

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

_____ DSA 06
_____ C. J. T. T. 06
_____ F. B. A. J. 0

LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**“COMPARACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DEL COMPUESTO ALFA EN BOLO Y
SUSPENSIÓN CONTRA *Fasciola hepatica* ADULTA EN BOVINOS
INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE”**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA:

MÓNICA AGUIRRE SERRANO

ASESORES:

BIOL. M. EN C. R. YOLANDA VERA MONTENEGRO

MVZ PhD GERMINAL JORGE CANTÓ ALARCÓN



SANTIAGO DE QUERÉTARO, FEBRERO DEL 2006.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
BIBLIOTECA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

No. ADQ. CNT00036

No. TITULO 24

CLASIFI T5

636.2089

A2840

...

...

...

...

...

...

...

...



...

SECRETARIA DE EDUCACION
SECRETARIA DE CULTURA
SECRETARIA DE TURISMO

A mis padres

Por haberme dado la oportunidad de una educación; por sopesar conmigo las dificultades y compartir los logros, dándome siempre su apoyo incondicional.

A mis hermanos

Silvia, Octavio y Felipe, por alentar en mí el espíritu de superación y demostrarme que las oportunidades deben de aprovecharse.

A mis amigos

Xochitl O., Luis Elías, Francisco Duran, Ma. José, Dense M., por su valiosa colaboración en el desarrollo de este trabajo, brindando mas que su amistad, esfuerzo, tiempo y empeño para lograr este proyecto.

Avril, Mariela, Karla, Miguel, Nacho, Gonzalo, Mónica Alcocer, Karina, Nere, Dani, Eli, etc... por compartir conmigo ilusiones, desvelos, desencantos, emociones y satisfacciones a lo largo de cinco años.

A Gustavo G. por el aporte en la culminación de este trabajo, además de alentarme día con día a seguir adelante, contando siempre con su apoyo incondicional, gracias.

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores

Ph. D. Germinal Jorge Cantó Alarcón

Por su tiempo, apoyo y conocimiento, ayudándome a realizar una de las metas más importantes en mi vida, brindándome más que la confianza, su amistad.

Biol. M. En C. Yolanda Vera Montenegro

Por marcar la pauta para la realización de este trabajo y aportar sus conocimientos para la realización del mismo.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas Forestales y Pecuarias (INIFAP), al Cenid-Parasitología, al igual que a la Universidad Autónoma de México (UNAM) por otorgar la oportunidad y las facilidades para el desarrollo total de este trabajo.

A la licenciatura de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ) por verter en mi el cúmulo de conocimientos transmitidos por sus docentes, que forjaron en mi más que una profesión, una forma de pensar y de vivir.

RESUMEN

En el presente estudio se evaluó la eficacia de el compuesto Alfa (5-cloro-2 metiltio-6-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol), formulado como bolo y suspensión al 10% en contra de *Fasciola hepatica* adulta en bovinos, 27 animales de aproximadamente 300kg de peso se utilizaron, el día 0 cada animal fue infectado con 600 metacercarias de *Fasciola hepatica*. Cuando las fasciolas alcanzaron las 10 semanas de edad, los animales se dividieron en 3 grupos de 9 animales cada uno. El grupo 1 se trato en forma oral en una ocasión con una dosis de 10mg/kg del compuesto alfa formulado como bolo. El grupo 2 recibió en forma oral la suspensión a una dosis de 10mg/kg. El grupo 3 permaneció como testigo sin tratamiento. La eficacia se calculo como porcentaje de reducción de fasciola en los grupos tratados en relación al número de fasciolas del grupo testigo. Los resultados mostraron una eficacia del 100% en ambas formulaciones. Se puede concluir que el compuesto alfa mantiene una eficacia excelente al ser administrado ya sea como suspensión o en forma de bolo.

INDICE

Resumen	i
I. Introducción	1
II. Revisión Bibliográfica	3
III. Objetivo	24
IV. Hipótesis	24
V. Material y Método	25
VI. Resultados	27
VII. Discusión	30
VIII. Conclusión	31
IX. Bibliografía	32
Apéndice 1	39
Apéndice 2	40

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Figura 1. <i>Fasciola hepatica</i> adulta	7
Figura 2. Tamaño <i>Fasciola</i>	7
Figura 3. Huevo <i>Fasciola</i>	7
Figura 4. Miracidio	10
Figura 5. Caracol <i>Lymnaea</i>	10
Figura 6. Esporocisto	10
Figura 7. Redia	10
Figura 8. Cercaria	10
Figura 9. Metacercaria	10
Figura 10. Ciclo de vida de <i>Fasciola hepatica</i>	11
Figura 11. Compuesto "Alfa"	22
Figura 12. Tegumento normal <i>Fasciola</i>	23
Figura 13. Tegumento erosionado	23
Figura 14. Tamaño y distribución de las fasciolas recuperadas del grupo control	28
Cuadro 1. Eficacia comparativa de compuestos contra <i>Fasciola hepatica</i> en bovinos	21
Cuadro 2. Diseño Experimental	26
Cuadro 3. Comparación de la efectividad del compuesto "Alfa" a dosis de 10 mg por kg en forma de bolo y suspensión en contra de <i>Fasciola hepatica</i> adulta en animales infectados experimentalmente.	29

I. INTRODUCCIÓN

La fasciolosis es una enfermedad parasitaria de distribución mundial que afecta gran cantidad de animales principalmente bovinos y ovinos y ocasionalmente al ser humano. Es causada por el trematodo *Fasciola hepatica* produciendo grandes pérdidas económicas en la industria pecuaria y con una distribución geográfica que corresponde a la de sus huéspedes intermediarios, caracoles de agua dulce del genero *Lymnaea (Fossaria)* (Ibarra *et al.*, 1996; Rojo-Vázquez, Ferre-Pérez, 1999; Rivera, 2000).

El parásito adulto es un trematodo que tiene forma de hoja y es aplanado dorsoventralmente, la superficie de la *Fasciola* esta completamente cubierta de espinas también aplanadas dorsoventralmente y con punta en su parte posterior. Estas estructuras se convierten en multipuntiagudas a medida que el parásito desarrolla y se encargan de mantener al trematodo dentro de los conductos biliares ayudándole a rasgar el epitelio puncionando vasos sanguíneos para que el parásito se alimente (Rivera, 2000).

La importancia económica de la enfermedad radica en las graves pérdidas que produce en la industria pecuaria, razón por la cual se hace necesario establecer métodos efectivos de control para este parásito. El uso de fasciolicidas se ha incrementado durante los últimos años y se han lanzado al mercado nacional nuevos compuestos antifasciola (Ibarra *et al.*, 1997).

En el mercado nacional los fármacos disponibles son el Nitroxinil, Closantel, Clorsulon, Albendazol y Triclabendazol. Pocos son los fármacos eficaces contra todas las edades de *Fasciola hepatica*.

El triclabendazol es el único fármaco con buena eficacia contra todos los estadios del trematodo pero al igual que el resto de los fasciolicidas es un producto de importación. Esta es la razón del porque se consideró necesario el desarrollar un compuesto fasciolicida de producción nacional, que no fuese tóxico para el huésped, que fuese efectivo contra todos los estadios evolutivos del parásito y económicamente accesible.

La colaboración entre el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (NIFAP) y las facultades de Medicina Veterinaria y Zootecnia y Química de la Universidad Autónoma de México ha dado por resultado la síntesis y posteriormente la evaluación de la eficacia fasciolicida de un compuesto denominado Alfa o (5-cloro-2-metiltio-6- (1-naftiloxy)-1*H*-bencimidazol), el cual ha mostrado en diversos estudios una eficacia entre el 86 y 100% contra diversas edades de *Fasciola hepatica* tanto en ovinos como en bovinos (Ibarra *et al.*, 1996; Ibarra *et al.*, 1997; Ibarra *et al.*, 2000; Rivera, 2000; Ibarra *et al.*, 2002; Vera *et al.*, 2003; Vera *et al.*, 2004).

El compuesto Alfa es un polvo blanco, cristalino con ligero olor, insoluble en agua y de carácter liposoluble. Los niveles máximos en bovinos se alcanzan a las 18 horas. Su aplicación es laboriosa ya que debe de aplicarse en solución mediante el uso de jeringas dosificadoras lo que causa debido al volumen que se aplica (1ml por cada 10 Kg. de peso), un fuerte estrés a los animales además de que en muchas ocasiones el fármaco es expulsado por el animal al resistirse a la dosificación.

Por lo que el propósito del presente estudio es el de determinar la facilidad de administración del fármaco en forma de bolo a razón de 1 bolo por 300kg de peso y comparar su eficacia contra la suspensión.

II. REVISION BIBLIOGRÁFICA

FASCIOLASIS

SINONIMIAS

Se conoce también con los nombres de distomatosis hepática, hígado podrido, palomilla, conchuela del hígado, hígado picado, mal de botella, acucuyachi, saguaypé, corrocho y chonchaco (Quiroz, 2000).

DEFINICIÓN

Fasciolosis o distomatosis es una enfermedad parasitaria zoonótica de distribución mundial causada por el tremátodo *Fasciola hepatica* que se localiza en el hígado y conductos biliares de los ovinos, bovinos, caprinos, cerdos, equinos, conejos, venados y ocasionalmente en el ser humano (Quiroz, 2000). Para que *F. hepatica* pueda completar su ciclo es imprescindible la existencia del huésped intermediario, un caracol del género *Lymnaea* (*Fossaria*). En dicho caracol se reproducen los estadios juveniles. *Fasciola* es capaz de poner 20,000 huevos por día y para ello debe consumir gran cantidad de sangre del huésped. Los huevos pasan por la bilis al intestino delgado y por la materia fecal al medio ambiente. La infección se realiza al ingerir la metacercaria enquistada en el pasto, provoca un proceso inflamatorio generalmente crónico del hígado y conductos biliares, ocasionando trastornos digestivos y de la nutrición, ictericia por retención, además de trastornos generalizados como enflaquecimiento, edema sub-mandibular, anemia, angiocolitis, diarrea y esclerosis hepática (Soulsby, 1987).

ETIOLOGÍA

Fasciola hepatica, se encuentra en conductos biliares y vesícula biliar; como parásito errático puede estar en pulmones y tejido subcutáneo (Quiroz, 2000).

TAXONOMÍA

Reino: Animal

Phylum: Platyhelminthes

Clase: Trematoda

Subclase: Digenea

Superorden: Anepitheliocystidia

Orden: Echinostomatida

Familia: Fasciolidae

Genero: *Fasciola*

(Vera *et al.*, 2004).

DISTRIBUCIÓN

Las características epidemiológicas y de transmisión de la fasciolosis hacen que la enfermedad tenga una distribución irregular; los focos guardan relación con su distribución geográfica la cual corresponde a la de los hospederos intermediarios, que son caracoles dulceacuícolas principalmente del género *Fossaria* (Malek, 1962; Vera, 1987; Milián, 1986).

La distribución de este parásito en América Latina es amplia, incluyendo reportes que señalan su presencia desde México, pasando por Centroamérica, y Sudamérica: Colombia, Venezuela, Brasil, Perú, Bolivia, Argentina, Chile, Ecuador, Uruguay y Paraguay. También se encuentra en las islas caribeñas: Cuba, Puerto Rico, República Dominicana, Santa Lucía, Jamaica, Guadalupe y Martinica.

En México se ha reportado en todos los estados excepto en Yucatán, Quintana Roo y Baja California Sur, donde el calor excesivo y la poca retención de agua en el suelo impiden la supervivencia de los caracoles (Rivera *et al.*, 2002).

Se consideran zonas de alta prevalencia Veracruz, Tabasco, Jalisco, Sinaloa y Michoacán (Gómez *et al.*, 1987).

EPIDEMIOLOGÍA

Varios factores intervienen para la enfermedad: biológicos, topográficos, climáticos y humanos (manejo).

Dentro de los biológicos favorecen la enfermedad: la alta postura de huevos, la resistencia de las metacercarias en el ambiente, permanencia muy larga en el huésped y el alto poder reproductivo de los caracoles.

Es desfavorable para la aparición de la enfermedad: la resistencia en bovinos, corta vida del miracidio, presencia de depredadores y la resistencia relativa de los caracoles.

Factores climáticos: Favorecen las temperaturas superiores de 10°C y estaciones húmedas. Los desfavorables son: temperaturas por debajo de 10°C ya que no evoluciona el caracol y estaciones secas. Las bajas temperaturas luego de condiciones buenas para el caracol pueden retrasar la evolución de estadios juveniles que se reactivarán en la primavera siguiente. Por lo tanto en invierno se disminuye la contaminación de los pastos. Además del calor excesivo y la poca retención de agua en el suelo impiden la supervivencia del caracol.

Factores topográficos que favorecen son: áreas húmedas permanentes con fuentes de agua renovables y son desfavorables: las áreas secas, aguas rápidas y aguas estancadas, así como períodos secos prolongados.

Dentro de los factores humanos: la alta carga de animales susceptibles sobre áreas contaminadas, falta de drenajes, falta de alambrados, mal uso de productos fasciolicidas. Son desfavorables: el aislamiento de los animales más débiles de las áreas infestadas, el buen uso estratégico de drogas fasciolicidas, manejo con animales menos susceptibles (Vera, 1987).

Si las infecciones ocurren en otoño-invierno en animales en desarrollo pueden coincidir con el aumento de las infecciones parasitarias gastrointestinales dando síntomas graves (Rojo-Vázquez, Ferre-Pérez, 1999).

Otra fuente de contagio la constituyen los animales silvestres, como los ciervos, jabalíes, liebres, conejos de campo, etc. Que no pueden ser sometidos a tratamiento y que constantemente contaminan los pastos por la eliminación de huevos con sus heces. Las aves domésticas y silvestres pueden difundir plantas portadoras de caracoles, sus huevos, o quistes de cercarias.

La fertilización de los pastos con estiércol de animales afectados por fasciolas, incrementa igualmente su diseminación (Ibarra *et al.*, 2000).

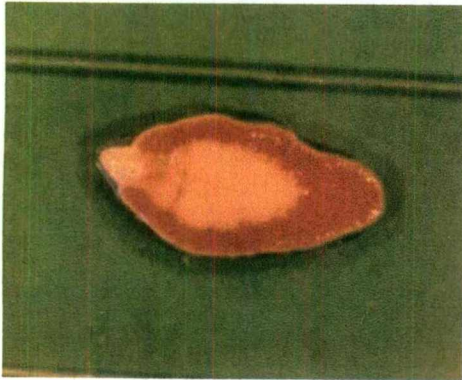
MORFOLOGIA

La *Fasciola hepatica* adulta es un gusano hermafrodita de cuerpo ancho y aplanado dorsoventralmente en forma foliácea (Figura 1), puede alcanzar 3cm de largo y 1.5cm de ancho (Figura 2). Su cuerpo está cubierto por pequeñas espinas dirigidas hacia atrás, que le sirven para desplazarse, las cuales ejercen acción irritativa sobre los canales biliares y el parénquima hepático del hospedador definitivo (Rojo-Vázquez, Ferre-Pérez, 1999; Quiroz, 2000).

Posee una ventosa oral en el extremo superior, otra ventral, a la altura de lo que se podría llamar hombros; el tubo digestivo se bifurca a poca distancia de la ventosa oral, debajo de la ventosa ventral se abre el poro genital. Los dos testículos ocupan la parte media corporal, cuenta con un solo ovario y el útero se localiza anteriormente a los testículos.

Los huevos miden de 130 a 150 X 63 a 90 micras, posee un opérculo y su cáscara es relativamente delgada la cual está teñida por pigmentos biliares de tonos amarillos en su interior (Figura 3). Entre numerosas células vitelinas yace el cigoto de color claro y posición central (Quiroz, 2000).

Figura 1. *Fasciola hepatica* adulta



(Universidad Federal Do Rio Grande Do Sul, 2003)

Figura 2. Tamaño *Fasciola*



(Nolan, 2004)

Figura 3. Huevo *Fasciola*



(Nolan, 2004)

CICLO BIOLÓGICO

El parásito adulto se localiza en los conductos biliares del hospedero definitivo donde vierte sus huevos, los cuales pasan al duodeno junto con la bilis y de ahí son evacuados con las heces. Un parásito adulto puede poner una media de 3,500 huevos al día, pero esta cifra puede variar en función de:

- a) Antigüedad de la infestación: a mayor edad de la *Fasciola*, menor número de huevos pone.
- b) Época estacional: en los meses de marzo, abril y mayo la puesta es máxima, siendo mínima en los meses de enero y febrero.
- c) Grado de parasitación: a mayor número de fasciolas albergadas en el hígado menor número de huevos ponen.
- d) Edad del huésped bovino: la eliminación de huevos decrece a medida que la vaca envejece, (fenómenos inmunológicos).

En condiciones de temperatura (26°C) y humedad (80%), los huevos se desarrollan y eclosionan aproximadamente entre 2 y 3 semanas. Los huevos no eclosionan hasta estar libres en el agua, pues las condiciones anaerobias de las masas fecales impiden su desarrollo (Vera *et al.*, 2004).

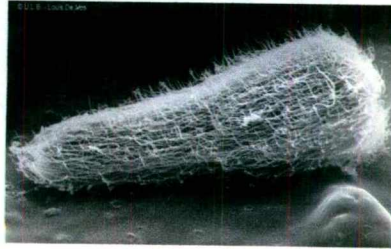
Son sensibles al frío, la desecación la soportan solamente durante segundos, su duración de la evolución depende intensamente de la temperatura del agua, requiriendo en primavera y verano unos dos meses a una media de 16°C y en el otoño aproximadamente tres meses (Borchert, 1975). Se produce en el interior del huevo numerosas divisiones celulares hasta la formación de un embrión móvil, la primera fase larvaria, el **miracidio** (Figura 4), es ciliado y puede vivir libre en el agua hasta 24 horas, perdiendo su capacidad de penetrar al caracol entre las tres y seis horas posteriores a su eclosión.

Al aproximarse a un caracol hospedador intermediario adecuado (Figura 5), como *Lymnaea* sp, los miracidios penetran en ellos por la cavidad respiratoria o a través del tegumento, pierden la cubierta ciliada, pasan a los canales linfáticos

y vasos sanguíneos, alojándose en la glándula digestiva donde se transforma en **esporocisto** (Figura 6); en un lapso de 14 días, cada esporocisto produce y libera de 5 a 8 **redias** (Figura 7), que se transportan al hepatopáncreas del caracol. Cada redia da origen a redias hijas y cercarias. La **cercaria** (Figura 8), es la última fase larvaria que parasita al caracol; después de 4 a 6 semanas las cercarias abandonan a las redias a través de su abertura tocológica y al caracol. Una vez fuera requiere de un medio acuático para sobrevivir, en el agua las cercarias se adhieren a objetos, especialmente plantas (Figura 10); pierden su color y segregan a su alrededor un quiste. El enquistamiento se completa de 20 a 30 minutos formando las **metacercarias** (Figura 9) (Vera *et al.*, 2003).

Las metacercarias son ingeridas por el hospedero definitivo junto con el alimento o el agua, alcanzan el intestino delgado (duodeno), del rumiante, y bajo la acción de los jugos digestivos sufren un proceso de desenquistamiento, 1 hora después, estas formas inmaduras perforan la pared intestinal y a través de la cavidad peritoneal se dirigen al hígado. Tras un periodo de migración, alimentación y crecimiento rápido en el parénquima de aproximadamente 6 semanas, los parásitos se alojan en los conductos biliares donde alcanzan la madurez sexual (Rojo Vázquez, Ferre Pérez, 1999).

Figura 4. Miracidio



(Louis De Vos, 2003)

Figura 5. Caracol Lymnaea



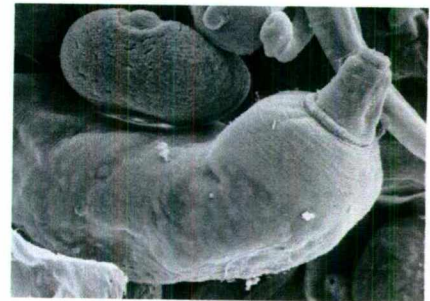
(Nolan, 2004)

Figura 6. Esporocisto



(Vielen Dank, 2003)

Figura 7. Redia



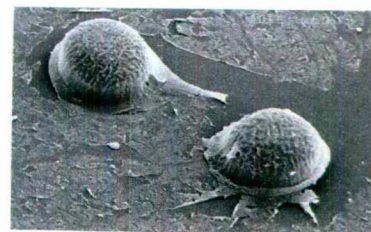
(Louis De Vos, 2003)

Figura 8. Cercaria



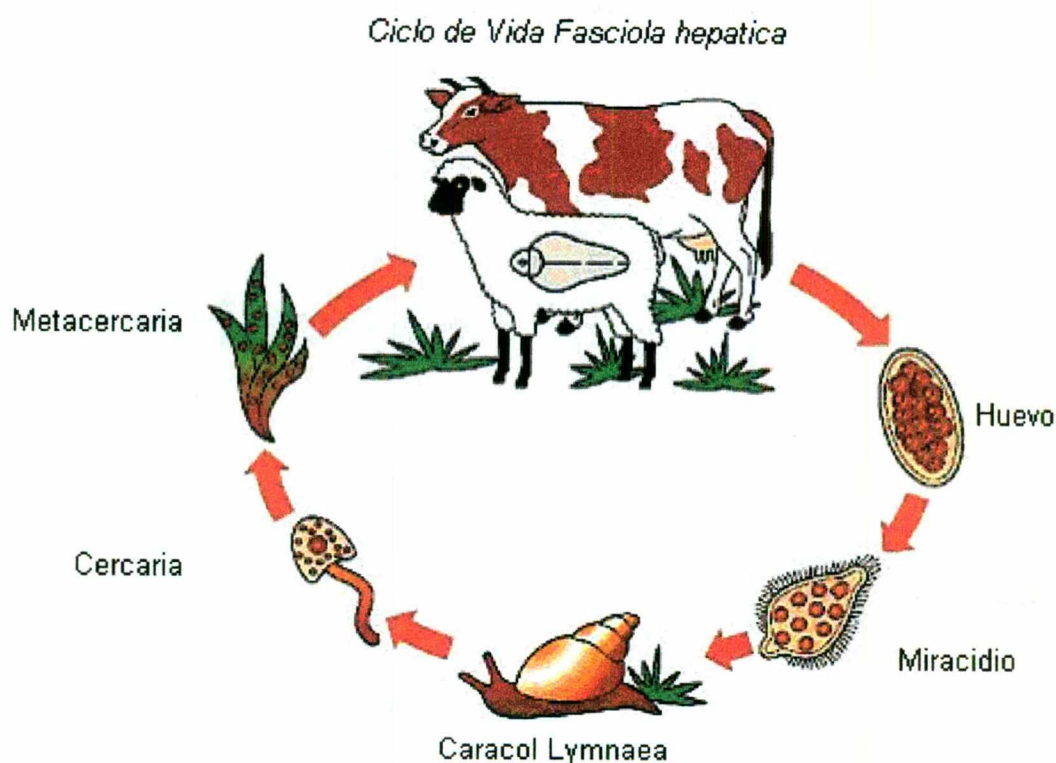
(Louis De Vos, 2003)

Figura 9. Metacercaria



(Louis De Vos, 2003)

La vida del parásito en los conductos biliares es más o menos de un año; sin embargo, hay casos en que llega a vivir 6 o más años (Quiroz, 2000). Las formas migratorias que llegan a las venas hepáticas, pueden llegar a diversos órganos como: linfonodos, páncreas, musculatura, pulmón, bazo, peritoneo, útero (las infestaciones prenatales son evidentemente más frecuentes de lo que generalmente se acepta por vía hemática, se supone que la joven fasciola, una vez perforada la pared intestinal, puede penetrar también de modo inmediato en el útero) y placenta de vacas, como fasciolas erráticas; no obstante, los parásitos son encapsulados y mueren en todos esos órganos (Quiroz, 2000).



(Stein Gyhum, 2004).

Figura 10. Ciclo de vida de *Fasciola hepatica*

Las fasciolas se autofecundan. Los primeros huevos aparecen en las heces del hospedador a partir de 55 – 56 días desde la ingestión de las metacercarias. Esta puesta de huevos acaba cuando se muere la vaca o cuando se acaba con el parásito mediante tratamientos antiparasitarios efectivos (Rojo Vázquez, Ferre Pérez, 1999). Las infestaciones de los animales pueden producirse a lo largo de todo el año, aunque el máximo riesgo tiene lugar en otoño e invierno (Michael, *et al.*, 2004).

Los caracoles infestados tienen, en general, mayor movilidad que los no infestados, la puesta de huevos tiene lugar a lo largo de toda la vida del molusco; puede vivir 12-21 meses, dependiendo de la rapidez de su desarrollo y de factores ambientales (Borchert, 1975).

PATOGENIA

El poder patógeno de *Fasciola hepatica* varia de acuerdo con algunos factores; especie de huésped, cantidad de cercarias ingeridas y si es una infestación o son reinfestaciones. La infección se puede presentar en forma crónica y aguda. La forma crónica pocas veces llega a tener consecuencias fatales y se debe a la presencia de los parásitos adultos en los conductos biliares (Ibarra *et al.*, 1996).

La fasciola joven usa su cápsula bucal anterior, produce potentes enzimas proteolíticas que van digiriendo el parénquima a medida que avanza, produciéndose hemorragias, a veces severas. Los conductos que abre son cada vez más grandes a medida que maduran las fasciolas jóvenes. Este proceso lleva entre 40 y 50 días donde se dañan capilares y pequeños conductos biliares hasta alcanzar las vías biliares mayores. En la reacción de los conductos es donde se depositan sales biliares y detritus celulares con multiplicación de fibroblastos con producción de fibrina y luego viene la calcificación de las lesiones determinando el engrosamiento de los canaliculos biliares (colangitis), típicos. El aumento de tamaño del hígado, sobre todo el lado izquierdo es común de ver. En casos graves es común encontrar a la necropsia la vesícula biliar repleta de fasciolas (Rojo-Vázquez, Ferre-Pérez, 1999).

Debido a la acción bacterifera de estas formas hay focos de supuración que pueden causar procesos purulentos; las formas jóvenes también debido a la acción traumática debilitan y perforan la cápsula hepática en su migración, provocando peritonitis (Rivera, 2000).

Las formas adultas ejercen acción expoliatriz hematófaga, sustrayendo cantidades de sangre que pueden provocar anemia; se alimentan también de bilis reduciendo por una parte la cantidad y por otra alterando su composición por medio de los productos de excreción y secreción del parásito. Mediante la acción mecánica por obstrucción, el parásito interfiere en el flujo normal de la bilis, por tanto, los alimentos no se digieren bien y causan un síndrome de mala digestión.

La variación de la composición de la bilis puede influir en la flora intestinal y, con ello en la digestión, incluso favoreciendo un incremento de la presencia de salmonelas en la vesícula (Quiroz, 2000).

SIGNOS

La fasciolosis aguda es muy rara en vacuno, presentándose generalmente de forma crónica, con una evolución lenta y poco marcada.

En la primera fase de parasitación es clínicamente inaparente, posteriormente, según el grado de parasitación, se puede observar un adelgazamiento, erizamiento del pelo, disminución de la producción, pérdida de apetito, debilidad, atonía del rumen, diarrea, estreñimiento y edema submandibular.

Debido a la disminución del estado nutricional hay reducción el proceso reproductivo; en algunos individuos principalmente jóvenes el adelgazamiento puede ser espectacular y puede aparecer la muerte por complicación bacteriana (Ibarra, 2000).

LESIONES

Lesiones causadas por formas juveniles: se aprecian los trayectos de la perforación del intestino y de la cápsula hepática.

En casos de curso agudo el hígado esta aumentado de volumen y a veces al hacer un corte la coloración es variada, los linfonodos, hepáticos y mesentéricos están aumentados de tamaño y tumefactos. En el peritoneo hay exudado serofibinoso.

En formas subagudas hay peritonitis hemorrágica, pueden encontrarse abundantes cercarias (Ibarra, 2000).

En casos crónicos, los animales muertos casi siempre están anémicos y caquécticos, el hígado no parece estar aumentado de tamaño en el caso de infestación leve y los conductos biliares están dilatados conteniendo bilis y fasciolas. En la infestación mas grave el hígado tiene consistencia mas firme y esta muy aumentado de tamaño; la pared intestinal puede estar cubierta por pequeñas hemorragias en gran parte de su longitud.

Lesiones por las formas adultas: consisten en dilataciones de los conductos biliares, cuando la infestación es grande hay engrosamiento de las paredes (Quiroz, 2000).

DIAGNÓSTICO

Desde el punto de vista clínico resulta muy difícil de diagnosticar debido a los pocos síntomas que presenta, aunque si se puede sospechar en función de la época de aparición (otoño e invierno), y de los animales afectados (jóvenes).

Las técnicas más empleadas para su diagnóstico son:

A) **Diagnóstico coprológico:** El análisis de las heces nos permite detectar huevos de fasciola mediante técnicas de flotación, sedimentación o el de filtrado, la técnica de sedimentación es sencilla y aprovecha el alto peso específico del huevo que

sedimenta rápido (le falta cámara de aire como la tienen los huevos de gastrointestinales).

En el método de flotación usa soluciones de alta densidad como el sulfato de zinc o de magnesio, requiere lectura rápida porque los huevos se afectan con facilidad.

El filtrado es con el uso de distintos filtros para aclarar la muestra y el último filtro es para retener los huevos con mallas de apertura menor a 50 micras.

Todos estos presentan varias limitaciones como son:

-Solamente se aislarán huevos en aquellos animales que tengan fasciolas adultas en la vesícula biliar (tras 8-10 semanas de la infestación), y no los detectaremos en las fases iniciales de la parasitación.

-Una baja eliminación de huevos por debajo del límite de detección, nos llevará a dar falsos negativos.

-Infecciones estériles, en las cuales no llegan a madurar las fasciolas y por tanto no liberan huevos.

-Existencia de periodos silentes, con ausencia de eliminación de huevos (Quiroz e Ibarra, 2000).

B) Diagnóstico inmunológico: Basado en la identificación de anticuerpos específicos frente a las fasciolas. El antígeno utilizado habitualmente es metabólico, de excreción-secreción.

Las ventajas que ofrece son muchas, como la elevada sensibilidad, fiabilidad y repetibilidad del análisis, así como la posibilidad de automatización.

El principal inconveniente de esta técnica es que se pueden seguir detectando anticuerpos frente a fasciola 2-3 meses tras el tratamiento antiparasitario (Quiroz e Ibarra, 2000).

C) **Necropsia:** Si se incide el parénquima hepático llegando a conductos biliares y es posible observar los parásitos adultos, sin embargo los estadios inmaduros pueden pasar inadvertidos por lo que es conveniente tomar muestras finas de hígado para introducir las en agua y se agitan, provocando sedimentación de las fasciolas juveniles. Dependiendo del número de trematodos en el hígado, las lesiones típicas de la fasciolosis crónica son: colangitis, fibrosis hepática, linfonodos agrandados y ocasionalmente líquido en peritoneo (Rivera *et al.*, 2002).

En casos agudos se observan hemorragias producidas por la migración de los estadios inmaduros en el parénquima hepático, hematomas subcapsulares, congestión venosa y peritonitis fibrinosa (Campos, 2004).

D) **Pruebas de funcionamiento hepático.** En la fasciolosis crónica la degeneración celular del hígado es extensa antes de que se altere la salud del animal y la aparición de huevos en heces se presenta después de que hay enfermedad clínica, además la mayoría de los medicamentos contra la fasciola son hepatotóxicos, por ello es aconsejable que en animales valiosos se evalúe la lesión hepática antes de tratarlos (Hoe, 1980).

La estimación en plasma de los niveles de enzimas relacionadas con daño en células hepáticas incluye la medición de Glutamato dehidrogenasa (GLDH), que se libera cuando el parénquima está dañado, y los niveles se ven elevados dentro de las primeras semanas de la infección. Otra enzima es la Gamma Glutamil Transpeptidasa (GGT), que indica daño en las células epiteliales que revisten los conductos biliares, la elevación de ésta enzima tiene lugar principalmente después de que las fasciolas llegan a conductos biliares y los niveles elevados se mantienen por un largo periodo (Urquhart *et. al.*, 1992).

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

El diagnóstico clínico es difícil ya que comparte signos con otras enfermedades como:

- Parasitosis gastrointestinales; huevos de *Paramphistomum cervi*: son más grandes, de tonos más claros y de estructura más grosera, de color amarillo marrón, con su opérculo más reducido y mayor división celular.
- Paratuberculosis
- Salmonelosis inicial
- Hemoglobinuria bacilar por la presencia del típico infarto hepático que caracteriza a esta.
- *Ostertagia* que se puede resolver el diagnóstico de esta misma por la diarrea y la ausencia de anemia que hay en *Fasciola* (Quiroz, 2000).

IMPORTANCIA ECONOMICA

La fasciolosis es considerada mundialmente como una de las enfermedades más importantes de los rumiantes domésticos. Boray (1983), estimó en dos mil millones de dólares, el total anual de pérdidas en el mundo por esta enfermedad.

En bovinos, la fasciolosis se expresa en pérdidas directas e indirectas.

Directas: decomiso del hígado y muerte de animales.

Indirectas: pérdida de peso, disminución de la producción láctea en calidad y cantidad, reducción de la eficiencia reproductiva, anemia progresiva, mala conversión alimenticia, resequedad de la piel, mal estado físico como consecuencia bajo desarrollo de las crías, ya que retarda el crecimiento del 30% hasta el 50% y mayor susceptibilidad a otras enfermedades infecciosas y parasitarias (Ibarra, 2000; Quiroz, 2000).

Las potenciales pérdidas adjudicadas al llamado "parasitismo subclínico", han sido utilizadas para ejercer un mayor control, pero incrementando también los costos de producción por ser generalmente basado en el consumo de antiparasitarios.

Otro aspecto a tomar en cuenta para estimar las pérdidas de producción o los riesgos que la fasciolosis implica, es la asociación de *F. hepatica* con otros organismos patógenos. Son conocidas las mortandades por hemoglobinuria bacilar por *Clostridium haemolyticum*. Esta bacteria anaerobia prolifera en la necrosis producida por la migración del trematodo y genera potentes exotoxinas que han producido mortandad. Otras afecciones menos conocidas en bovinos en nuestro medio son las producidas por las interacciones entre *F. hepatica* y *Salmonella dublin* el complejo Fasciolosis/Ostertagiasis y el efecto aditivo que resulta de la intoxicación por aflatoxinas en animales con *F. hepatica* (Kell, 1985).

PROFILAXIS Y TRATAMIENTO

Para establecer un programa de control mediante tratamientos quimioterapéuticos, es necesario interpretar la situación epidemiológica de acuerdo a las condiciones climatológicas y de manejo zootécnico locales. Hay que valorar si la transmisión del trematodo ocurre todo el tiempo, por efecto de la lluvia o el riego y la temperatura favorable, como sucede en varias zonas con clima calido húmedo del Golfo de México o del Caribe, o si esta ocurre en una o varias temporadas del año. También es necesario conocer la frecuencia y la prevalencia de parasitación del hato (González, 2000).

Las medidas preventivas se dirigen a adoptar medidas que disminuyan los niveles de infestación de los caracoles y de los animales, impidiendo o disminuyendo la aparición de la enfermedad.

Algunas de las medidas son:

1. Eliminación de los parásitos de los hospedadores definitivos infectados.
- 2.- Drenaje y cercado de las zonas muy húmedas, que es donde va a vivir el caracol que actúa como hospedador.
- 3.- Utilización de molusquicidas para eliminar los caracoles (niclosamida, pentaclorofenatosodico, N-tritil-morfolina).

4.- Rotación de pastos o de hospedadores con el fin de reducir el riesgo de infección (González, 2000).

La erradicación definitiva es muy difícil, debido a que existen especies silvestres tales como el conejo, liebre, jabalí, ardilla, etc. que pueden ser hospedadores de este parásito, lo que contribuye al mantenimiento y difusión de la infestación del caracol. El control del caracol, es posible cuando los encharcamientos son pocos. Esto con un buen drenaje y adicionando el sulfato de cobre u otro producto molusquicida, en épocas de actividad del caracol que con el debido cuidado de no contaminar las aguas de los ríos, es posible controlarlo.

El control biológico es difícil pero hay avances en este campo por competidores de *Lymnaea*. Se han hecho muchos progresos en el desarrollo de vacunas contra la *F. hepatica* pero todavía no hay vacunas comerciales (Strong y Wall, 1999., Dalton *et al.*, 2003).

Para el tratamiento de esta enfermedad existen en el mercado innumerables principios activos, todos ellos encaminados a eliminar el parásito en su fase juvenil y/o adulta. Algunos de ellos son: albendazol, netobimín, oxiclozanida, bitionol, etc. El costo del producto esta en relación a su espectro, los compuestos que actúan sobre estadios de 15 días en adelante son los mas costosos, su acción se optimiza aplicándolos en los meses en que hay estadios adultos e inmaduros a la dosis recomendada. La dosis baja tiene efecto únicamente contra los estadios adultos y la dosis alta contra estadios adultos e inmaduros. Para el tratamiento solo contra adultos se debe de calcular la fecha de la última infección más el periodo prepatente (Strong y Wall, 1999).

El empleo de estos productos obliga a guardar unos tiempos de supresión para evitar riesgos de residuos en leche y en carne.

Los bencimidazoles son un grupo ampliamente conocido de antihelminticos de amplio espectro, los cuales tienen a nivel mundial un mercado de aproximadamente 300 millones de dólares anuales (Delatour y Parish, 1986).

Con referencia a bencimidazoles con acción fasciicida, los mas utilizados a nivel mundial son Albendazol, Netobimin, Albendazol sulfoxido y Triclabendazol siendo este último el que ha mostrado mayor eficacia contra todos los estados evolutivos de *Fasciola*, aun cuando algunos autores al evaluar este compuesto señalan que no remueven al parásito en un 100% (Dorchies y Ducos de Láte, 1983).

En México se tiene conocimiento de por lo menos 21 compuestos fasciolicidas que han estado disponibles en el mercado durante varios años, la mayoría de ellos con bajos índices de seguridad (Ibarra, 1991).

Sin embargo, la fasciolasis no ha disminuido por lo que se manifiesta la necesidad de producir un compuesto fasciolicida que sea eficaz contra los estadios inmaduros tempranos, juveniles y adulto de *F. hepatica* y que pueda competir en el aspecto económico con los productos de importación. En el cuadro 1 se muestran las principales características de los fasciolicidas indicados para bovinos en México.

Cuadro 1. Eficacia comparativa de compuestos contra <i>Fasciola hepatica</i> en bovinos																		
Principio activo (nombre comercial)	Dosis clínica mg/kg	Máxima dosis tolerada	Índice de Seguridad	Periodo de retiro carne leche	Espectro de eficacia en semanas													
					Inmaduras tempranas							Inmaduras						
					1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Nitroxinil (Trodax)	10 SC 3 per os	40	4	30 CI							80							
Closantel (Flukiver)	3 SC	40	4	NR NR						50								
Rafoxanide (Flukanide)	7,5 per os	45	6	28 CI								80						
Triclabendazol (Fasinex)	12 per os	200	20	28 CI*						80	95	80						
Albendazol (Valbazen)	10 per os 7 per os	30	8	14 72 h													85	
Clorsulón (Ivomec F)	2 SC	100	5	28 CI**						50	90							

SC = subcutáneo; per os = oral; NR = no recomendable; CI = contraindicado

*No se administre a vacas lecheras dentro de los 7 días de parto; **No se administre a vacas lecheras en los primeros 28 días de lactación

Compuesto ALFA

Como parte de un programa de síntesis de nuevos compuestos antihelmínticos y con el fin de obtener una mayor información acerca de los requerimientos estructurales para la actividad antihelmíntica, se sintetizó una serie de compuestos análogos al triclabendazol, entre ellos el 5-cloro-2-metiltio-6-(1-naftiloxi)-1*H*-bencimidazol al cual se le denominó compuesto "Alfa". Este surgió de la colaboración entre el Instituto Nacional de investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) y las Facultades de Medicina Veterinaria y Química de la UNAM. En este compuesto el grupo 1,2-diclorofenoxi del triclabendazol fue sustituido por un equivalente isostérico, el grupo 1 naftiloxi (Hernández *et al.*, 2002).

Propiedades químicas del compuesto "Alfa"

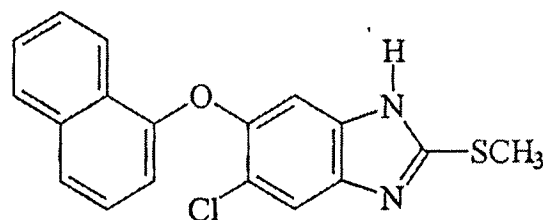
Peso molecular: 340.86g/ mol

Punto de fusión: 171-179 °C

Formula condensada: C₁₈H₁₃ClN₂OS

Formula desarrollada:

Figura 11. Compuesto "Alfa"



5-cloro-2-metiltio-6-(1-naftiloxi)-1*H*-bencimidazol

Estructura del compuesto Alfa

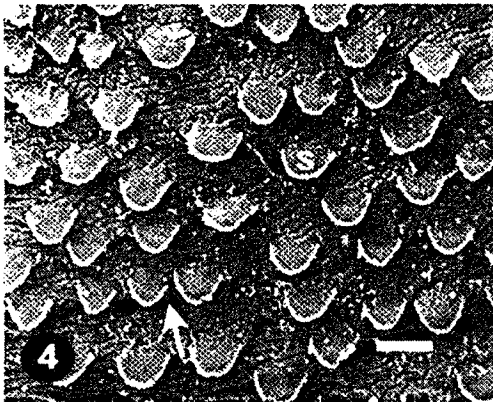
(Vera, 2005)

El compuesto Alfa es un polvo blanco, cristalino con ligero olor, insoluble en agua y de carácter liposoluble. Los niveles máximos en bovinos se alcanzan a las 18 horas. Su efecto se produce sobre el tegumento de las fasciolas (Figura 12 y 13), cuyas espículas entran en contacto con la sangre del huésped por donde circula el fármaco, el metabolito activo ocasiona erosión y úlceras en el tegumento del parásito provocando su muerte (Rivera *et. al.*, 2004).

Su aplicación es laboriosa ya que debe de aplicarse en solución mediante el uso de jeringas dosificadoras lo que causa debido al volumen que se aplica (1ml por cada 10kg de peso), un fuerte estrés a los animales además de que en muchas ocasiones el fármaco es expulsado por el animal al resistirse a la dosificación.

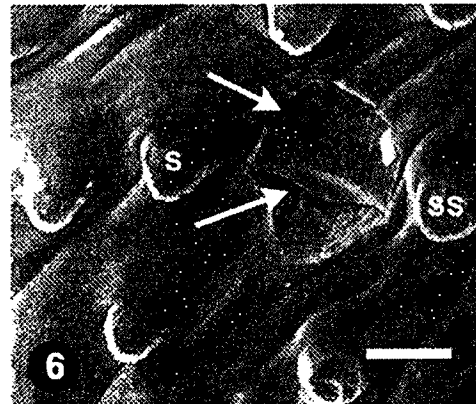
Por lo que el propósito del presente estudio es el de determinar la facilidad de administración del fármaco en forma de bolo a razón de 1 bolo por 300kg de peso y comparar su eficacia contra la suspensión.

Figura 12. Tegumento normal *Fasciola*



(Ibarra *et al.*, 2002)

Figura 13. Tegumento erosionado.



III. OBJETIVO

Comparar la efectividad del compuesto "Alfa" (5-cloro-2-metil-6-(1-naftiloxy)-1*H*-bencimidazol) en solución contra el mismo compuesto en forma de bolo.

IV. HIPÓTESIS

El compuesto Alfa en forma de bolo tendrá la misma efectividad que en forma de suspensión; es decir > al 90% contra fasciolas adultas.

V. MATERIAL Y METODO

El estudio se realizó en las instalaciones del rancho G.B. propiedad del Comité Estatal de Fomento y Protección Pecuaria del Estado de Querétaro localizado en el municipio de El Marqués, Querétaro a 27 km. de Santiago de Querétaro, situado en una latitud norte de 20° 43' y una latitud oeste de 100° 15' con una altitud de 1850 msnm. El clima es BSw (semiseco estepario con lluvias en verano), y una vegetación compuesta de matorral espinoso con plantas carnosas y pastizal. La temperatura promedio es de 16.7°C y una precipitación pluvial anual promedio de 485.4 mm. (García, 1973).

Animales:

Se utilizaron 27 bovinos criollos, machos de aproximadamente 18 meses de edad con un peso promedio de 300kg libres de *Fasciola hepatica*.

Cada uno de los animales recibió por vía oral 600 metacercarias las cuales se prepararon en tubos de ensayo con solución salina fisiológica (Ibarra *et al.*, 1996; Vera *et al.*, 2004).

Metacercarias:

Las metacercarias se obtuvieron de caracoles *Lymnaea cubensis* infectados experimentalmente con miracidios provenientes de huevos del parásito a partir de vesículas biliares de animales sacrificados en el rastro municipal de Cuernavaca Morelos.

Trece semanas pos infección utilizando la técnica de sedimentación, se comprobó que los animales se encontraban infectados con *Fasciola hepatica* mediante la presencia de huevos del parásito en heces.

Diseño Experimental

Los animales se dividieron al azar en 3 grupos de 9 animales cada uno. Al día siguiente los grupos 1 y 2 recibieron el compuesto Alfa por vía oral, la dosis del compuesto alfa fue de 10mg/kg de peso. El grupo 1 se trató con el compuesto en forma de bolo; cada bolo se preparó para dosificar 300kg de peso.

El grupo 2 recibió el compuesto Alfa en forma de suspensión por medio de jeringas de 20 ml. y el grupo 3 permaneció como testigo (Cuadro 2).

Cuadro 2. Diseño Experimental

Grupo	No. de animales por grupo	No. de metacercarias por animal	Tipo de tratamiento
1	9	600	Bolo
2	9	600	Suspensión
3	9	600	Sin tratamiento

Los animales fueron sacrificados una semana después del tratamiento en el rastro municipal de la ciudad de Querétaro, donde se obtuvo el hígado para hacer la disección del mismo y contar el número de trematodos presentes, determinando la longitud y viabilidad de las fasciolas siguiendo la técnica descrita por Boray *et al.*, (1983).

Análisis Estadístico

Con los datos obtenidos se determinó el porcentaje de reducción en los grupos tratados con relación al número de fasciolas presentes en el grupo testigo, mediante la fórmula descrita por Foreyt (1988).

% Eficacia= $\frac{\text{Promedio de parásitos en el grupo testigo} - \text{Promedio de parásitos en grupo tratado}}{\text{Promedio de parásitos en el grupo testigo}}$

No. de parásitos en grupo testigo

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para análisis de varianza (Siegel, 1985).

VI. RESULTADOS

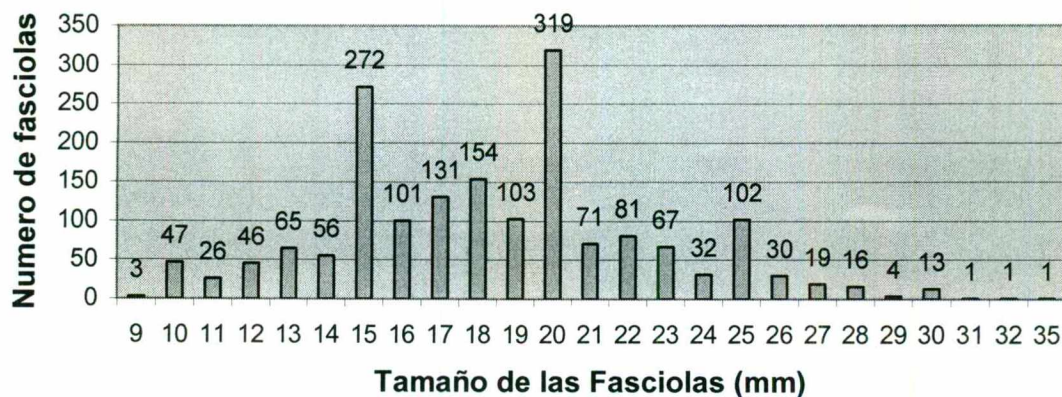
Los resultados del cuadro 3 muestran la eficacia del producto Alfa a dosis de 10 mg por kg en forma de bolo y suspensión en contra de *Fasciola hepatica* adulta en animales infectados experimentalmente.

Al día de tratamiento se comprobó que todos los animales estaban infectados con el parásito mediante la técnica de sedimentación observándose promedios de 111.4, 87.6 y 109.8 huevos por gramo de heces (hpg), en los grupos que fueron tratados con el bolo, la suspensión y el testigo respectivamente. Así mismo, también se observa que no se recuperó ningún parásito en los animales tratados; sin embargo en los animales del grupo testigo se recuperaron 1761 parásitos lo que dio una media de 195.6 parásitos por animal, lo que indica una eficacia del compuesto Alfa del 100% sin importar la forma de aplicación.

Como era de esperarse se observaron diferencias estadísticas al comparar la eficacia de los grupos tratados contra el grupo testigo ($P < 0.0001$).

Con objeto de evaluar si el compuesto Alfa afectaba el grado de crecimiento de los parásitos, estos se midieron. Debido a que el producto mató a todos los parásitos de los dos grupos tratados no hubo posibilidad de comparar entre grupos; sin embargo, la distribución y tamaño de las fasciolas recuperadas en el grupo testigo se presenta en la figura 14.

Figura 14. Tamaño y distribución de las fasciolas recuperadas de el grupo control



Se observó que existió un rango entre un mínimo de 107 y un máximo de 265 parásitos. Se determinaron dos picos; uno que consistió de 272 fasciolas (15.4%) que midieron entre los 15 y 15.9 mm y otro de 319 fasciolas (18.1%) con una longitud entre los 20 y 20.9 mm. La fasciola de menor tamaño midió 9.5 mm y la mayor 35 mm.

CNT00036
 UNIVERSIDAD AUTONOMA DE QUERÉTARO
 BIBLIOTECA
 FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

Cuadro 3. Comparación de la efectividad del compuesto "Alfa" a dosis de 10 mg por kg en forma de bolo y suspensión en contra de *Fasciola hepatica* adulta en animales infectados experimentalmente.

Dosis 10 mg (kg/p.o)	Promedio hpg*		Número de fasciolas recuperadas			% huevos excretados por animal antes/después de la terapia	% Eficacia
	Antes de la terapia día 0	Después de la terapia día 21	Total	Rango	Promedio (\pm SD)		
Bolo	111.4 ^a	0.0 ^a	0 ^a	0	0 ^a	100/0	100 ^a
Suspensión	87.6 ^a	0.0 ^a	0 ^a	0	0 ^a	100/0	100 ^a
Grupo control	109.8 ^a	355.0 ^b	1761 ^b	107-297	195.6(\pm 68.09) ^b	100/0	100 ^{a,b}

a, b Letras diferentes en la misma columna significan diferencia estadística (P<0.0001).

* Huevos por gramo de heces

VII. DISCUSIÓN

El uso de bolos de rápida desintegración es en muchos países una forma común de formular drogas que anteriormente presentaban otras formas de administración (Rapic *et al.*, 1984; Qadir, 1984; Dzacula *et al.*, 1986).

Theodoropoulos y Col. (2000), informa en un estudio realizado en Trikala, Grecia que el uso de tabletas y bolos fue por mucho la forma preferida por los ganaderos para la desparasitación de los animales siendo este del 96%; de la misma forma indica que los benzimidazoles y probenzimidazoles fueron los antihelmínticos más utilizados. Es importante mencionar que los bolos utilizados en el presente estudio se comprimieron a una forma oblonga y por lo tanto fueron muy fáciles de manejar y administrar con la ayuda de un aplicador. No se presentaron daños clínicos apreciables al esófago y no se observaron efectos adversos asociados con la administración de los bolos.

El objetivo del presente estudio fue el de demostrar la capacidad del compuesto Alfa, benzimidazol, contra *Fasciola hepatica* adulta aplicado en forma de bolo a una dosis de 10mg/kg y comparar su efectividad contra la administración en forma de suspensión. Varios son los autores que han informado de la eficacia de los benzimidazoles en contra de *Fasciola hepatica*, siendo estos los que presentan la mayor efectividad contra fasciolas jóvenes y adultas (Boray, 1983; Richards *et al.*, 1995; Ibarra *et al.*, 2001).

El estudio demostró que el compuesto alfa administrado en forma de bolo o de suspensión a una dosis de 10 mg / kg es altamente efectivo en contra de *Fasciola hepatica* adulta. Estudios anteriores utilizando el mismo compuesto a dosis de 12 y 14 mg/kg de peso demostraron la misma efectividad en infecciones naturales y experimentales tanto en ovinos como en bovinos (Ibarra *et al.*, 2000; Rivera *et al.*, 2002; Vera *et al.*, 2001., Campos, 2004).

En un estudio anterior se estableció que la dosis efectiva del compuesto Alfa en bovinos es de 12mg/kg/po (Campos 2004), en el presente estudio aun y cuando la dosis utilizada fue menor, la efectividad observada fue del 100%, lo que podría implicar que nuevos estudios para conocer la mejor dosis del producto deben realizarse en un futuro. El medir la longitud de las fasciolas se lleva a cabo con el objeto de determinar si existen diferencias estadísticas entre fasciolas tratadas o no tratadas ya que en las primeras se ha observado un retraso en el desarrollo y por lo tanto una posible extensión del periodo prepatente, como fue demostrado con el triclabendazol por Buscher *et al.*, (1987). Sin embargo en nuestro estudio esto no fue posible de determinar ya que no se pudo recobrar ninguna fasciola de los grupos tratados.

Wood y Col. (1995), mencionan que la administración de 400 metacercarias de *Fasciola hepatica* es una dosis adecuada para la obtención de aproximadamente 50 parásitos adultos en bovinos; es decir, un establecimiento en el hígado del 12.5% de las metacercarias administradas. Campos 2004, al administrar 800 metacercarias de *Fasciola hepatica* en forma oral en cápsulas de gelatina observó un establecimiento en hígado del 12.75% de las metacercarias administradas. En el presente estudio se realizó un cambio en la forma de administración y las metacercarias fueron dosificadas en forma oral en solución salina fisiológica mediante la ayuda de un frasco de vidrio de 20 ml. Los resultados en relación al numero de fasciolas recuperadas de hígado mostraron un promedio de 195 parásitos por hígado lo que significa un 32.6 % de recuperación, lo que es equiparable a lo reportado por otros autores (Andrews *et al.*, 1995; Cordero del Campillo y Rojo-Vázquez, Ferre-Pérez, 1999).

VIII. CONCLUSION

Se puede concluir que el compuesto Alfa a dosis de 10mg/kg/po y formulado como bolo o suspensión es igualmente seguro y altamente efectivo para el tratamiento de la fasciolosis en bovinos.

IX. BIBLIOGRAFIA

- Andrews SJ, Mc Gonigle S, Smith AM, Dalton JP, Clery D, Mulcahy G. A. Bolus for the administration to cattle of metacercariae of the liver fluke *Fasciola hepatica*. J of Helminthol; 1995: 165-167.
- Boray JC, Crowfoot PD, Strong MB, Allison JR, Schellenbaum M, Von Orelli M, Sarasin G. Treatment of immature and mature *Fasciola hepatica* infections in sheep with triclabendazole. Vet Rec; 1983: 315-317.
- Borchert A. Parasitología Veterinaria. Acribia. Zaragoza, España; 1975: 216-218.
- Buscher G, Bowen FL, Strong MB, Allison JR, Richards RJ. Extension of the prepatent period of *Fasciola hepatica* in infected animals following treatment with triclabendazole. Vet Rec; 1987: 460-461.
- Campos E. determinación del efecto de diferentes dosis del compuesto Alfa contra *Fasciola hepatica* adulta en bovinos infectados experimentalmente [tesis licenciatura]. Querétaro, Qro. : Universidad Autónoma de Querétaro; 2004.
- Cordero del Campillo M, Rojo Vázquez FA. Parasitología Veterinaria., Madrid, España: Mc. Graw-Hill-Interamericana; 1999: 270.
- Dalton J.P. Nelly S.O.J., Snack C., Collins P., Walshe A., Sekiya M., Doyle S., Mulcahy G., Hoyle D., Khaz nadji E., Moire N., Brennan G., Mousley A., Kreshenko N., Maule A.G., Donnelly S.M. *Fasciola hepatica* cathepsin L-like proteases: biology function, and potencial, in the development of first generation liver fluke vaccines. Int J. Parasitol; 2003: 30;33(11): 1173-81.
- Dank V. Esporocisto. Disponible: <http://www.biologie.hu-berlin.de/~zoologie/sammlung/III%2520Plathelminthes>. Consultado 16 Feb, 2005.

- Delatour P, Parish R. Benzimidazole anthelmintics and related compounds: Toxicity and evaluation of residues. In: Drug Residues In Animals. New York: Ed. Rico, AG. Academic Press; 1986: 175-203.
- De Vos L. Miracidio, Redia, Cercaria, Metacercaria. Disponible: www.ulb.ac.be/sciences/biodic/ImPlatel0002.html. Consultado nov, 2004.
- Dorchies PF, Ducos de Liate J. Study on the activity of triclabendazole (DCI) against *Fasciola hepatica* in lambs. Rev Med Vet., 1983: 134:211-222.
- Dzakula N, Rapic D, Tabakovic B, Stojiljkovic D, Marinculic A. Treatment of acute fasciolosis in shee with triclabendazole (Fasinex). Praxis Veterinaria; 1986: 34:343-350.
- Foreyt WJ. Efficacy of a fenbendazole-Triclabendazole Combination against *Fasciola hepatica* and gastrointestinal Nematodes in sheep. Vet Parasitol; 1988: 26: 265-271.
- García ME. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koeppen, 2da. Edición. México D.F. Instituto de Geografía, UNAM; 1973: 123.
- Gómez, A.T. Pérez, R. y Zenon, F. Fasciolosis en México, estado actual y huéspedes intermediarios. Rev. Latinoam. Microbiol; 1987: 121-127.
- González G.M. Fasciolosis en: Veterinaria del Laboratorio Interprofesional Lechero de Asturias. Revista técnica 2000; 36 (1): 35-48.
- Hernández CA, Ibarra VF, Vera MY, Rivera FN, Castillo BR. Síntesis and Fasciolicidal Activity of 5-chloro-2-methylthio-6-(1-naphthyloxy)-1H-benzimidazole. Chem. Pharm. Bull., 2002: 50 (5):649-652.

- Hoe, C. Pruebas de funcionamiento hepático en: Patología Clínica Veterinaria. Medway, W, W., E. Prior, J., Wilkinson, J Uthea. México; 1980: 96-103.
- Ibarra Velarde Froylán. Control químico de la fasciolosis. En: Diagnóstico y control de parásitos de animales y el hombre. Editor. Hector Quiróz Romero. Dedicado a la memoria del Dr. Manuel Chavarría Chavarría. Fac. de Med. Vet. Y Zoot., UNAM. Ciudad Universitaria; 1991: 275-297.
- Ibarra VF, Vera MY, Hernández CA, Castillo BR. Eficacia de un compuesto experimental contra *Fasciola hepatica* juvenil y adulta en ganado ovino. Veterinaria México 1996: 27:119-122.
- Ibarra VF, Vera MY, Hernández CA, Castillo BR. Eficacia fasciolicida del compuesto Alfa contra estadios juveniles y adultos en ovinos. Veterinaria México 1997: 28: 297-301.
- Ibarra VF, Vera MY, Montenegro CN, Flores CJ, Hernández CA, Castillo BR. Evaluación de cuatro vehículós para formular un fasciolicida experimental. Veterinaria México 2000: 31:47-51.
- Ibarra, F. Vera, Y., Nájera, R., Sánchez, A. Efficacy of combined chemotherapy against gastrointestinal parasites and *Fasciola hepatica* in cattle, Vet. Parasitol., 2001: 99:199-204.
- Ibarra VF, Montenegro CN, Vera MY, Castillo BR, Hernández CA, Ochoa GP. Eficacia comparativa de un fasciolicida experimental, triclabendazol y closantel en bovinos infectados en forma natural con *Fasciola hepatica*. Veterinaria México 2002: 33: 237-245.
- Kell y W.R.. The liver and biliary system. In jubb. K:V:F., Kennedy. P.C., Palmer, N. Pathology of Domestic Animals. Ed. 3. Vol 2. Orlando, Florida: Academic Press., 1985: 282-288.

- Malek E.A. Laboratory guide and notes for Medical Malacology. Burgess Publishing Company. Minneapolis., 1962: 223-227.
- Michael M. Harmsen, Jan B.W.J. Cornelissen, Herma E.C.M. Buijs, Wim J.A. Boersma, Suzan H.M. Jeurissen and Forine J. Van Milligen. Identification of a novel *Fasciola hepatica* cathepsin L protease containing protective epitopes within the propeptide. International Journal for parasitology Article in press, corrected proof. Published by Elsevier science ltd., 2004.
- Milián SF. Pronóstico médico y económico. En: Fasciolosis (Eds) Flores CR; Quiroz RH; Ibarra VF. INIFAP. México, D.F., 1986: 42-47.
- Nolan T. Tamaño *Fasciola*, Huevo *Fasciola*, Caracol *Lymnaea*. Disponible: <http://cal.vet.upenn.edu/paraav/images/lab6-37.jpg>. Consultado 25 Sep, 2004.
- Qadir A. Efficacy of Fasinex (triclabendazole) against *Fasciola gigantica* in Black Bengal goats (*Capra hircus*). Bang Vet J., 1984: 25-28.
- Quiroz RH. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. 10ª ed. México D.F: Limusa., 2000ª: 89.
- Quiroz, R.H. e Ibarra, V.F. Temas Selectos de Parasitología. Vol. I. México, D.F., 2000: 236-269.
- Rapic D, Dzacula N, Kancovikc M, Dtojcevic D. Efficacy of triclabendazole against fasciolas hepatica in naturally infected sheep. Veterinarski Archiv., 1984: 13-18.
- Richards, R.J., Bowen, F.I., Essenwein, F., Teiger, R.F., Buscher, G. The efficacy of triclabendazole and other anthelmintics against *Fasciola hepatica* in controlled studies in cattle. Vet. Rec., 1995: 126:213-216.

- Rivera FN. Evaluación de la eficacia del compuesto Alfa contra *Fasciola hepatica* de diversas edades en ovinos [tesis maestría]. México, D.F: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM; 2000.
- Rivera FN, Ibarra VF, Olazarán JS, Vera MY, Castillo BR, Hernández CA. Eficacia del 5-chloro-2-methylthio-6-(1-naphthoxy)-1H-benzimidazole contra diversas edades de *Fasciola hepatica* en ovinos. Vet. Méx., 2002: 33(1):55-61.
- Rivera N, Ibarra F, Zepeda A, Fortoul Z.A, Castillo R, Cantò G. Tegumental surface changes in adult *Fasciola hepatica* following treatment in vitro fascioliscide. Parasitol Res; 2004: 93: 283-286.
- Rojo- Vázquez FA, Ferre-Pérez I. Fasciolosis. En: Cordero del Campillo M, Rojo-Vázquez FA, editores. Parasitología Veterinaria. Madrid, España: Mc Graw-Hill-Interamericana de España., 1999: 260-272.
- Siegel S. Estadística no paramétrica; Primera edición. New York (USA): Mc Graw-Hill 1985: 41.
- Soulsby E.J.L. Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. 7a ed. México D.F: Nueva Editorial Interamericana., 1987.
- Stein M. Ciclo de Vida *Fasciola hepatica*. Disponible: <http://www.soton.ac.uk/ceb/Insideafluke/Liverfluke.htm>. Consultado 6 jun, 2005.
- Strong L. Wall. R. The chemical control of livestock parasites: Problems and alternatives, Parasitology today., 1999: 6 (9): 291.
- Theodoropoulos G, Theodoropoulos H, Zervas G, Bartziokas E. Nematode parasite control practices of sheep and goat farmers in the region of Trikala, Greece. J Helminthol., 2000: 74:89-93.

- Wood, I.B., Amaral, N.K., Bairden, K., Duncan, J.L., Kassai, J., Malone, J.B., Pankacivh, J.A., Reinecke, R.K., Slocombe, O., World association for the advancement of veterinary Parasitology (WAAVP), 2nd ed of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants. *Vet. Parasitol.*, 1995: 58: 181-183.

- Universidad Federal Do Rio Grande Do Sul. *Fasciola hepatica* adulta. Disponible:<http://www.ufrgs.br/parasite/Imagensatlas/Animalia/Imagens/fasciola.jpg>. Consultado 27 Sep, 2004.
- Urquhart GM, Armour J, Duncan JLL, Dunn AM, Jennings FW. Veterinary parasitology. 5 th ed. London (Uk): Longman Scientific & Technical., 1992: 62-71.
- Vera MY, Flores CR, Marañón HS. Evaluación de diferentes dietas alimenticias para cultivo en condiciones de laboratorio de *Lymnaea bulimoides*, *Lymnaea cubensis* y *Lymnaea humilis*. Tec. Pec. Mex., 1987: 347-364.
- Vera MY, Ibarra VF, Quiroz Rh, Rios UA, Castillo BR, Hernández Ca. Eficacia del 5-chloro-2-methylthio-6-(1-naphthyloxy)-1H-benzimidazole contra *Fasciola hepatica* de cuatro y diez semanas de edad en bovinos de México. Vet. Mex., 2001: 32(1):77-80.
- Vera MY, Ibarra VF, Quiroz RH, Hernández CA, Castillo BR. Field trial on the efficacy of an experimental fasciolicide compared with some commercial compounds in naturally infected cattle. Parasitol Res., 2003: 91: 1-4.
- Vera MY, Ibarra VF, Liébano HE, Quiroz RH, Castillo BR, Hernández CA, Ochoa GP. Efficacy of an experimental fasciolicide against immature and mature *Fasciola hepatica* in artificially infected calves. Parasitol Res; 2004: 92: 211-214.
- Vera MY. Evaluación biológica y toxicológica de un fasciolicida experimental en bovinos [tesis doctorado]. México, DF: Universidad Nacional Autónoma de México; 2005.

APENDICE 1.

Técnica para la obtención de fasciolas a partir de hígado.

Los hígados se cortan en rebanadas de aproximadamente 1 cm. de ancho y se exprimen dentro de solución salina; posteriormente, el hígado es eliminado y los parásitos liberados se colectan después de 30 minutos de sedimentación. Para poder estimar sus edades, los parásitos completos se miden y se examinan en el microscopio para observar la presencia de huevos en el útero. Los parásitos medidos se clasifican como inmaduros (4 semanas) o fasciolas adultas (10 semanas) (Wood *et. al.*, 1995).

Técnica de Sedimentación para el diagnóstico de huevos de *Fasciola hepatica*

- 1.- Se pesan 5 g de heces.
- 2.- Se homogenizan manualmente las heces en agua y la suspensión se pasa a través de una malla de 250 micras.
- 3.- El filtrado se deposita en un tubo cónico y se deja sedimentar por aproximadamente 10 minutos, eliminando el sobrenadante y transfiriendo el sedimento (5ml) a otro tubo.
- 4.- Se deja sedimentar aproximadamente 10 minutos, se elimina el sobrenadante y se añaden 3 o 4 gotas de azul de metileno.
- 5.- El sedimento se pasa a una caja de petri para observarlo utilizando microscopio estereoscópico. Los huevos del trematodo se observan claramente por su color amarillo que contrasta con el fondo azul (Urquhart *et al.*, 1992).

Animal 687		Animal 685		Animal 686		Animal 682	
Tamaño (mm)	No. Fasciolas	Tamaño (mm)	No. Fasciolas	Tamaño (mm)	No. Fasciolas	Tamaño (mm)	No. Fasciolas
10	1	9	1	10	1	10	9
11	1	10	2	11	2	11	3
12	6	11	4	12	2	12	5
13	7	12	9	13	4	13	18
14	8	13	11	14	6	14	5
15	8	14	16	15	27	15	74
16	8	15	20	16	3	16	16
17	11	16	27	17	6	17	23
18	15	17	29	18	3	18	44
19	9	18	20	19	4	19	16
20	19	19	23	20	51	20	71
21	14	20	27	21	2	21	3
22	4	21	21	22	10	22	6
23	9	22	10	23	13	23	2
24	3	23	5	24	4	24	2
25	4	25	1	25	38	25	
26	1	26	1	26	5	26	
				27	5		
				28	2		
				30	9		
				31	1		