desarrollados en Galicia recomiendan un control parasitario estacional (Francisco *et al.*, 2009), siendo la **primera** desparasitación en primavera ya que es el momento óptimo para evitar el desarrollo de la fase adulta de los estrostrongídeos. La **segunda** desparasitación se recomienda realizar en otoño ya que de esa manera se eliminarían los adultos. Sánchez (2012) realizó una encuesta entre propietarios gallegos de caballos y comprobó que utilizaban lactonas macrocíclicas que administraban una vez al año, normalmente en agosto.

### **1.2.2. Principales inconvenientes que plantean los tratamientos antiparasitarios de rutina**

#### *a) Diana*

Con la desparasitación se consigue eliminar los parásitos que se encuentran en el interior de los caballos. Entre los principales inconvenientes que surgen del control parasitario basado únicamente en la administración de fármacos conviene destacar la aparición de eficacia inferior a la esperada. Este procedimiento podría estimular el desarrollo de cepas de parásitos *resistentes* (von Samson-Himmelstjerna *et al.*, 2007). Se conoce como *resistencia antiparasitaria* la capacidad heredable de sobrevivir a la acción de fármacos parasiticidas. La característica primordial de esta definición radica en la transmisión de la perdurabilidad de una generación a otra, que la dota de una base genética (Kwa *et al.*, 1995).

Como ya se ha indicado con anterioridad, en el suelo se desarrollan estadios infectivos (Fig. 4) que constituyen un riesgo para la infección y reinfección de los caballos, en especial para los que se mantienen habitualmente en el pasto. En estos casos, la administración de terapia antiparasitaria constituye una solución temporal al problema porque si los equinos se mantienen en hábitats contaminados, será necesario aumentar la frecuencia de administración de tratamiento (3-4 meses) (Hertzberg *et al.*, 2014), práctica que como se ha mencionado previamente favorece la selección de resistencia antiparasitaria.



**Fig. 4.- En el suelo se encuentran larvas L3 de nematodos estromgílicos que son ingeridas por los caballos cuando pastan.**

#### *b) Eficacia antiparasitaria*

El efecto de fármacos antiparasitarios se mide, en general, en condiciones experimentales, en las que se toman muestras de un grupo de animales infectados (de ser posible de forma experimental) antes y después de la desparasitación. El método más empleado conlleva la aplicación de técnicas coprológicas, que hacen posible la determinación los recuentos fecales de formas parasitarias de propagación (huevos, quistes, ooquistes, larvas...).

Uno de los índices más empleados es el **FECR** (reducción de los recuentos fecales de huevos, en inglés *Fecal Egg Count Reduction*), que se calcula con los resultados obtenidos del análisis de muestras de heces recogidas antes y después del tratamiento, como se explica a continuación:

$$\text{FECR (\%)} = [1 - (\text{Recuento fecal}_{\text{post-tratamiento}} / \text{Recuento fecal}_{\text{pre-tratamiento}})] \times 100$$

En el caso concreto de los nematodos estromgílicos, se siguen las indicaciones que estableció la *World Association for the Advancement of the Veterinary Parasitology* (WAAVP), de modo que se procede al análisis de heces obtenidas antes del tratamiento y a los 10-15 días. Se considera que un antiparasitario es *eficaz* si el resultado del FECR supera el 90%, *dudoso* si se encuentra entre el 80 y el 90%, e *ineficaz (resistencia)* si desciende del 80% (Nielsen *et al.*, 2013), aunque este criterio no es unánimemente aceptado.

Con objeto de profundizar en el efecto de los antiparasitarios, inicialmente referido a la infección por estromgílicos, se consideró adecuado valorar el **ERP** (periodo de reaparición de huevos en heces, en inglés *Egg Reappearance Period*, ERP). Este parámetro aporta una información muy útil para aclarar sobre qué fases de los parásitos actúan los tratamientos. Si el ERP es superior al periodo de prepatencia, se trata de un fármaco activo frente a formas juveniles y adultas, mientras que un ERP inferior puede indicar eficacia limitada frente a los

estadios inmaduros, que completarán su desarrollo hasta convertirse en adultos, que eliminarán huevos en las heces.

En los últimos años, se ha añadido una nueva interpretación para el ERP en infecciones por estroonglidos, asociándose la disminución de este periodo (<5 semanas post-tratamiento con ivermectina) a resistencia antiparasitaria (Lyons *et al.*, 2008; Molento *et al.*, 2008).

No parece desatinado tratar de relacionar la contaminación de los pastos por formas parasitarias (carga parasitaria en los prados) con el ERP, asumiéndose que periodos largos (>9 semanas post-tratamiento con ivermectina) aportarían no solo información acerca de la eficacia del producto sobre formas inmaduras, sino que también señalarían escasa presencia de parásitos en el medio. Por el contrario, si el ERP adquiere valores reducidos, se podría achacar a un limitado efecto sobre los estadios juveniles, así como a mayor contaminación del pasto por formas parasitarias.

### 1.2.3. Racionalidad en el tratamiento: Terapias selectivas

A pesar de la disponibilidad de fármacos eficaces, existen algunos aspectos relacionados con la desparasitación de los caballos que podrían reducir la eficacia esperada, entre los que cabe destacar la ausencia de análisis periódicos para comprobar si existe infección parasitaria y el agente etiológico, ni para evaluar el efecto del antiparasitario; la desparasitación solo de individuos de elevado valor económico, o el tratamiento únicamente cuando se aprecia visualmente pérdida de la condición corporal (Francisco *et al.*, 2011).

La detección de problemas asociados al tratamiento de caballos ha servido para plantear un uso *racional* de los productos antiparasitarios, que permita mantener la eficacia de estos fármacos sin aumentar la presión selectiva de parásitos resistentes. En esta línea, al principio se insistió en establecer las épocas más adecuadas para la aplicación de tratamientos, concluyéndose que eran aquellas que entrañaban un mayor riesgo, es decir, primavera y otoño (Nielsen *et al.*, 2007).

Con el tiempo, el concepto de *terapia selectiva* ha evolucionado tratando de mantener la racionalidad del tratamiento en base al establecimiento de criterios objetivos que faciliten la toma de decisiones, en especial acerca de cuándo es necesario tratar a los caballos. No resulta sencillo adoptar razones unánimes que sean aceptadas en todo el mundo, por lo que esta idea no se aplica con frecuencia (Francisco *et al.*, 2012). En general, la **terapia selectiva** se basa en el establecimiento de un valor de *punto de corte* de los recuentos de huevos en heces, que una vez superado señala la necesidad de administrar tratamiento antiparasitario. Esencialmente, se asienta este valor en los recuentos fecales de huevos de estroonglidos, estableciéndose en 100-

300 HPG (Elsener y Villeneuve, 2009; Nielsen *et al.*, 2010; Francisco *et al.*, 2012; Schneider *et al.*, 2014).

La explicación a la variabilidad del punto de corte estriba en la ausencia de acuerdo para establecer a partir de qué cifras de eliminación de huevos existen problemas de salud en los equinos, o lo que es lo mismo, *la dificultad de diferenciar parasitismo de parasitosis*. También es importante tener en cuenta la posible existencia de diferencias en la susceptibilidad considerando la raza de los animales, o el historial de tratamientos aplicados. Resulta curioso comprobar cómo en los países del Norte de Europa (Dinamarca, Noruega, Finlandia, Suecia) se asignan valores de 300 HPG para considerar el tratamiento de los caballos con antiparasitarios, porque se relacionan con un detrimento de su salud (Nielsen *et al.*, 2010), mientras que en el Sur (España, Portugal) se pueden alcanzar eliminaciones superiores a 500-1000 HPG sin observarse signos clínicos (Madeira de Carvalho, 2006; Madeira de Carvalho *et al.*, 2007; Francisco *et al.*, 2009a, b). Una posible explicación a esta aparente disparidad podría encontrarse en las grandes diferencias que han existido hasta hace algunos años, y que aun perduran, en las frecuencia de desparasitación de los caballos.

### 1.3. Control de la fase exógena

Un número elevado de parásitos desarrolla en el medio una fase exógena de su ciclo, en la cual completan una serie de etapas hasta alcanzar la fase infectiva. Los caballos se infectan cuando al pastar ingieren con la hierba las fases infectivas de los parásitos. En la Tabla 3 se resumen las formas infectivas más frecuentes. Es posible encontrar fases *inmóviles*, como es el caso de los ascáridos (*Parascaris* spp.), y otras dotadas de *movilidad* como las larvas de los estromgílicos, que en el suelo completan las fases de larva 1 (L1), L2 y L3.

**Tabla 3.- Fases infectivas más frecuentemente localizadas en el suelo.**

	Fase infectiva	Ubicación
<b>Cestodos</b>	Cisticercoide	Interior de ácaros oribátidos
<b>Ascáridos</b>	Larva 2	Interior de huevo
<b>Estrongílicos</b>	Larva 3	Libre en el suelo, especies vegetales

Los estadios infectivos de los cestodos son cisticercoides inmóviles que se encuentran en el interior de ácaros oribátidos, que se encargan de procesar la materia orgánica (heces).

Se han indicado algunos procedimientos para tratar de disminuir la presencia de larvas de estromgílicos en el ambiente, como la retirada manual de las heces de los caballos al menos dos

veces/semana, o arar la superficie del terreno para que los parásitos queden expuestos a la acción directa de la radiación ultravioleta y sean destruidos (

2009). Medidas como rotación de pastos, higiene, o disminuir la densidad de animales, son óptimas para un buen control.

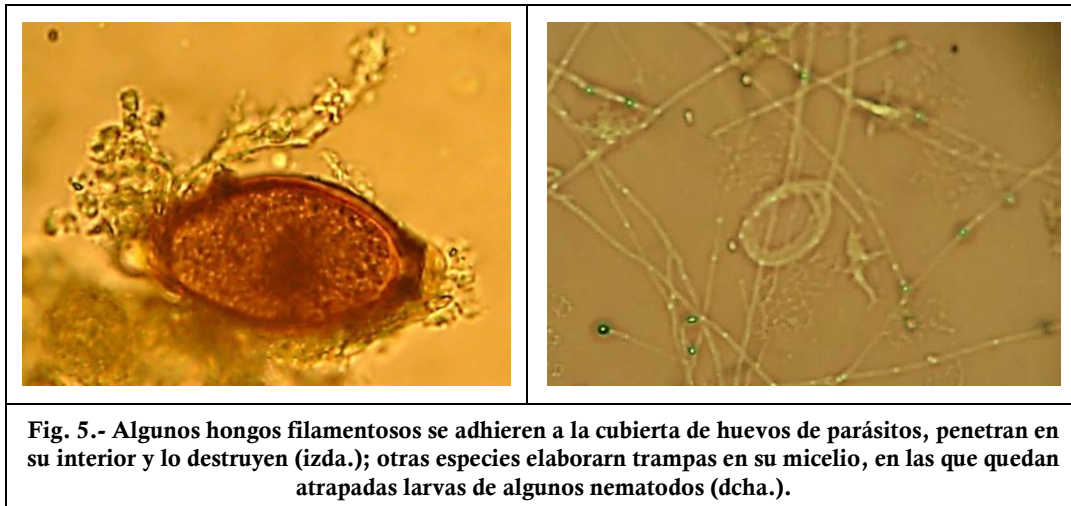
En las últimas décadas se ha desarrollado un número importante de investigaciones acerca de la posibilidad del *control biológico* de las fases infectivas de ciertos parásitos que se encuentran en el suelo.

### 1.3.1. Hongos parasitoides como agentes preventivos de infección

Desde hace muchos años se conoce que en condiciones normales, en el medio existe un equilibrio entre diferentes organismos, entre los que se encuentran virus, bacterias, hongos y parásitos. Entre las numerosas especies de hongos del suelo, algunas son capaces de desarrollar actividad antagonista sobre ciertas fases de algunos parásitos, con objeto de obtener carbono y nitrógeno (Arias *et al.*, 2012b). Como se resume en la Tabla 4, algunas especies son filamentosas y desarrollan hifas que se adhieren a la cubierta de huevos de parásitos, penetran y destruyen el embrión interno, y se denominan *ovicidas*. Otras elaboran hifas en las que se intercalan *anillos* o *trampas*, en las que quedan retenidas las fases móviles (larvas) de nematodos como estromatodos, *Ancylostoma*... (Fig. 5).

Tabla 4.- Principales hongos filamentosos con actividad parasitoides.	
Actividad	Especie
<b>Ovicida</b>	<i>Mucor circinelloides</i>
	<i>Pochonia chlamydosporia</i>
	<i>Paecilomyces lilacinus</i>
	<i>Verticillium chlamydosporium</i>
	<i>Trichoderma atrobrunneum</i>
<b>Larvicida</b>	<i>Duddingtonia flagrans</i>
	<i>Arthrobotrys oligospora</i>
	<i>Monacrosporium thaumasium</i>

En base a que algunos de estos hongos filamentosos se pueden propagar en laboratorio, se han utilizado algunas especies en pruebas *in vivo* e *in vitro*.



a) Ensayos con hongos parasitoides

La mayoría de los ensayos en caballos se han orientado al control de nematodos estrogilidos, y por ello se han empleado especies larvicidas. Los primeros estudios se realizaron en Dinamarca, y consistieron en la incorporación de clamidosporas a muestras de heces de caballos parasitados por ciatostominos (Bird y Herd, 1995). Se emplearon tres dosis de 1, 10 y 100 esporas de *Arthrobotrys oligospora* y *Duddingtonia flagrans* por huevo por gramo de heces, y después de 8 días, con 1 espora los porcentajes de reducción de L3 resultaron de 40,5% y 32,1% para *A. oligospora* y *D. flagrans*, con 10 esporas fueron de 87,4% y 90,5%, y con 100 de 95,8% y 93,9%.

El análisis del efecto de la adición directa de tres dosis de clamidosporas de *D. flagrans* (0,1, 0,2, 0,4 y  $0,8 \times 10^6$  / 100 g heces) sobre las heces de caballos Pura Raza Galega que eliminaban huevos de ciatostominos, reveló que el porcentaje de reducción de L3 oscilaba entre el 91 y el 97% (Paz-Silva *et al.*, 2011), concluyéndose que este efecto era dénsito-dependiente.

En un ensayo *in vitro* en placas Petri con *D. flagrans* se demostró una reducción del 93,64% de L3 de ciatostominos de caballos (Braga *et al.*, 2009a). Más adelante, al añadir L3 de *Strongyloides westeri* a las placas Petri previamente sembradas con *D. flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* y *A. robusta*, se consiguió disminuir los recuentos de L3 en un 80,4%, 79% y 72,8%, respectivamente (Araujo *et al.*, 2010). Al repetir el ensayo con las heces de asnos que recibieron por vía oral esporas de *D. flagrans* y *M. thaumasium*, se obtuvieron unos porcentajes de reducción de las larvas de *S. westeri* del 62,7-85,3% y 76,7- 92,2%, respectivamente (Araujo *et al.*, 2012).

Después de elaborar en el laboratorio pellets de alginato sódico con micelio de *D. flagrans* y *M. thaumasium*, y proporcionarlos a caballos, Tavela *et al.* (2013) recogieron las heces y las colocaron en placas Petri, a las que añadieron a continuación 1000 L3. Los resultados mostraron una reducción superior al 80% en los recuentos larvarios.

Larsen *et al.* (1995) demostraron que las clamidosporas de *D. flagrans* eran capaces de sobrevivir al paso por el tracto digestivo de los caballos, y salir en las heces, sin perder la capacidad de desarrollar el micelio. A continuación, Wolstrup *et al.* (1996) comprobaron que *D. flagrans* presentaba mejores porcentajes de supervivencia en las heces de caballos que *A. oligospora*, señalando la idoneidad de la primera para desarrollar experimentos en los que las esporas se añadían al alimento, para asegurar su presencia en las heces.

Una vez demostrada la utilidad de *D. flagrans*, se llevaron a cabo algunas pruebas de campo, basadas en la administración de clamidosporas en premezcla alimentaria fabricada de manera artesanal (Larsen *et al.*, 1996). De este modo, se consiguió reducir la presencia de L3 en el suelo, y el riesgo de reinfección para los caballos. Fernández *et al.* (1999) desarrollaron una prueba que consistió en la administración de  $10^6$  clamidosporas de *D. flagrans*/Kg p.v. a un grupo de caballos, y observaron que al mantener las heces en el laboratorio la reducción de las L3 en los coprocultivos era del 98,4%. Cuando las heces se mantenían en un prado para que soportaran las condiciones naturales, la infectividad se redujo en 85,8-99,4%. A partir de este momento, en todos los ensayos con caballos se procedió a dosificar las esporas en función del peso vivo de los caballos, al igual que si se tratase de fármacos antiparasitarios. Más recientemente, Buzatti *et al.* (2015) ensayaron tres dosis de  $1,5 \times 10^5$ ,  $3 \times 10^5$  y  $6 \times 10^5$  clamidosporas de *D. flagrans*/Kg p.v., y observaron que se reducía de forma significativa el recuento de L3 de ciatostominos a partir de las 72 horas de la ingestión de las esporas.

Son escasos los estudios en condiciones de campo, ante la ausencia de información acerca de la utilidad de *D. flagrans* en áreas de climas cálidos, Baudena *et al.* (2000) mezclaron las heces de un caballo desparasitado y alimentado con una dosis de  $2 \times 10^6$  clamidosporas de *D. flagrans*/Kg p.v., con las heces de caballos parasitados por ciatostominos, y las depositaron en un prado. De este modo demostraron que la presencia de *D. flagrans* disminuía los recuentos de L3 en un 66-99%.

En vista de los excelentes resultados obtenidos mediante la administración oral de clamidosporas de *D. flagrans*, se consideró la posibilidad de facilitar este procedimiento a los propietarios/cuidadores de los caballos (Tabla 5). En esta línea, Braga *et al.* (2009b) prepararon en el laboratorio pellets de alginato sódico con micelio del hongo larvicida, y administraron a un grupo de caballos 1 g/10 Kg p.v./semana durante seis meses. Mediante análisis coprológicos

comprobaron una reducción significativa en los recuentos fecales de huevos de ciatostominos, así como de L3 en muestras de hierba. Este efecto beneficioso se corroboró con un incremento en la ganancia de peso de los equinos, de modo que los autores concluyeron que la preparación de pellets con micelio de *D. flagrans* constituía una herramienta muy útil para reducir la presencia de ciatostominos en áreas tropicales como el sureste de Brasil. En un ensayo posterior conducido en la misma región, Araujo *et al.* (2010) señalaron de nuevo que *D. flagrans* y *M. thaumasium* sobrevivían al tracto digestivo sin experimentar cambios en su capacidad predadora de L3 de *Strongyloides westeri*. Sin embargo, en otro estudio desarrollado en el sur de Brasil se lograron unos resultados un poco diferentes, puesto que a pesar de que mediante la administración oral de una dosis de  $1 \times 10^6$  clamidosporas de *D. flagrans* a un grupo de potros se consiguió disminuir la presencia de larvas L3 en el suelo, esto no se reflejó en los valores fecales de eliminación de huevos de ciatostominos, y no se obtuvieron diferencias en relación con el grupo testigo (De Almeida *et al.*, 2012).

Tabla 5.- Ensayos de vehiculación de esporas de hongos ovidas.	
Fernández <i>et al.</i> (1999)	Adsorbidas en cereales
Sagüés <i>et al.</i> (2011)	En bloques minerales
Sagüés <i>et al.</i> (2011)	En bolos de liberación controlada
Braga <i>et al.</i> (2009) Casillas-Aguilar <i>et al.</i> (2007)	Pellets caseros
Arias <i>et al.</i> (2012a)	Solución acuosa sobre el suelo
Arias <i>et al.</i> (2012b)	Premezcla alimentaria
Cortiñas <i>et al.</i> (2015) Hernández <i>et al.</i> (2016) Arroyo <i>et al.</i> (2016)	Pellets nutricionales industriales
Gallardo (2016)	Pan rallado
Almendros (2016)	Gelatina de agar de algas

Se han ensayado otras formulaciones en equinos, como la elaboración de premezclas alimentarias de soluciones acuosas de esporas de *D. flagrans*. En el parque zoológico “Marcelle Natureza”, se desparasitaron con ivermectina + praziquantel, cebras, asnos y burros africanos. Durante el año siguiente al tratamiento se les administró una premezcla preparada con concentrado alimenticio a la que se añadieron  $2 \times 10^6$  clamidosporas *D. flagrans*/Kg p.v., y se observaron unos valores de reducción fecal del recuento de huevos de estrongídeos (FECR) que oscilaron entre el 52% y el 95% (Arias *et al.*, 2012c).

Más recientemente, Hernández *et al.* (2016) llevaron a cabo un ensayo que consistió en la fabricación de concentrado comercial con esporas de *M. circinelloides* y *D. flagrans*. Con esta estrategia consiguieron que un grupo de caballos en pastoreo continuo no necesitase tratamiento antiparasitario frente a estrongídeos durante un periodo de 60 semanas.

Resulta especialmente notable el esfuerzo realizado en los últimos años en la búsqueda de formulaciones que faciliten la distribución de esporas entre animales de diferentes especies, aspecto clave para asegurar su utilización. El principal objetivo ha constituido en evitar incrementar el trabajo a desarrollar por propietarios/criadores, que ha llevado a la formulación en diferentes preparados alimenticios (Tabla 5). Gran parte de estas formulaciones se han elaborado de forma manual, en el laboratorio, y son escasos los ensayos con productos obtenidos en fábrica (Cortiñas *et al.*, 2015; Arroyo *et al.*, 2016; Hernández *et al.*, 2016). En la Fig. 6 se recoge un breve resumen de la comparación de algunas de las formulaciones de esporas de hongos parasiticidas, en el que se destacan las principales ventajas e inconvenientes.



## **2. OBJETIVOS**

- 1.- Desarrollar una estrategia para el control integrado de nematodos de caballos en pastoreo.
- 2.- Evaluar la eficacia de un procedimiento de control integrado de nematodos.
- 3.- Determinar el grado de aplicabilidad de la estrategia diseñada.

### 3. MATERIAL y MÉTODOS

En el presente estudio se diseñó una pauta para el control integrado de parásitos en caballos, basada en el análisis de heces, y en consecuencia en la administración de tratamiento farmacológico convencional (tratamiento curativo) y esporas de los hongos parasiticidas *Mucor circinelloides* y *Duddingtonia flagrans* (tratamiento preventivo).

En el diseño inicial se preveía la utilización de caballos de dos centros, localizados en Ortigueira (A Coruña) y Castro Riberas de Lea (Lugo). Sin embargo, a los cuatro meses se decidió finalizar la experiencia en Ortigueira, porque no nos aseguraban el cumplimiento del protocolo establecido.

#### 3.1. Caballos

Entre los meses de junio de 2016 y mayo de 2017, se tomaron muestras individuales de heces directamente del recto de 12 caballos adultos Pura Raza Galega (PRG) y cruces que se mantienen en pastoreo continuo en dos prados de aproximadamente 2 Ha en la Granja “Gayoso Castro”, situada en el municipio de Castro Riberas de Lea (43° 15' 83" N, 7° 05' 0" O), que dista 19 Km de la capital de la provincia. Se trata de un centro propiedad de la Diputación Provincial de Lugo, con la que el Grupo de Investigación COPAR mantiene un convenio de colaboración científica desde hace más de diez años.

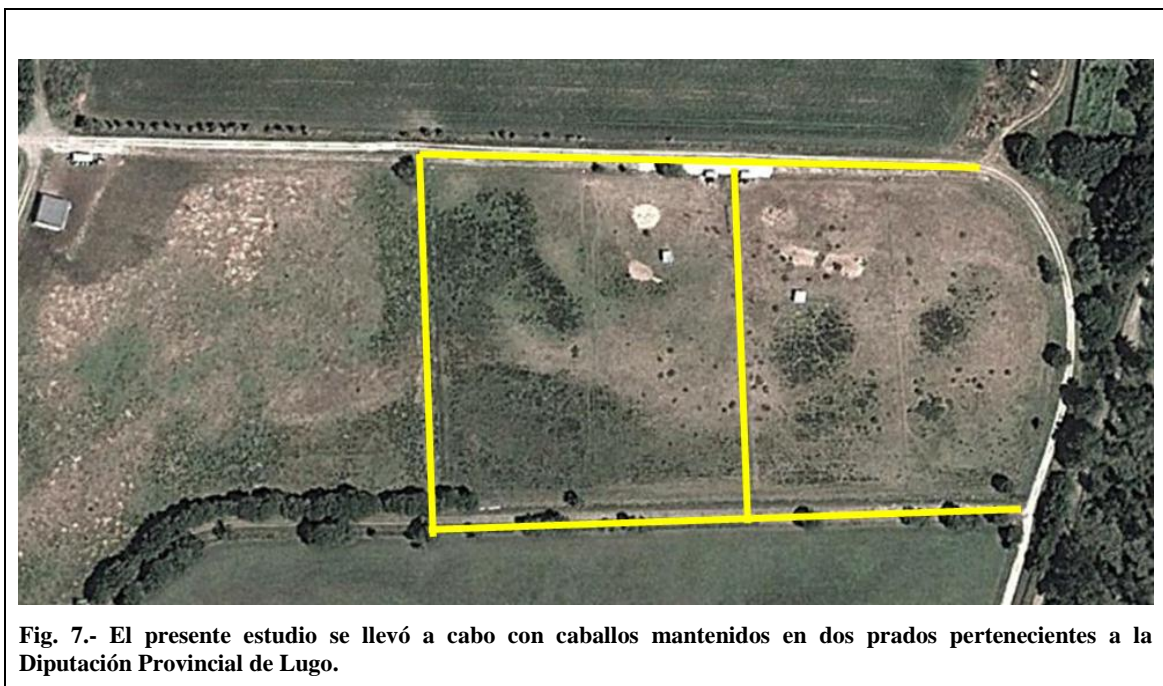


Fig. 7.- El presente estudio se llevó a cabo con caballos mantenidos en dos prados pertenecientes a la Diputación Provincial de Lugo.

Los prados cuentan con un refugio para que se cobijen los caballos, comederos y bebederos. Además de hacerlo directamente del pasto (febrero-junio y octubre-diciembre), los equinos se alimentan *ad libitum* con heno proporcionado periódicamente, y reciben concentrado alimentario en pellets los martes y los viernes de cada semana.

### 3.2. Producción de esporas de hongos parasitoides y elaboración de gelatinas

En primer lugar se prepararon placas (Petri) madre con gelatina comestible (Fig. 8), que se sembraron con un inserto obtenido de otra placa madre de *M. circinelloides* o *D. flagrans*, y se mantuvieron a temperatura ambiente hasta su empleo.



Fig. 8.- Placa madre con *M. circinelloides*.

Tabla 6.- Composición del medio empleado para el crecimiento de esporas de hongos parasitoides.	
H <sub>2</sub> O	1 L
Trigo	12.5 g
Caldo de pollo	500 mL
FhrAPS	0.423 mg

Para la obtención de cantidades elevadas de esporas de *M. circinelloides* y *D. flagrans*, se empleó el medio de cultivo líquido COPFr, compuesto a base de sales minerales, trigo y una proteína recombinante del tegumento del trematodo *Fasciola hepatica* (FhrAPS), al que se

añadió una preparación comercial de caldo de pollo (Tabla 6).



Fig. 9.-Cultivo de *M. circinelloides* en medio líquido.

Se procedió a la preparación de volúmenes de 8 L en bidones de policarbonato de 15 L, que se esterilizaron a continuación en autoclave a 121°C y 16 min. Una vez enfriado hasta alcanzar la temperatura ambiente, el medio se dispuso en botellas de plástico de 500 mL (Fig. 9), proporcionadas por el establecimiento hostelero “Hostal Bríos” (Lugo). Estos recipientes se reutilizaron una vez tras lavarlos en lavavajillas y mantenerlos bajo luz ultravioleta durante 30-60 min.

En cada botella se agregaron 150 mL de medio de cultivo y se dividieron en dos lotes; en el Laboratorio del Grupo COPAR (GI-2120; USC) de la Facultad de Veterinaria de Lugo, en la mitad de los recipientes se colocó un inserto de aproximadamente 4x4 cm extraído de placas madre (Petri) con gelatina comestible y esporas de *M. circinelloides*; en el Laboratorio de Aislamiento de Hongos de la Granja “Gayoso Castro” (Diputación Provincial de Lugo), se añadió un inserto con esporas de *D. flagrans* a la otra mitad de botellas con medio de cultivo.

Transcurrido un periodo de 30-60 días a temperatura ambiente, se procedió al recuento de esporas en las botellas, recogiendo a tal fin 30 µL de medio de cada botella, colocándolos entre un porta y un cubre de vidrio, y examinándolos bajo microscopio óptico a 40X (Fig. 10).

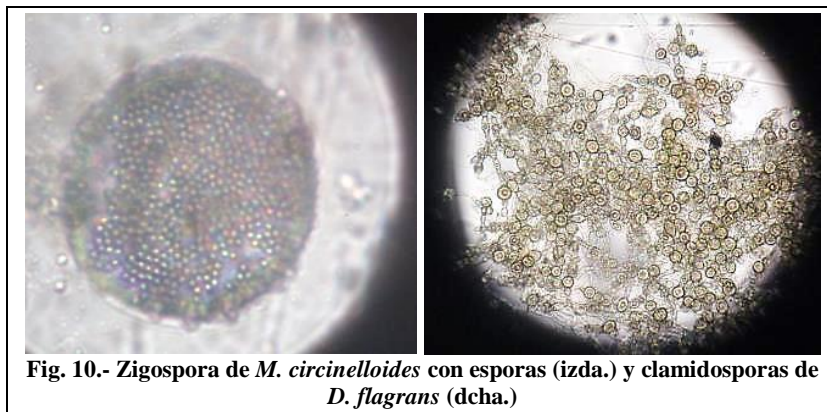


Fig. 10.- Zigospora de *M. circinelloides* con esporas (izda.) y clamidosporas de *D. flagrans* (dcha.)

De este modo, se seleccionaron todos los recipientes que alcanzaban una concentración mínima de  $10^6$  esporas de *M. circinelloides* y  $10^5$  de *D. flagrans*, cuyo contenido se mezcló en garrafas de 5 L. A continuación se vertió el medio con esporas de ambos hongos parasitoides en frascos Erlenmeyer, colocando 200 mL del medio con 5 g de una mezcla de avena, melaza y gelatina previamente esterilizadas en autoclave. Este medio se sometió a la acción de microondas durante 30 seg. Transcurrido este tiempo, se rellenaron moldes pasteleros de silicona o metal, que se mantuvieron en nevera a 4°C durante 1 hora aproximadamente. Posteriormente, las

gelatinas se colocaron en cajas de plástico que permanecieron en refrigeración durante un periodo máximo de 2 semanas (Fig. 11).

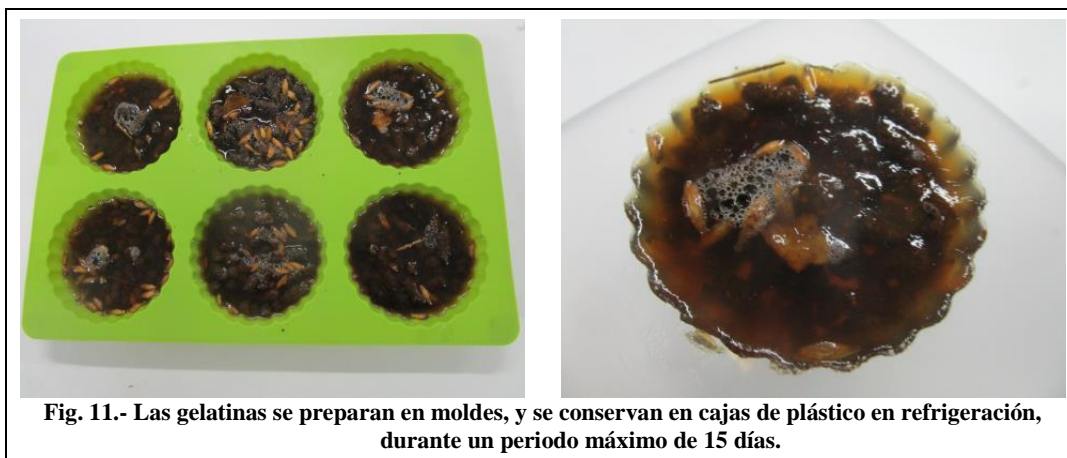


Fig. 11.- Las gelatinas se preparan en moldes, y se conservan en cajas de plástico en refrigeración, durante un periodo máximo de 15 días.

Mediante el recuento de esporas en cada una de estas porciones señaladas, se comprobó la presencia de  $\geq 3 \times 10^6$  esporas *M. circinelloides* + *D. flagrans* / gelatina a los 30 días.

### 3.2.1. Grado de aceptación de gelatina con esporas de hongos parasiticidas

Se emplearon 57 caballos de la provincia de Lugo, que nunca reciben premios, y raras veces suplemento. La prueba consistió en administrar una gelatina a cada individuo (Fig. 12), y cronometrar el tiempo que tardaban en ingerirla, recogiendo los datos generados. Estos resultados se muestran en la tabla 8.



Fig. 12.- Aunque en la mayoría de los casos las gelatinas se proporcionaron enteras (izda.), a veces resultó necesario trocearlas y mezclarlas con concentrado (dcha.).

### 3.3. Protocolo de control parasitario en los caballos

En junio de 2016 se administró a todos los caballos un tratamiento a base de ivermectina tópica, que consistió en la aplicación de una dosis de 50 mL Noromectin® / Kg. p.v. en su dorso. (Fig. 13)



**Fig. 13.- En el presente trabajo se administraron dos tratamientos antiparasitarios, a base de ivermectina tópica (izda.) y oxibendazol en granulado (dcha.).**

Posteriormente, en el mes de noviembre se administró de nuevo a todos los caballos una dosis oral de 50 mg de oxibendazol en granulado (Oxibendaziven®) / Kg p.v.

Con el fin de proceder al desarrollo del estudio se establecieron dos grupos de caballos:

G-E: 5 equinos (4 caballos y 1 yegua) mantenidos en el prado 1, que cada martes y viernes se suplementan con 1,5 Kg de concentrado en pellets para caballos (*Forequis*®). (Fig. 14) Además, desde el momento de la última desparasitación con oxibendazol y hasta el mes de mayo de 2017, cada individuo recibió al mismo tiempo que el concentrado, una gelatina que contenía una cantidad mínima de  $10^6$  esporas de *M. circinelloides* y de *D. flagrans*.

G-T: 7 equinos (2 caballos y 5 yeguas) que se alimentaban en el prado 2, y además recibían dos veces/semana (martes y viernes) 1,5 Kg del mismo concentrado que los caballos del grupo G-E (Fig. 14)



Fig. 14.- En el presente estudio se emplearon 12 caballos que se dividieron en dos grupos, G-E (alimentados con gelatinas con esporas) y G-T (sin gelatinas).

### 3.4. Evaluación de la eficacia del control parasitario

#### 3.4.1. Técnicas coprológicas

Para conocer el efecto de las medidas de control parasitario, se tomaron heces directamente del recto de cada caballo (y evitar así la contaminación con larvas de nematodos de vida libre), que se analizaron mediante las técnicas coprológicas de flotación con solución salina saturada, sedimentación y migración larvaria. Las muestras han de procesarse con prontitud, y si no es posible, se han de conservar refrigeradas para evitar que continúe la evolución de las formas parasitarias y esto dificulte su identificación.

*a) Flotación:* técnica basada en el empleo de soluciones de alta densidad (recomendándose la solución saturada de NaCl) para la detección de huevos de **cestodos** y **nematodos gastrointestinales**. Consiste en emulsionar 3 g de heces en 42 mL de agua hasta su completa disolución, filtrar por un tamiz de 150  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro, y centrifugar el filtrado en tubos de 12 mL a 1500 rpm durante 10 min. Descartado el sobrenadante, el sedimento se homogeneiza con solución salina saturada ( $\rho = 1,20 \text{ g/dL}$ ) y se rellenan las dos celdillas de una cámara McMaster, para visualizar con la ayuda del microscopio la parte alta de la cámara donde se encontrarán los huevos. Es importante recordar que el tiempo del procesado a la hora del recuento en la cámara ha de ser breve porque la solución salina deforma los huevos.

*b) Sedimentación:* indicada para el diagnóstico de **trematodos**. Se disuelven 3 g de heces en un volumen de agua (sin precisar), se filtra a través de una malla de 150  $\mu\text{m}$ , y se recoge en copas de decantación de 1 L. Transcurridos 15-20 min, se tira el agua hasta ajustar el volumen a 500

mL. Esta operación se repite hasta dejar el volumen en 50 mL. Se procede a rellenar la cámara McMaster y observar bajo microscopio, enfocándose en este caso la parte inferior de la cámara.

*c) Coprocultivo:* se aplica para conocer los géneros de nematodos gastrointestinales que pueden encontrarse en las heces. La finalidad es favorecer el desarrollo de los huevos de nematodos gastrointestinales estrongilados hasta L3, que se pueden identificar a nivel de género (en ocasiones incluso de especie) mediante claves morfológicas (Madeira de Carvalho *et al.*, 2007). Se colocan 20 g de heces en una caja de plástico, provista con una tapa agujereada para facilitar su aireación, y se mantienen en estufa a 25°C durante 15-20 días, humedeciéndolas con regularidad.

*d) Migración larvaria:* utilizada habitualmente para recuperar las larvas presentes en las heces, como podría ser el caso de nematodos broncopulmonares. En el presente estudio se aplicó a la obtención de las L3 de los coprocultivos. Se colocan 10 g de heces en un filtro de papel, que se lleva a un embudo con un tubo de goma provisto en su extremo final de una pinza o *clamp*. Se añade agua tibia hasta humedecer completamente la materia fecal, y se recoge el fluido después de 18-24 h; el análisis se realiza en cámaras de Favati.

### 3.4.2. Parámetros de eficacia

La eficacia de los antihelmínticos empleados se constató mediante la recogida de heces en el momento de la desparasitación, y a los 15 días post-tratamiento, siguiendo las indicaciones de la WAAVP (Kaplan 2004), que como se ha mencionado, se basa en la estimación del FECR:

$$\text{FECR (\%)} = [1 - (\text{HPG día 15} / \text{HPG día 0})] \times 100$$

(HPG: recuento de huevos por gramo de heces)

En base a los resultados de los análisis de heces, se calculó el *porcentaje de reducción de caballos positivos por coprología* (RCP):

$$\text{RCP (\%)} = [1 - (\text{CP día 15} / \text{CP día 0})] \times 100$$

(CP: número de caballos positivos por coprología)

Estas fórmulas se aplicaron también con frecuencia mensual para conocer las variaciones de las cifras de eliminación de huevos en los dos grupos, y el porcentaje de positividad en los caballos.

Finalmente, se determinó el *periodo de reaparición de huevos en heces* o ERP, definido como la semana después de la desparasitación de un équido, en la que el FECR alcanza valores inferiores al 90% (con un intervalo de confianza del 95%) (Nielsen *et al.*, 2013).

### **3.5. Análisis estadístico**

Los resultados obtenidos se analizaron mediante ANOVA, con el paquete estadístico SPSS versión 20.0. Se consideró que las diferencias eran significativas cuando  $P < 0,05$ .

Todos los datos se analizaron con el test de Kolmogorov-Smirnov para saber si seguían una distribución normal o no. También se aplicó un test de homogeneidad de varianzas, para saber si había diferencias entre estos parámetros.

### **3.6. Resumen de las actividades realizadas y coste**

Para poder llevar a cabo este estudio se acudió a la Granja “Gayoso Castro”, situada a 19 Km de la ciudad de Lugo, tanto para proceder a la toma de muestras como para elaborar las gelatinas, realizando 104 desplazamientos a esta localización, lo que supone un coste de 751€.

El número de muestras de heces recogidas suman un total de 156, que se reparten en 24 de ellas para la valoración de los dos tratamientos farmacológicos (Ivermectina y Oxibendazol) y el resto (132) para la monitorización del control parasitario en ambos grupos durante todos los meses del estudio. De cada una de las muestras, se realizó flotación, sedimentación, coprocultivo y una migración, por lo tanto se realizaron 640 análisis coprológicos. El precio habitual para este tipo de análisis se encuentra entre 3-6€/muestra, lo que significa que el montante total resultaría de 1920-3840€.

Se administraron un total de 360 gelatinas al grupo G-E, gastando en su producción 14,4 L de medio y 1,152 Kg de gelatina. El coste directo de la obtención de cada gelatina ascendió a 0,1€.

## 4. RESULTADOS y DISCUSIÓN

### 4.1. Eficacia de antiparasitarios convencionales

Mediante coprología solo se observaron huevos de nematodos gastrointestinales estrongílicos en las heces (Fig. 15), y no se detectaron protozoos o cestodos. La prueba de sedimentación resultó negativa.



Fig. 15.- Los caballos del estudio eliminaban en las heces huevos de nematodos estrongílicos.

Al realizar coprocultivos antes de la administración de la lactona macrocíclica, en las heces de los caballos se identificaron L3 de ciatostominos (también conocidos como pequeños estróngilos), y la mayoría pertenecían al género *Cyathostomum* (Fig. 16).

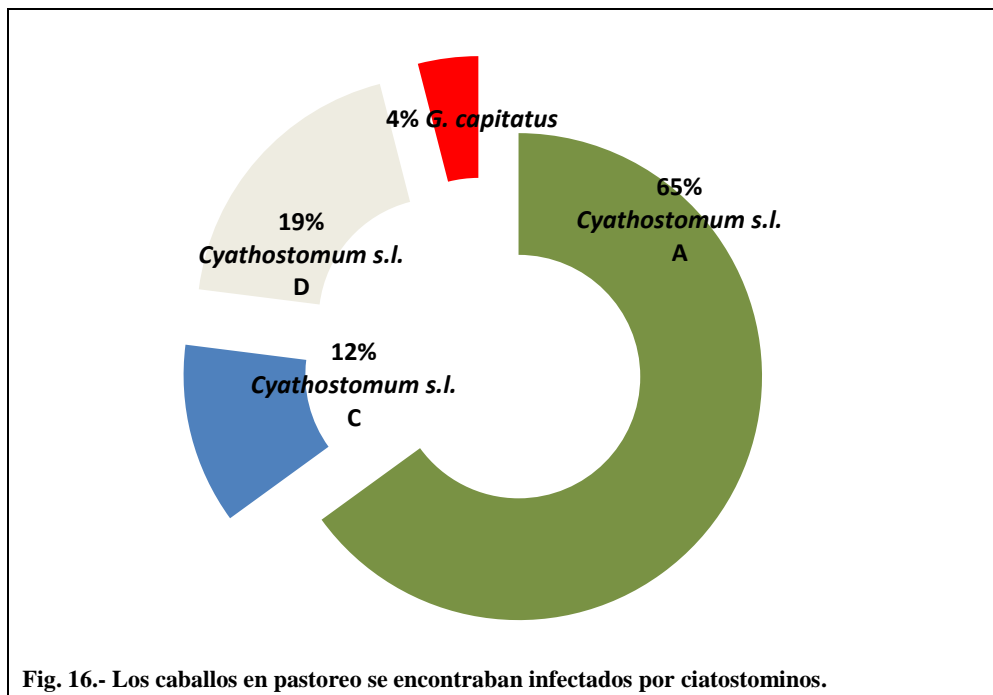


Fig. 16.- Los caballos en pastoreo se encontraban infectados por ciatostominos.

En la Tabla 7 se puede observar que la aplicación tópica de ivermectina en el mes de junio resultó muy eficaz, con valores del FECR del 99-100% y del RCP del 80-100%. El periodo de reaparición de huevos (ERP) se estimó en 2,5 meses (10 semanas), similar al detectado en estudios desarrollados previamente en la Comunidad Autónoma Gallega (Francisco *et al.*, 2012;

Hernández *et al.*, 2016). También se han obtenido valores del FECR del 100% al aplicar ivermectina por vía oral en pasta (Rossano *et al.*, 2010; Sokól *et al.*, 2015).

Con la administración de oxibendazol en granulado en el mes de noviembre, se obtuvieron unos valores de eficacia notables, como se deduce de la estimación del FECR (96-98%) y RCP (60-85%). En este caso, el ERP resultó de 1,5 meses (6 semanas). No existen muchos estudios acerca del efecto de este bencimidazol sobre los estrogílidos, pero Lyons *et al.* (2008) señalaron una completa inactividad (FECR= 0%). En Galicia, Francisco (2010) obtuvo una eficacia (FECR) del 94% al utilizar otro fármaco de la misma familia, el fenbendazol.

Tabla 7.- Valores del FECR en caballos bajo control parasitario.				
Mes	G-E		G-T	
	FECR	RCP	FECR	RCP
Jul	99	80	100	100
Ago	90	20	99	71
Sep	65	0	74	0
Oct	62	0	73	0
Nov	63	0	55	0
Dic	96	70	98	90
Ene	62	0	75	0
Feb	21	0	2	0
Mar	18	0	2	0
Abr	26	0	0	0
May	15	0	0	0

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran una eficacia similar con la lactona macrocíclica (ivermectina) y con el bencimidazol (oxibendazol), pero difieren en el ERP. El periodo que transcurre entre que los équidos ingieren las L3 de estrogílidos y la aparición de los huevos en las heces se denomina *periodo de prepatencia*, y tiene una duración de 8-11 semanas (Corning, 2009). Cuando el ERP es inferior al periodo de prepatencia, se concluye que el fármaco es eficaz frente a los parásitos adultos que se encuentran en el lumen intestinal, y presente escasa o nula actividad contra las formas inmaduras. Profundizando en esta hipótesis,

también se ha planteado la sospecha de *resistencia* a algunos antihelmínticos para explicar la aparición de huevos en periodos inferiores a 10 semanas post-tratamiento (Larsen *et al.*, 2011). En base a estas consideraciones, los datos presentados en este estudio reflejan una mayor actividad de la ivermectina tópica sobre las larvas de los estrogilidos.

Otro aspecto a considerar es la variación en los valores del RCP. En los dos grupos empleados en el presente estudio, todos los équidos eliminaban huevos a los 2,5 meses del tratamiento con ivermectina tópica, en tanto que este periodo se acortó a 1,5 meses al administrar oxibendazol (Tabla 6). De estos resultados se deduce que el grado de contaminación por estrogilidos en cada prado es mucho más elevado después del tratamiento de los équidos con el bencimidazol, contribuyendo a incrementar el riesgo de infección cuando pastan. Teniendo en cuenta que el régimen era de pastoreo continuo porque los équidos siempre se mantuvieron en el mismo prado, esto supone un grave problema, que refuerza la necesidad de disponer de medidas para el control de las formas parasitarias que se encuentran en el suelo.

#### 4.2. Grado de aceptación de las gelatinas

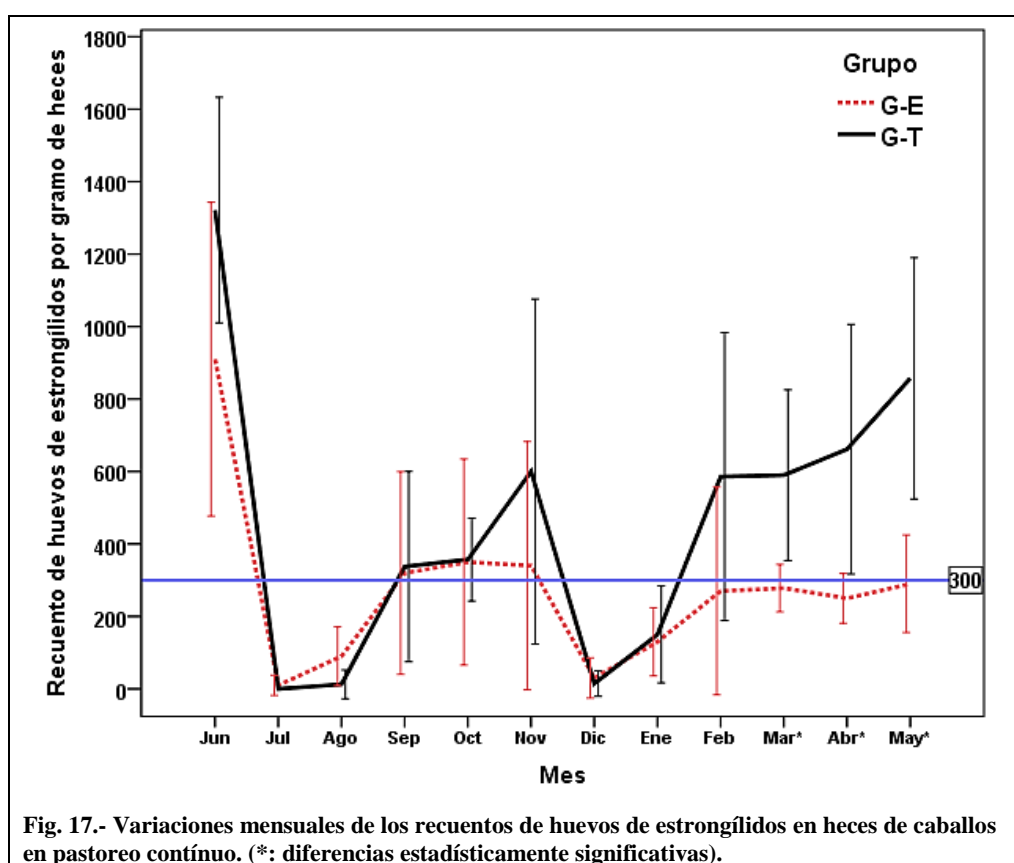
En la Tabla 8 se resumen los datos obtenidos al ofrecer las gelatinas con esporas de *M. circinelloides* y *D. flagrans* a équidos de la provincia de Lugo. Dos de cada tres ingirieron la gelatina en menos de 5 segundos, y la mayoría (tres de cada cuatro) lo hicieron empleando menos de 30 s. Resultó necesario trocearla en el 10% de los casos, y solamente el 7% de los équidos se negaron a ingerir la gelatina.

<b>Tiempo</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>&lt;5 s</b>	<b>38</b>	<b>67</b>
<b>5 - 30 s</b>	<b>6</b>	<b>11</b>
<b>30 s - 1 min</b>	<b>3</b>	<b>5</b>
<b>Hubo que trocearlo</b>	<b>6</b>	<b>10</b>
<b>Rehusó</b>	<b>4</b>	<b>7</b>

Estas observaciones señalan que la gelatina elaborada en el presente estudio resulta altamente apetecible para los équidos, lo que asegurará que estos animales la ingieran sin problema, facilitando así la administración de una cantidad adecuada de esporas de hongos parasiticidas que han de actuar sobre los parásitos en las heces.

### 4.3. Cinética de eliminación de huevos de strongílidos

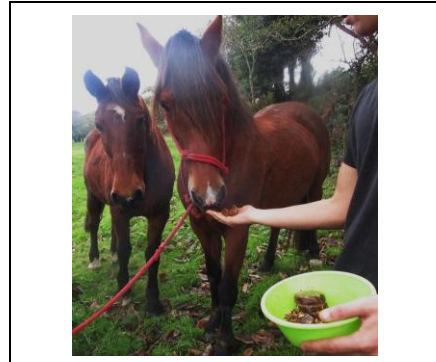
En la Figura 17 se representan las variaciones mensuales de los recuentos fecales de huevos de strongílidos. Como se mencionó anteriormente, después de la administración de ivermectina tópica no se detectaron huevos en las heces de los dos grupos de équidos; a partir del mes de agosto aumentaron los valores de eliminación, y en septiembre se alcanzaron cifras superiores a los 300 HPG (huevos por gramo de heces).



En el mes de noviembre se obtuvieron recuentos de 600 HPG en el grupo G-T, y de 350 HPG en el G-E, motivo que nos llevó a considerar la aplicación de antiparasitario de nuevo (Fig. 13). Se escogió el oxibendazol a fin de rotar el principio activo. A pesar de que la eficacia también

fue elevada, en el G-T se obtuvieron recuentos superiores a 600 HPG después de 2,5 meses, y al final del ensayo (mayo, 2017) en torno a 800 HPG, datos que señalan la necesidad de administrar nuevos tratamientos a estos individuos.

Los équidos del grupo G-E, a partir de noviembre recibieron cada martes y viernes gelatinas con esporas de *M. circumloides* y *D. flagrans* (Fig. 18). Se comprobó que en enero aumentaron los recuentos fecales de huevos de strongílidos, hasta alcanzar valores medios alrededor de 280 HPG hasta el final del estudio. Tres de los équidos de este grupo presentaron tasas de eliminación de huevos superiores a 300 HPG.



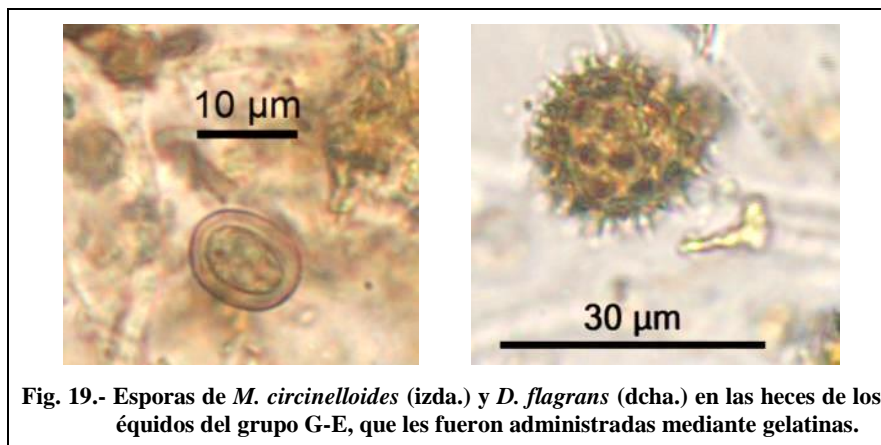
**Fig. 18.- Équidos del G-E ingiriendo gelatinas con esporas parasiticidas.**

Al observar que los datos de eliminación fecal de huevos no se ajustaban a una distribución normal ( $Z= 2,057$ ,  $P= 0,001$ ; Kolmogorov-Smirnov), y que las varianzas no eran homogéneas ( $F= 10,048$ ,  $P= 0,002$ ; Levene), se aplicó la prueba no paramétrica “U” de Mann-Whitney para establecer diferencias entre los dos grupos, obteniéndose diferencias estadísticamente significativas en el conjunto del estudio ( $U= -2,599$ ,  $P= 0,009$ ). Teniendo en cuenta que se aplicaron dos antihelmínticos diferentes en junio y noviembre, se dividió el estudio en estas dos etapas, observando que en el primer semestre (junio-noviembre) las diferencias no eran significativas ( $U= -1,107$ ,  $P= 0,268$ ), al contrario que en el segundo semestre (diciembre-mayo), en el que se administraron las gelatinas a los équidos del G-E ( $U= -2,851$ ,  $P= 0,004$ ). Estas diferencias se establecieron en los meses de marzo, abril y mayo del segundo semestre (Fig. 13).

Los resultados del presente estudio coinciden, en parte, con los obtenidos por Hernández *et al.* (2016) en caballos en pastoreo continuo suplementados con pellets nutricionales elaborados de forma industrial con esporas de *M. circumloides* y *D. flagrans*, aunque en este caso solo uno de los équidos superaba la mencionada tasas de eliminación. La aparente disparidad que se observa entre ambos ensayos podría deberse a la diferente frecuencia de administración de esporas observada, así como a su formulación. En la presente investigación, las gelatinas se administraron dos veces/semana, martes y viernes, en tanto que en el trabajo de Hernández *et al.* (2016) los équidos recibían diariamente 2,5 kg de concentrado alimentario (pellet) con esporas de los hongos parasiticidas (a una concentración de  $2 \cdot 10^6$  esporas de cada especie/kg concentrado), lo que equivale a una cantidad diaria de  $5 \cdot 10^6$  esporas. Las gelatinas se preparan con 40 mL de un medio con una concentración media de  $10^4$  esporas/mL, que significan  $4 \cdot 10^5$

esporas/día. De este modo, se estima que la cantidad diaria de esporas recibidas por los équidos del G-E es 12,5 veces inferior a la del estudio mencionado.

Teniendo en cuenta que las gelatinas se administraron dos veces/semana, al comparar ambas investigaciones resulta que en el presente estudio los équidos recibieron  $8 \cdot 10^5$  esporas/semana, por  $35 \cdot 10^6$  esporas/semana en la investigación con pellets, es decir, existe una diferencia de 43,75 cada semana.0



**Fig. 19.-** Esporas de *M. circinelloides* (izda.) y *D. flagrans* (dcha.) en las heces de los équidos del grupo G-E, que les fueron administradas mediante gelatinas.

Los datos obtenidos mediante la administración de gelatinas con esporas de hongos parasitoides a équidos en pastoreo continuo confirman que esta formulación también es muy apropiada para asegurar su presencia en las heces de los equinos (Fig. 19), de modo que constituyen otro procedimiento muy interesante para desarrollar actividades orientadas a la prevención de infecciones por nematodos estrogilidos en animales.

Como se indicó previamente en la Tabla 5, el descubrimiento de que las esporas de algunos hongos filamentosos tenían la capacidad de resistir el paso a través del tracto gastrointestinal sin experimentar alteraciones (Araujo *et al.*, 2004), impulsó la realización de diferentes formulaciones para conseguir que en la materia fecal de los animales infectados se pongan en contacto los huevos de parásitos con sus antagonistas naturales, en este caso algunas especies de hongos saprofitos. En los últimos años, se han realizado notables esfuerzos para garantizar este control biológico, examinando en especial nuevas vías de dispersión prácticas y cómodas, que no aumenten el trabajo de cuidadores/criadores.

Para este propósito, la vía oral parece la más adecuada, teniendo en cuenta que la acción de los hongos sobre los parásitos interrumpe su desarrollo, evitando que un porcentaje importante alcance la fase infectiva, lo que disminuye el riesgo de infección de los animales (Suárez, 2017).

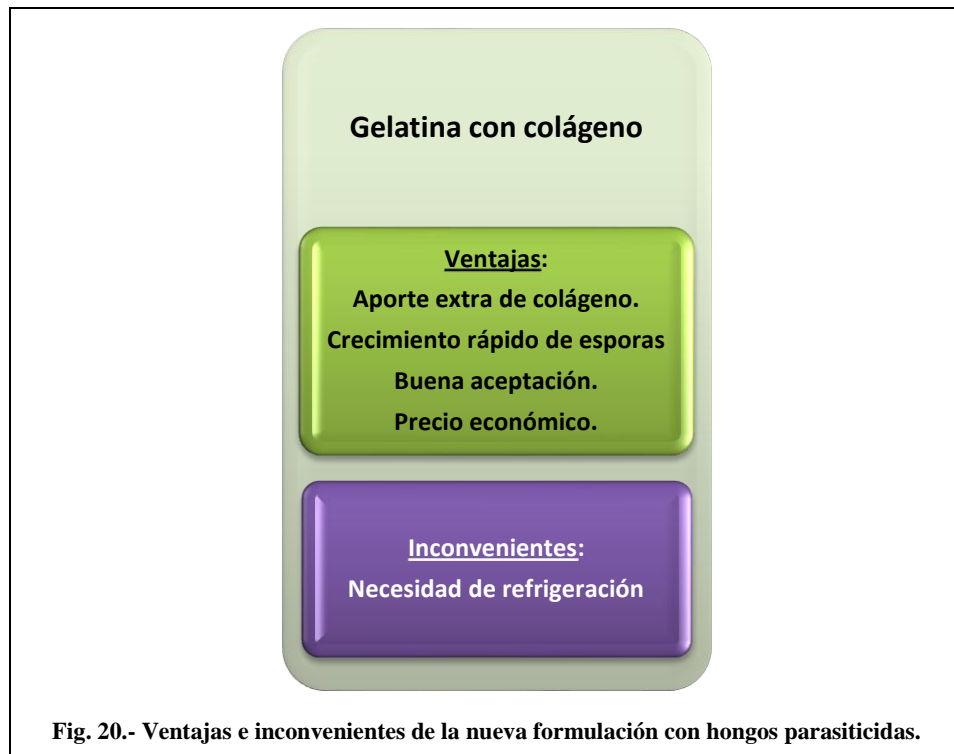
Como ha sido citado en la Introducción, en estudios iniciales las esporas se proporcionaban adsorbidas en cereales (Fernández *et al.*, 1999); posteriormente se sucedieron experimentos para analizar otras formulaciones, como bloques minerales o de liberación controlada (Sagües *et al.* 2011). El siguiente paso consistió en la fabricación *manual/laboratorial* de pellets nutricionales con esporas o micelio (Araujo *et al.*, 2004), que años más tarde se realizaría de forma industrial, en una fábrica de alimentos para animales (Hernández *et al.*, 2016).

A la hora de considerar la administración de esporas a équidos, es indispensable tener en cuenta que en muchas situaciones la alimentación se basa mayoritariamente en el aprovechamiento de pastos en regímenes semi-extensivos, como sucede en regiones del Noroeste Peninsular (Paz-Silva *et al.*, 2015). En estos casos, no es frecuente la suplementación diaria con concentrado, cereales, etc., lo que dificultaría la distribución de los hongos entre los animales. En el conocimiento de que resulta bastante común proporcionar pan (revenido) duro a los caballos, en un estudio reciente se determinó la utilidad del pan rallado para propagar esporas de hongos parasiticidas, que posteriormente se administraron en forma de harina de pan a caballos en pastoreo continuo; los resultados mostraron que en las heces de los caballos disminuía la viabilidad de las larvas L3 de estrongílicos en más de la mitad (Gallardo, 2016).

Una costumbre extendida entre los propietarios/cuidadores de caballos consiste en premiarlos cuando se comportan del modo esperado, realizan correctamente un ejercicio, o simplemente para manifestarles cariño y atención. Con esta idea, Almendros (2016) desarrolló un estudio para propagar hongos ovidas en productos a base de agar (procedente de algas marinas), y una vez alcanzada una concentración en torno a  $3 \cdot 10^5$  esporas/gelatina, se administraron a équidos en pastoreo. Esta gelatina resultó muy apetecible y palatable, y después de cinco días de ingesta continuada, la viabilidad de las L3 de estrongílicos en las heces disminuyó más del 50%. La utilidad de este método para obtener (y proporcionar) cantidades elevadas de esporas, junto con el grado de aceptación entre los équidos, hacen de esta formulación una herramienta muy beneficiosa para desarrollar medidas preventivas basadas en el control biológico de parásitos en las heces de individuos infectados. Sin embargo, pueden surgir algunos inconvenientes, entre los que se encuentra el periodo de tiempo que ha de transcurrir desde que se *siembran* las gelatinas hasta que tienen una cantidad óptima de esporas, en torno a 30 días a temperatura ambiente. Durante este intervalo, es necesario extremar las precauciones no solo para conseguir un desarrollo óptimo de los hongos, sino también para evitar contaminaciones por otros microorganismos, la acción perniciosa de ácaros, o incluso el derretimiento de la gelatina.

A diferencia del trabajos anteriores, en la presente investigación se recurrió a la fabricación de gelatinas con el medio de cultivo con una concentración mínima de  $10^5$  -  $10^6$  esporas/mL, que

una vez elaboradas ya se pueden ingerir, y no hace falta esperar a que transcurra un periodo de tiempo determinado. Además resulta un método más económico debido a que se emplea gelatina de hostelería y no hay que asumir el elevado precio del agar-marino. Otras ventajas (Fig. 20) consisten en que la gelatina se prepara con colágeno porcino, que supone además un aporte añadido muy beneficioso de un número importante de aminoácidos y de colágeno. El inconveniente de esta formulación podría radicar en la necesidad de conservar bajo refrigeración.



## 5. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en el presente ensayo se concluye que:

- 1.- La asociación de un tratamiento antiparasitario eficaz con la elaboración de gelatinas comestibles con esporas de hongos parasitocidas, ofrecen una estrategia muy útil para el control integrado de nematodos de caballos en pastoreo.
- 2.- La aplicación de un procedimiento de control integrado de nematodos hace posible reducir la frecuencia de desparasitación de caballos en pastoreo.
- 3.- Una estrategia de control integrado de nematodos basada en la administración de gelatinas comestibles a base de colágeno es completamente asumible por los propietarios/cuidadores de caballos.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Almendros M. (2016). Control de estrogilidos en caballos en pastoreo. Trabajo de Fin de Grado. Facultade de Veterinaria de Lugo, Universidade de Santiago de Compostela.
- Araujo JV, Guimaraes MP, Campos AK, Sá NC, Sarti P, Assis RCL. (2004). Control of bovine gastrointestinal nematode parasites using pellets of the nematode-trapping fungus *Monacrosporium thaumasium*. *Ciência Rural*, Santa Maria-RS. 34: 457-463
- Araujo JM, Araújo JV, Braga FR, Carvalho RO. (2010). *In vitro* predatory activity of nematophagous fungi and after passing through gastrointestinal tract of equine on infective larvae of *Strongyloides westeri*. *Parasitol. Res.* 107: 103-108.
- Araujo JM, Araújo JV, Braga FR, Tavela AO, Ferreira SR, Soares FE, Carvalho GR. (2012). Control of *Strongyloides westeri* by nematophagous fungi after passage through the gastrointestinal tract of donkeys. *Braz. J. Vet. Parasitol.* 21: 157-160.
- Arias MS, Cazapal-Monteiro C, Valderrábano E, Miguélez S, Rois JL, López-Arellano ME, Madeira de Carvalho L, Mendoza de Gives, Sánchez-Andrade R, Paz-silva A. (2012a). Control of strongyles in captive animals by using the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans*. XXVII Congreso Nacional de la Sociedad Italiana de Parasitología, Alghero, Italia.
- Arias MS, Suárez J, Cortiñas FJ, Francisco I, Suárez JL, Romasanta A, Cazapal-Monteiro C. (2012b). Restoration of fungal biota in the soil is essential to prevent infection by endoparasites in grazing animals.
- Arias MS, Piñeiro P, Hillyer GV, Francisco I, Cazapal-Monteiro C, Sánchez-Andrade R, Paz-Silva A. (2012c). Enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of equine antibodies specific to a recombinant *Fasciola hepatica* surface antigen in an endemic area. *Parasitol. RE.* 110: 1001-1007.
- Arias MS, Francisco I, Miguélez S, Arroyo FL, Suárez J, Alonso N, Piñeiro P, Sanchís J, Madeira LM, Sánchez-Andrade R.. (2014). Vías de diseminación de esporas de hongos parasiticidas en agro-ganadería biológica. V Congreso Internacional de Agroecología y Agricultura Ecológica. Vigo, España.
- Arroyo FL, Arias MS, Cazapal-Monteiro CF, Hernández JA, Suárez J, Miguélez S, Romasanta A, Sánchez-Andrade R, Paz-Silva A. (2016). The capability of the fungus *Mucor circinelloides* to maintain parasitocidal activity after the industrial feed pelleting enhances the possibilities of biological control of livestock parasites. *Biol. Control.* 92: 38-44.

- Baudena MA, Chapman MR, Larsen M, Klei TR. (2000). Efficacy of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in reducing equine cyathostome larvae on pasture in south Louisiana. *Vet. Parasitol.* 89: 219-230.
- Bird J, Herd RP. (1995). *In vitro* assessment of two species of nematophagous fungi (*Arthrobotrys oligospora* and *Arthrobotrys flagrans*) to control the development of infective cyathostome larvae from naturally infected horses. *Vet. Parasitol.* 56: 181-187.
- Braga FR, Araújo JV, Silva AR, Araujo JM, Carvalho RO, Tavela AO, Campos AK, Carvalho GR. (2009). Biological control of horse cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) using the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in tropical southeastern Brazil. *Vet. Parasitol.* 163: 335-340.
- Buzatti A, De Paula Santos C, Fernandes MA, Yoshitani UY, Sprenger LK, Dos Santos CD, Molento MB. (2015). *Duddingtonia flagrans* in the control of gastrointestinal nematodes of horses. *Exp Parasitol.* 159: 1-4.
- Corning S. (2009). Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. *Parasit. Vectors.* 2: S1.
- Cortiñas FJ, Cazapal-Monteiro CF, Hernández JA, Arroyo FL, Miguélez S, Suárez J, López de Arellano ME, Sánchez-Andrade R, Mendoza de Gives P, Paz-Silva A, Arias MS. (2015). Potential use of *Mucor circinelloides* for the biological control of certain helminths affecting livestock reared in a care farm. *Biocontrol. Sci. Techn.* 25: 1443-1452.
- De Almeida GL, Santurio JM, Filho JO, Zanette RA, Camillo G, Flores AG, Da Silva JH, De La Rue ML. (2012). Predatory activity of the fungus *Duddingtonia flagrans* in equine strongyle infective larvae on natural pasture in the Southern Region of Brazil. *Parasitol. Res.* 110: 657-662.
- Ehizibolo DO, Kamani J, Ehizibolo PO, Egwu KO, Dogo GI, Salami-Shinaba JO. (2012). Prevalence and significance of parasites of horses in some States of northern Nigeria. *J. Equine Sci.* 23: 1-4.
- Elsener J, Villeneuve A. (2009). Comparative long-term efficacy of ivermectin and moxidectin over winter in Canadian horses treated at removal from pastures for winter housing. *Can. Vet. J.* 50: 486-490.
- Fernández AS, Larsen M, Nansen P, Grønvold J, Henriksen A, Bjørn H, Wolstrup J. (1999). The efficacy of two isolates of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* against *Dictyocaulus viviparus* larvae in faeces. *Vet. Parasitol.* 85: 289-304.

- Francisco I, Arias M, Cortiñas FJ, Francisco R, Mochales E, Sánchez JA, Uriarte J, Suárez JL, Morrondo P, Sánchez-Andrade R, Díez-Baños P, Paz-Silva A. (2009a). Silvopastoralism and autochthonous equine livestock: analysis of the infection by endoparasites. *Vet. Parasitol.* 164: 357-362.
- Francisco I, Sánchez JA, Cortiñas FJ, Francisco R, Mochales E, Arias M, Mula P, Suárez JL, Morrondo P, Díez-Baños P, Sánchez-Andrade R, Paz-Silva A. (2009b). Clinical trial of efficacy of ivermectin *pour-on* against gastrointestinal parasitic nematodes in silvopasturing horses. *Equine Vet. J.* 41: 713-715.
- Francisco I. (2010). Epidemiología de los principales parasitismos del caballo en Galicia. Tesis Doctoral, Facultade de Veterinaria de Lugo, Universidade de Santiago de Compostela.
- Francisco I, Sánchez JA, Cortiñas FJ, Francisco R, Suárez J, Cazapal C, Suárez JL, Arias MS, Morrondo P, Sánchez-Andrade R, Paz-Silva A. (2011). Efficacy of ivermectin *pour-on* against nematodes infecting foals on pasture: coprological and biochemical analysis. *J Equine Vet. Sci.* 31: 530-535.
- Francisco R, Paz-Silva A, Francisco I, Cortiñas FJ, Miguélez S, Suárez J, Sánchez-Andrade R. (2012). Preliminary analysis of the results of selective therapy against strongyles in pasturing horses. *Equine Vet. J.* 32: 274-280.
- Francisco Vázquez R. (2013). Utilidad de la detección de anticuerpos para el diagnóstico de infecciones parasitarias en équidos. Tesis Doctoral, Facultade de Veterinaria de Lugo, Universidade de Santiago de Compostela.
- Gallardo M. (2016). Empleo de hongos frente a los helmintos digestivos de los caballos. Trabajo de Fin de Grado. Facultade de Veterinaria de Lugo, Universidade de Santiago de Compostela.
- Gürler AT, Bölükbaş CS, Açıci M, Umur S. (2010). Check list of the helminths of equines in Turkey. *Turkiye Parazitol. Derg.* 34: 40-44.
- Hernández JA, Arroyo FL, Suárez J, Cazapal-Monteiro C, Romasanta A, López-Arellano ME, Pedreira J, Madeira de Carvalho LM, Sánchez-Andrade R, Arias MS, Mendoza de Gives P, Paz-Silva A. (2016). Feeding horses with industrially manufactured pellets with fungal spores to promote nematode integrated control. *Vet. Parasitol.* 229: 37-44.
- Hertzberg H, Schwarzwald CC, Grimm F, Frey CF, Gottstein B, Gerber V. (2014). Helminth control in the adult horse: the need for a re-orientation. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 156: 61-70.
- Hinney B, Wirtherle NC, Kyule M, Miethel N, Zessin KH, Clausen PH. (2011). Prevalence of helminths in horses in the state of Brandenburg, Germany. *Parasitol. Res.* 108: 1083-1091.
- Kaplan RM. (2004). Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. *Trends Parasitol.* 20: 477-481.

- Kwa MS, Veenstra JG, Van dijk M, Roos MH. (1995). Beta-tubulin genes from the parasitic nematode *Haemonchus contortus* modulate drug resistance in *Caenorhabditis elegans*. *J Mol Biol.*, 246: 500-510.
- Larsen M, Nansen P, Wolstrup J, Grønvold J, Henriksen SA, Zorna A. (1995). Biological control of trichostrongyles in calves by the fungus *Duddingtonia flagrans* fed to animals under natural grazing conditions. *Vet. Parasitol.* 60: 321-330.
- Larsen M, Nansen P, Grøndahl C, Thamsborg SM, Grønvold J, Wolstrup J, Henriksen SA, Monrad J. (1996). The capacity of the fungus *Duddingtonia flagrans* to prevent strongyle infections in foals on pasture. *Parasitology.* 113: 1-6.
- Larsen ML, Ritz C, Petersen SL, Nielsen MK. (2011). Determination of ivermectin efficacy against cyathostomins and *Parascaris equorum* on horse farms using selective therapy. *Vet. J.* 188: 44-47.
- Lloyd S. (2009). Effects of previous control programmes on the proportion of horses shedding small numbers of strongyle-type eggs. *Vet. Rec.* 164: 108-111.
- Lyons ET, Tolliver SC, Ionita M, Collins SS. (2008). Evaluation of parasitocidal activity of fenbendazole, ivermectin, oxbendazole, and pyrantel pamoate in horse foals with emphasis on ascarids (*Parascaris equorum*) in field studies on five farms in Central Kentucky in 2007. *Parasitol. Res.* 103: 287-291.
- Madeira de Carvalho LM. (2006). Os equídeos em Portugal: de animais de produção a animais de companhia. *Impacte nas Doenças Parasitárias. Med. Vet. (Revista AEFMV).* 62: 13-24.
- Madeira de Carvalho LM, Gomes L, Cernea M, Cernea L, Santos CA, Bernardes N, Rosario MA, Soares MJ, Fazendeiro I. (2007). Parasitismo gastrointestinal e controlo em asininos e híbridos estabulados. *Rev. Port. Ciências Vet.* 102: 225-231.
- Molento MB, Antunes J, Bentes RN, Coles GC. (2008). Anthelmintic resistant nematodes in Brazilian horses. *Vet. Rec.* 162: 384-385.
- Nielsen MK, Kaplan RM, Thamsborg SM, Monrad J, Olsen SN. (2007). Climatic influences on development and survival of free-living stages of equine strongyles: implications for worm control strategies and managing anthelmintic resistance. *Vet. J.* 174: 23-32.
- Nielsen MK, Baptiste KE, Tolliver SC, Collins SS, Lyons ET. (2010). Analysis of multiyear studies in horses in Kentucky to ascertain whether counts of eggs and larvae per gram of feces are reliable indicators of numbers of strongyles and ascarids present. *Vet. Parasitol.* 174: 77-84.

- Nielsen MK, Mittel L, Grice A, Erskine M, Graves E, Vaala W, Tully RC, French DD, Bowman R, Kaplan RM. (2013). AAEP Parasite Control Guidelines. <http://www.aaep.org/custdocs/ParasiteControlGuidelinesFinal.pdf>
- Paz-Silva A, Francisco I, Valero-Coss RO, Cortiñas FJ, Sánchez JA, Francisco R, Arias M, Suárez JL, López-Arellano ME, Sánchez-Andrade R, De Gives PM. (2011). Ability of the fungus *Duddingtonia flagrans* to adapt to the cyathostomin egg-output by spreading chlamydospores. *Vet. Parasitol.* 179: 277-282.
- Paz-Silva A, Arroyo FL, Cazapal-Monteiro C, Hernández JA, Oliver A, Suárez J, Francisco I, Sánchez-Andrade R, Arias MS. (2015). Alimentación con concentrado fabricado con esporas de hongos para prevenir nematodosis intestinales. 16º Congreso Internacional de Medicina y Cirugía Equina, Sevilla, España.
- Rehbein S, Visser M, Yoon S, Marley E. (2007). Efficacy of a combination ivermectin/praziquantel paste against nematodes, cestodes and bots in naturally infected ponies. *Vet. Rec.* 161: 722-724.
- Rehbein S, Visser M, Winter R. (2013). Prevalence, intensity and seasonality of gastrointestinal parasites in abattoir horses in Germany. *Parasitol. Res.* 112: 407-413.
- Relf VE, Morgan ER, Hodgkinson JE, Matthews JB. (2013). Helminth egg excretion with regard to age, gender and management practices on UK Thoroughbred studs. *Parasitology.* 140: 641-652.
- Rossano MG, Smith AR, Lyons ET. (2010). Shortened strongyle-type egg reappearance periods in fenbendazole to reduce fecal egg counts. *Vet. Parasitol.* 173: 349-352.
- Sagüés MF, Purslow P, Fernández S, Fusé L, Iglesias L, Saumell C. (2011). Nematophagous fungi used for the biological control of gastrointestinal nematodes in livestock and administration routes. *Rev. Iber. Micol.* 28: 143-147.
- Sagüés MF, Fusé LA, Fernández AS, Iglesias LE, Moreno FC, Saumell CA. (2011). Efficacy of an energy block containing *Duddingtonia flagrans* in the control of gastrointestinal nematodes of sheep. *Parasitol. Res.* 109: 707-713.
- Sánchez Gómez JA. (2012). Nuevas perspectivas para el control del parasitismo gastrointestinal de caballos en silvopastoreo. Tesis Doctoral, Facultad de Veterinaria de Lugo, Universidade de Santiago de Compostela.
- Schneider S, Pfister K, Becher AM, Scheuerle MC. (2014). Strongyle infections and parasitic control strategies in German horses-a risk assessment. *BMC Vet. Res.* 10: 262.

- Seyoum Z, Tesfaye M, Derso S. (2015). Prevalence, intensity and risk factors of infestation with major gastrointestinal nematodes in equines in and around Shashemane, Southern Ethiopia. *Trop. An. Health Prod.* 47: 1515-1521.
- Sokół R, Raś-Noryńska M, Michalczyk M, Raś A, Rapacz-Leonard A, Koziatek S. (2015). Estimation of infection of internal parasites in horses from different type of farms. *Ann. Parasitol.* 61: 189-192.
- Suárez J. (2017). Control biológico de parasitismos gastrointestinales en caballos. Tesis Doctoral, Facultade de Veterinaria de Lugo, Universidade de Santiago de Compostela.
- Tavela AO, De Araújo JV, Braga FR, Da Silveira WF, Dornelas E, Silva VH, Carretta Júnior M, Borges LA, Araujo JM, Benjamin Ldos A, Carvalho GR, De Paula AT. (2013). Coadministration of sodium alginate pellets containing the fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* on cyathostomin infective larvae after passing through the gastrointestinal tract of horses. *Res. Vet. Sci.* 94: 568-572.
- Teixeira WF, Felippelli G, Cruz BC, Maciel WG, Fávero FC, Gomes LV, Buzzulini C, Prando L, Bichuete MA, Lopes WD, Oliveira GP, Costa AJ. (2014). Endoparasites of horses from the Formiga cuty, located in center-west region of the state of Minas Gerais, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 23: 534-538.
- Valdéz-Cruz MP, Hernández-Gil M, Galindo-Rodríguez L, Alonso-Díaz MA. (2013). Gastrointestinal nematode burden in working equids from humid tropical areas of central Veracruz, Mexico, and its relationship with body condition and haematological values. *Trop. Anim. Health Prod.* 45: 603-607.
- Francisco Vázquez I. (2010). Epidemiología y control de los principales parasitismos del caballo en Galicia. Tesis Doctoral, Facultade de Veterinaria de Lugo, Universidade de Santiago de Compostela.
- Von Samson-Himmelstjerna G, Fritzen B., Demeler J, Schürmann 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, Lia R, Perrucci S, Di Regalbono AF, Beraldo P, Barnes H, Cobb R, Boeckh A. (2009). Effects of worm control practices examined by a combined faecal egg count and questionnaire survey on horse farms in Germany, Italy and the UK. *Parasit. Vectors.* 2: S3.
- Wolstrup J, Nansen P, Gronvold J, Henriksen SA, Larsen M. (1996). Toward practical biological control of parasitic nematodes in domestic animals. *J. Nematol.* 28: 129-132.

## 7. ÍNDICE DE ABREVIATURAS

μL: Microlitros

cm: Centímetros

COPAR: Grupo de Investigación Control Parasitario (GI-2120, USC)

dL: Decilitros

EPG: Esporas por gramo de heces

FEER: Reducción del recuento de huevos en heces (*Fecal Egg Count Reduction*)

Fig.: Figura

g: Gramos

G-E: Grupo esporas

G-T: Grupo testigo

Ha: Hectáreas

HPG: Huevo por gramo de heces

L: Litro

L1: Larva 1

L2: Larva 2

L3: Larva 3

min: Minutos

mL: Mililitros

NaCl: Cloruro sódico

p.v.: peso vivo

PRG: Pura Raza Galega

RCP: Porcentaje de reducción de caballos positivos por coprología

RPM: Revoluciones por minuto