

164
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EFICACIA DE DOS FASCIOLICIDAS EN OVINOS
INFESTADOS EN FORMA NATURAL Y GRADO DE
REINFESTACION A 90 DIAS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

JAIME OLVERA VILLEDA

ASESORES: M.V.Z. HECTOR QUIROZ ROMERO

M.V.Z. OFELIA FLORES HERNANDEZ

MEXICO, D.F.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1969



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

| | <u>Página</u> |
|--------------------------|---------------|
| RESUMEN | 1 |
| INTRODUCCION | 3 |
| MATERIAL Y METODOS | 7 |
| RESULTADOS | 11 |
| DISCUSION | 16 |
| CONCLUSIONES | 19 |
| LITERATURA CITADA | 20 |

I R E S U M E N

OLVERA VILLEDA JAIME. Eficacia de dos fasciolicidas en ovinos infestados en forma natural y grado de reinfestación a 90 días. (bajo la dirección de Héctor Quiroz Romero y Ofelia Flores Hernández).

Se utilizaron 3 lotes de 10 ovinos cada uno e infestados en forma natural. El lote A, fue tratado con Albendazol a la dosis de 10 mg/Kg, el lote B con Netobimin a 20 mg/Kg y el lote C permaneció como control sin tratamiento. Se realizaron exámenes coproparasitoscópicos mediante la técnica de sedimentación en forma individual a todas las muestras recolectadas 15 días antes del tratamiento, el día del tratamiento y cada 15 días posteriores al mismo hasta los 110 días. Se contó el número de huevos por cada 5 gramos de heces. La eficacia evaluada para el Albendazol fue del 98.32% y la del Netobimin 86.42%, sin embargo al análisis estadístico no se encontró diferencia significativa entre los lotes tratados ($P > 0.05$). A los 35 días postratamiento, el porcentaje de animales positivos para el lote tratado con Albendazol fue del 20% y para el Netobimin 70% con un grado de reinfestación de 3.4% y 14.8% respectivamente. También respectivamente para los lotes de Albendazol y Netobimin, estos datos a los 110 días fueron del 60% y 50% con un grado de rein-

festación de 2.42% y 8.5%. Concluyendo; la reducción de huevos ocasionada por la aplicación de Albendazol y Netobimin fue similar y de acuerdo a la forma de evaluación del grado de reinfestación, este no fue directamente proporcional al tiempo transcurrido después del tratamiento.

II I N T R O D U C C I O N

De las enfermedades de los rumiantes, la fasciolosis constituye una de las más importantes desde el punto de vista económico y una de las más difíciles de controlar en muchos países del mundo. (7)

Las pérdidas económicas son producidas por la mala digestión, mayor consumo de alimento, baja de peso corporal, decomiso de órganos en rastros, muertes, etc. (9, 11, 13 y 15)

Por tal motivo es necesario establecer los mejores sistemas de control, siendo uno de ellos, el uso de la quimioterapia, la cual ha sido enfocada principalmente al empleo de fasciolicidas que puedan tener un margen de seguridad amplio y buena efectividad contra formas juveniles, formas maduras, o ambas formas del trematodo. (2 y 3)

Entre los medicamentos utilizados para el tratamiento del ganado parasitado con Fasciola hepatica se tienen: el Albendazol (4,5,15 y 18) y el Netobimin (6 y 16), los cuales han sido evaluados por diversos investigadores.

Anaya y colaboradores en 1980, infectaron experimentalmente a 14 lotes de 5 borregos cada uno para eva---

luar entre otros desparasitantes, la eficacia del Albendazol* usado a la dosis indicada en el producto (10 mg/Kg). Trece semanas después de iniciado el tratamiento, los animales fueron sacrificados y a la necropsia se recuperaron algunos parásitos, encontrándose así una eficacia del 98%. (1)

Rew y Knight (18) mencionan que el Albendazol es 53-100% efectivo contra Fasciola hepatica en su estado adulto en los borregos y vacas, cuando se utiliza en una dosis oral a razón de 10-15 mg/Kg de peso vivo.

Chaton et al. (5) determinaron la efectividad del Albendazol, usado a la dosis de 10 mg/Kg por vía oral contra formas adultas de Fasciola hepatica en ovinos infectados en forma artificial; el porcentaje de efectividad encontrado a la necropsia fue del 98.5%.

Knight et al (10) evaluaron la efectividad del Albendazol usado a razón de 10 y 20 mg/Kg por vía oral en ovinos infectados experimentalmente con 390 metacercarias. A las 15 semanas postinoculación los animales fueron sacrificados y con base al número de parásitos recuperados a la necropsia se determinó la eficacia del 98 y 100% respectivamente.

* Valbazen.

Valnoski et al. (16) estudiaron la efectividad del Netobimin contra Fasciola hepatica en 48 borregos infectados experimentalmente con 200 metacercarias. El Netobimin se aplicó a las 14 semanas postinfección por vía oral a las dosis de 5, 10, 15 y 20 mg/Kg; el porcentaje de efectividad a la necropsia fue respectivamente de 53.4%, 71.6%, 92.6% y 92.8%.

Duncan et al. (6) usaron el Netobimin por vía oral a dosis de 15-20 mg/Kg contra Fasciola hepatica de 12 semanas de edad en ovinos infectados en forma artificial; el porcentaje de efectividad encontrado fue del 99-100%.

Rushton et al. (16) valoraron la efectividad del Netobimin y su comparación con Albendazol en ovejas de 6 meses de edad infectadas en forma experimental. Se aplicaron dosis orales de Netobimin de 40 y 60 mg/Kg contra Fasciola hepatica de 6 semanas y Albendazol a razón de 40 mg/Kg también contra Fasciola hepatica de 6 semanas por vía oral; el porcentaje de efectividad del Netobimin fue del 97% con 60 mg/Kg y de 85% con 40 mg/Kg. Para el Albendazol, el porcentaje de eficacia fue del 96% a 40 mg/Kg.

Valnoski (20) realizó un estudio en 30 ovinos infectados experimentalmente con 200 metacercarias de Fasciola hepatica para determinar la eficacia del Netobimin el cual fue usado por vía oral a razón de 10, 15, 20 y 25 mg/Kg de peso corporal a las 16 semanas posteriores

a la inoculación. Se contó el número de huevos de Fasciola hepatica eliminados a través de las heces de los ovinos el día del tratamiento y tres semanas posteriores al mismo. La cantidad de huevos disminuyeron 96%, 100%, 99% y 94% con las dosis utilizadas respectivamente.

Quiroz et al. (17) evaluaron la efectividad del Netobimin usado a razón de 20 mg/Kg por vía oral en bovinos infectados en forma natural y con base en el número de parásitos encontrados a la necropsia, determinaron una eficacia del 74.26%

La hipótesis a demostrar fue que el Netobimin tiene mayor eficacia que el Albendazol, en la reducción de huevos de Fasciola hepatica, eliminados por las heces de ovinos infestados en forma natural. Además el grado de reinfestación a Fasciola hepatica es directamente proporcional al tiempo transcurrido después del tratamiento.

El objetivo del presente estudio fue comparar la eficacia del Netobimin y Albendazol con base en la reducción de huevos de Fasciola hepatica en las heces de ovinos y determinar el grado de reinfestación hasta los 90 días mediante la comparación del promedio de huevos del grupo tratado con el promedio de huevos del grupo testigo.

III MATERIAL Y METODOS

-Animales experimentales: para llevar a cabo este estudio se emplearon 30 ovinos hembras criollas infestadas en forma natural con Fasciola hepatica. El alimento fue pradera cultivada con riego (Ryegrass, Kikuyo, Orchard y trebol ladino). Estos ovinos estaban ubicados en la rancharia de Laguna Seca, municipio de Ahuazotepec Puebla el cual tiene una altitud de 1900 metros sobre el nivel del mar, un clima templado subhmedo con lluvias en verano, temperatura promedio anual de 14.1°C y una precipitación pluvial anual de 693.7 mm (8)

-Fármacos y tratamientos: los 30 ovinos fueron agrupados en tres lotes integrados al azar, designándolos como: lote A, lote B y lote C. Cada uno con 10 animales y tratados de la siguiente forma: al lote A se le administró Al-bendazol* y al lote B Netobimin**, ambos por vía oral y a la dosis indicada por el fabricante (10 mg/Kg y 20 mg/Kg respectivamente), el lote C fue testigo sin recibir tratamiento.

-Técnicas parasitológicas: se tomaron muestras de materia fecal (aproximadamente 10 gramos por ovino) directamen

* (Valbazen) Laboratorios Norden de México.

** (Hapadex) Laboratorios Scheramex, S.A.

te del recto el mismo día del tratamiento y cada 15 días posteriores al mismo hasta los 110 días. Las muestras así obtenidas se colocaron en bolsas de polietileno para transportarlas en refrigeración al laboratorio, donde se pesaron cinco gramos de cada una de las muestras, los cuales se procesaron por la técnica de sedimentación descrita por Benedeck (12) para el diagnóstico de Fasciola hepática. De esta manera se contaron al examen microscópico el número de huevos encontrados por cada cinco gramos de materia fecal analizada. Posteriormente se obtuvo el total de huevos encontrados por grupo y se dividió entre el número de animales muestreados de cada grupo para obtener la media aritmética (\bar{X}). El porcentaje de efectividad (%E) fue evaluado el día 20 después del tratamiento mediante la siguiente fórmula: (14)

$$\%E = \frac{\bar{X} \text{ de huevos del gpo. testigo.} - \bar{X} \text{ de huevos del gpo. tratado.}}{\bar{X} \text{ de huevos del grupo testigo.}} \times 100$$

A partir del día 20 después del tratamiento, cada 15 días se calculó el grado de reinfestación (G.R) de acuerdo al promedio de huevos del grupo tratado en comparación con el promedio de huevos del grupo testigo. Para tal fin se realizó una simple regla de tres:

$$G.R = \frac{\text{Promedio de huevos del grupo tratado} \times 100}{\text{Promedio de huevos del grupo testigo.}}$$

Finalmente los resultados obtenidos se procesaron estadísticamente mediante un análisis de varianza con diseño por bloques, con la finalidad de saber si existía diferencia significativa entre los grupos tratados de acuerdo a la técnica en estudio(21)

Esquema del diseño experimental.

| Grupo y No. de animales | Tratamiento | Días en que se realizaron los exámenes por la técnica de sedimentación. | | | | | | | | |
|-------------------------|-------------------------|---|-------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | | -15 | (0) | 20 | 35 | 48 | 65 | 80 | 95 | 110 |
| A (10) | Albendazol (Al) | \bar{X} () %AP | \bar{X} () %AP | \bar{X} () %AP %E | \bar{X} () %AP G.R |
| B (10) | Netobimin (Nb) | " | " | " | " | " | " | " | " | " |
| C (10) | Testigo sin tratamiento | \bar{X} () %AP | \bar{X} () %AP | \bar{X} () %AP | \bar{X} () %AP | \bar{X} () %AP | \bar{X} () %AP | \bar{X} () %AP | \bar{X} () %AP | \bar{X} () %AP |

\bar{X} = Media aritmética o promedio

() = Rango (Mínima-Máxima)

%AP = Porcentaje de animales positivos

%E = Porcentaje de eficacia

G.R = Grado de reinfestación

IV R E S U L T A D O S

Los resultados de los análisis coproparasitológicos y el porcentaje de reducción de huevos contados están resumidos en el cuadro 1.

De los animales tratados con Albendazol el 20% de los mismos resultaron positivos a huevos de Fasciola hepatica por la técnica de sedimentación a los 20 días postratamiento, no obstante el porcentaje de reducción de huevos fue del 98.32%.

En lo que respecta a los animales tratados con Netobimin, el 50% fue positivo a huevos de Fasciola hepatica a los 20 días postratamiento y el porcentaje de reducción de huevos calculado fue del 86.42%.

Al análisis de varianza con diseño por bloques (bloque 1 = 15 días antes del tratamiento, bloque 2 = día del tratamiento y bloque 3 = 20 días después del tratamiento), no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los grupos tratados $P > 0.05$.

Los resultados del grado de reinfestación se pueden ver en el cuadro 2. Este grado de reinfestación fue mayor para el grupo tratado con Netobimin que para el grupo tratado con Albendazol, tal como se puede observar en la gráfica 1. Además para ambos grupos tuvo su mayor aumento a partir del día 65 al día 95 después del tratamiento (12 de julio al 12 de agosto).

Para el grupo tratado con Albendazol los animales que resultaron negativos a los 20 días postratamiento permanecieron Así hasta los 95 días y a partir de los 110 días algunos de ellos empezaron a manifestar la presencia de huevos de Fasciola hepatica según la técnica de diagnóstico utilizada, en el caso del grupo tratado con Netobimin al cabo de los 110 días postratamiento, no hubo aumento en el número de animales positivos y en el grupo testigo todos los animales permanecieron positivos hasta los 110 días.

___ Cuadro 1 ___

Eficacia del Albendazol y Netobimin en la reducción de huevos de Fasciola hepatica encontrados al examen coproparasitológico.

| Grupo y No. de Animales | Tratamiento (oral) | | Días en que se realizaron los exámenes por la técnica de sedimentación. | | | %E |
|-------------------------|----------------------------------|-----------|---|----------|----------|--------|
| | | | -15 | (0) | 20 | |
| A (10) | Albendazol 10 mg/Kg. | \bar{X} | 138.1 | 168 | 2 | 98.32% |
| | | () | (7 - 530) | (30-535) | (0 - 10) | |
| | | %AP | 100% | 100% | 20% | |
| B (10) | Netobimin 20 mg/Kg. | \bar{X} | 137.8 | 152.6 | 16.2 | 86.42% |
| | | () | (7 - 784) | (12-868) | (0 - 62) | |
| | | %AP | 100% | 100% | 50% | |
| C (10) | Testigo sin trata- miento. | \bar{X} | 130.7 | 143.9 | 119.3 | |
| | | () | (6-468) | (29-472) | (24-260) | |
| | | %AP | 100% | 100% | 100% | |

\bar{X} = Promedio del número de huevos por grupo.

() = Rango (Mínima-Máxima).

%AP = Porcentaje de animales positivos.

%E = Porcentaje de eficacia.

___ Cuadro 2 ___

Grado de reinfestación de los grupos tratados.

| Grupo | Tratamiento | | 12-junio | 25-junio | 12-julio | 27-julio | 12-agosto | 27- agosto |
|-------|---------------------------------|-----------|----------|----------|----------|----------|-----------|------------|
| | | | 35 días | 48 días | 65 días | 80 días | 95 días | 110 días |
| A | Albendazol 10 mg/Kg | \bar{X} | 4.2 | 1.6 | 3.6 | 3.9 | 4.2 | 2.6 |
| | | () | (0-22) | (0-12) | (0-22) | (0-21) | (0-32) | (0-12) |
| | | %AP | 20% | 20% | 20% | 20% | 20% | 60% |
| | | G.R | 3.4% | 1.0% | 4.18% | 4.34% | 4.82% | 2.42% |
| B | Netobimin 20 mg/Kg | \bar{X} | 18 | 19 | 13.8 | 16.4 | 16.5 | 9.1 |
| | | () | (0-70) | (0-114) | (0-59) | (0-62) | (0-49) | (0-32) |
| | | %AP | 70% | 60% | 50% | 50% | 50% | 50% |
| | | G.R | 14.8% | 11.9% | 16.04% | 18.28% | 18.94% | 8.5% |
| C | Testigo sin trata miento. | \bar{X} | 121.4 | 159.5 | 86 | 89.7 | 87 | 107 |
| | | () | (24-300) | (12-610) | (0-338) | (8-360) | (8-340) | (4-561) |
| | | %AP | 100% | 100% | 90% | 100% | 100% | 100% |
| | | G.R | | | | | | |

\bar{X} = Promedio del número de huevos por grupo.

() = Rango (Mínima-Máxima).

%AP = Porcentaje de animales positivos.

G.R = Grado de reinfestación.

V D I S C U S I O N

Si se compara la eficacia evaluada del Albendazol en este estudio con la estimada por otros autores, se encontrará cierta similitud como lo demuestran los trabajos realizados por Anaya y Knight (1,5 y 10) quienes utilizaron la misma vía de administración y misma dosis.

Estos resultados indican que el Albendazol a dosis de 10 mg/Kg es lo suficientemente efectivo para reducir la mayor parte de huevos de Fasciola hepatica en ovinos infestados en forma natural, esto hace suponer que aunque no se halla visto el efecto del Albendazol de manera directa sobre las formas adultas es también efectivo para eliminar la mayor parte de estas aún usando la misma dosis, tal como lo especifican Rew y Knight en la literatura consultada (18).

En lo que respecta al Netobimin usado a razón de 20 mg/Kg, este no mostró una eficacia que concuerde con la encontrada por otros autores, por ejemplo Duncan y Valnoski encontraron eficacias hasta del 99 y 100% respectivamente (6 y 19), sin embargo, Quiroz evaluando este medicamento en bovinos infestados en forma natural determinó una eficacia del 74.26% (17)

Probablemente dicha variación quede justificada debido a que los animales hallan tenido un reducido porcenta

je de parasitos con un grado diferente de suceptibilidad, además de tomarse en cuenta el tipo de infestación y el reducido número de animales utilizados para el experimento, situación que podría explicar la diferencia de efectividad (17). Sin embargo se considera que el Netobimin al igual que el Albendazol es efectivo en la reducción de huevos de Fasciola hepatica ya que al análisis estadístico no se encontró diferencia significativa entre ambos grupos.

Si el grupo testigo elimina cierta cantidad de huevos a través de las heces y los conceptuamos como el 100% se puede calcular el porcentaje de huevos eliminados por el grupo tratado, al resultado de esto se le ha llamado grado de reinfestación, y si bien es cierto que al final del experimento algunos de los animales del grupo tratado con Albendazol manifestaron evidencia de reinfestación, no se encontró aumento en la cantidad de huevos eliminados por las heces y por ende el grado de reinfestación evaluado bajo estas condiciones tampoco aumento sino por el contrario al cabo de los 110 días disminuyó notablemente.

En el grupo tratado con Netobimin no hubo evidencia de animales reinfestados, pero tampoco se encontró aumento en el número de huevos eliminados a través de las heces y el grado de reinfestación disminuyó al final del experimento.

La variación encontrada de este grado de reinfestación podría tener su explicación en el tiempo en el cual fue realizado el presente estudio, el cual coincide con la

temporada de lluvias donde los pastos son más tiernos y jugosos por lo que este cambio de alimentación repercute en que las heces contengan mayor cantidad de agua, los huevos se concentran menos y la cantidad de los mismos encontrados en el diagnóstico disminuyen debido a este concepto (19). Sin embargo hubo animales que después del tratamiento permanecieron negativos a lo largo de todo el experimento sin manifestar ningún grado de reinfección, esto hace suponer que tal vez el problema de Fasciolasis en la zona es de tipo estacional y no durante todo el año.

VI CONCLUSIONES

1.- Bajo las condiciones en que se realizó el presente estudio, la reducción de huevos de Fasciola hepatica ocasionada por la aplicación de Albendazol y Netobimin fue similar.

2.- De acuerdo a la forma de evaluación del grado de reinfestación durante el periodo en estudio, este no fue directamente proporcional al tiempo transcurrido después del tratamiento.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

VII L I T E R A T U R A C I T A D A

- 1.- Anaya, R.D.G., Milfan, F.S. y Alcibar P.M.: Comparación del Efecto Fasciolicida de los Productos Comerciales Disponibles en México. IV Reunión Anual de Parasitología Veterinaria. As. Mex. de Parasit. Vet., 4:22, INIP-SARH México, D.F; 1983.
- 2.- Anaya, M.R. y Davila, G.: Quimioterapia, Fasciolosis. Editado por: Flores, C.R., Ibarra, V.F. y Quiroz, R.H., 435 y 442, INIFAP-Sector Pecuario Palo Alto. México, D.F; 1986.
- 3.- Borchert, A.: Parasitología Veterinaria, 3a. edición, ed. Acribia, España, 1964.
- 4.- Campell, N.J. and Hall, A.C.: The Anthelmintic Efficacy of Albendazole Against Fasciola hepatica and Benzimidazole Resistant Strains of Haemonchus contortus and Trichostrongylus colubriformis in Sheep. Res. in Vet. Sci. 26:90-93. (1979)
- 5.- Chaton, S.M. and Delforge, J.L.: Efficacité de L'Albendazole Contre Fasciola hepatica Chez le Mouton. Rec. Méd. Vet. 157 (9): 667-671. (1981)
- 6.- Duncan, J.L., Armour, J. and Bairden, K.: Netobimin (Totabin SCH) Efficacy in Ruminants in U.K. 11 th. Conference for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) 1985. WAAVP, Rio de Janeiro, Brazil. (1985).
- 7.- Dunn, A.M.: Helminthología Veterinaria, 2a. edición, ed. El Manual Moderno, México, D.F., 1983.

- 8.- García, E.: Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köpen, 2a. edición, ed. Enriqueta García, México, D.F., 1973.
- 9.- González, H.A.H.: Evaluación de las Pérdidas Económicas Ocasionadas por el Decomiso Total de Hígados de Bovinos parasitados con Fasciola hepatica en el Rastro de Ferrería, tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México.
- 10.- Knight, A.R. and Colglazier, L.: Albendazole as a Fasciocide in Experimentally Infected Sheep. Am. J. Vet. Res. 38: 807-808 (1977)
- 11.- Milfan, S.F.: Pronóstico Médico y Económico, Fasciolosis. Editado por: Flores, C.R., Ibarra, V.F. y Quiroz, R. H., 311-321, INIFAP-Sector Pecuario Palo Alto. México, D.F; 1986
- 12.- Nemeseri, L. y Holo, F.: Diagnóstico Parasitológico Veterinario, ed. Acribia, España, 1961.
- 13.- Olsen, W.O.: Parasitología Animal, ed. AEDOS, Barcelona España., 1977.
- 14.- Powers, K.G., Wood, I.B., Eckert, J., Gibson, T. and Smith, H.J.: Guidelines for Evaluation The Efficacy of Anthelmintics in Ruminant (Bovine and ovine). 9 th. International Conference of the World. Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) 1981. WAAVP, Australia, 1981.
- 15.- Quiroz, R.H.: Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos, ed. Limusa. México, D.F; 1986.
- 16.- Quiroz, R.H.: Netobimin un Nuevo Antihelmintico de Amplio Espectro. Volumen Conmemorativo del 25 Aniversario de la Sociedad Mexicana de Parasitología A.C. Editado por: Quiroz, R.H. y García, Y.Y., Vol 1: 466, Soc. Méx. de Parasit. A.C. México, D.F., 1985.

17.- Quiroz , R.H., Herrera,R.D., Orozco, T.R., Garcia, N.E. y Flores, H.O.: Efectividad del Netobimin Contra Fasciola hepatica y Paramfistómidos en Bovinos. Vet. Méx. 18: 61-64. (1987)

18.- Rew. R.S. and Knight,A.R.: Efficacy of Albenda---zole for Prevention of Fasciolasis in Sheep. JAVMA, 176 (12): 1353-1354 (1980)

19.- Taylor, E.L.: Fasciolasis y el Distoma Hepático. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO)Roma Italia 1965.

20.- Valnoski, M.J., et al. Oral Dose Titration Study of SCH 32481 NMG Against Fasciola hepatica in Sheep (A-163-60) Oral Copy 1, Book 5 of 5. Shering Corporation U.S.A. 1982.

21.-Wayne, W.D.: Bioestadística, Base para el Análisis de las Ciencias de la Salud. 3a. edición. ed. Limusa, México, D.F., 1987.