



28
24
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

"DETERMINACION DE LA ELIMINACION DE HUEVOS
Y DE TITULOS DE ANTICUERPOS A *Fasciola hepatica*
EN GANADO VACUNO TRATADO CON
TRICLABENDAZOL® EN CLIMA CALIDO HUMEDO".

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

HUMBERTO CRUZ CASTELLANOS



ASESORES: HECTOR QUIROZ ROMERO
CRISTINA GUERRERO MOLINA
FROYLAN IBARRA VELARDE

MEXICO, D. F.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

**DETERMINACION DE LA ELIMINACION DE HUEVOS Y DE
TITULOS DE ANTICUERPOS A *Fasciola hepatica* EN
GANADO VACUNO TRATADO CON TRICLABENDAZOL* EN
CLIMA CALIDO HUMEDO.**

**TESIS PRESENTADA ANTE LA DIVISION DE
ESTUDIOS PROFESIONALES DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

DE LA

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
PARA LA OBTENCION DEL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

POR

HUMBERTO CRUZ CASTELLANOS

ASESORES:

**HECTOR QUIROZ ROMERO
CRISTINA GUERRERO MOLINA
FROYLAN IBARRA VELARDE**

MEXICO, D.F.

1986

DEDICATORIA

HA SIDO UNA DE MIS METAS MAS ANHELADAS EL PODER CONCLUIR SATISFACTORIAMENTE MIS ESTUDIOS DE LICENCIATURA, YA QUE MARCAN EL INICIO DE MI SUPERACION COMO PERSONA Y COMO PROFESIONAL, POR ESTO DESEO ENTREGAR TODOS MIS LOGROS COMO UNA PEQUEÑA EXPRESION DE MI GRATITUD A LAS PERSONAS QUE MAS QUIERO, ADMIRO Y POR LAS QUE SIEMPRE HE SEGUIDO ADELANTE, A ELLOS LES DEBO TODO LO QUE SOY.

MIS PADRES, HERMANOS Y ABUELOS

AGRADECIMIENTO

DESEO EXPRESAR MI MAS PROFUNDO AGRADECIMIENTO A TODOS LOS ACADEMICOS QUE FORMARON PARTE DEL H. JURADO:

**MVZ LUIS OCAMPO CAMBEROS
MVZ EVANGELINA ROMERO CALLEJAS
MVZ JOSE IGNACIO SANCHEZ G.
MVZ HECTOR QUIROZ ROMERO
MVZ FRANCISCO JAVIER BASURTO**

ASI COMO A TODOS AQUELLOS QUE INTERVINIERON EN MI FORMACION .

AGRADEZCO ESPECIALMENTE A MIS ASESORES DE TESIS:

**MVZ HECTOR QUIROZ ROMERO
MVZ CRISTINA GUERRERO MOLINA
MVZ FROYLAN IBARRA VELARDE**

**Y A TODAS LAS PERSONAS E INSTITUCIONES INVOLUCRADAS
CON LA MISMA:**

**CAMPO EXPERIMENTAL DEL INIFAP EN PICHUCALCO, CHIAPAS, POR
CONDUCTO DE LA MVZ LAURA OROZCO VEGA.**

**CENAPA-INIFAP, EN EL ESTADO DE MORELOS, A NATY DEL
LABORATORIO DE INMUNOPARASITOLOGIA.**

**AL LABORATORIO DE PARASITOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNAM.**

**AGRADEZCO INFINITAMENTE A TODOS MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS QUE EN
TODO MOMENTO ME APOYARON Y AYUDARON EN EL TRANCURSO DE MIS
ESTUDIOS, Y EN EL DESARROLLO DE ESTE TRABAJO, Y PREFIERO OMITIR
NOMBRES YA QUE GRACIAS A DIOS SON MUCHOS Y NO PODRIA MENCIONAR
SOLO A ALGUNOS PUES TODOS SON DE MUCHA ESTIMA PARA MI.**

AGRADECIMIENTO

AGRADEZCO A LA
"UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO"
LA BECA OTORGADA A TRAVES DEL PROGRAMA:
TESIS DE LICENCIATURA EN PROYECTOS DE INVESTIGACION,
SIN LA CUAL NO HUBIERA SIDO POSIBLE LA REALIZACION DEL PRESENTE
TRABAJO.

AGRADEZCO TAMBIEN EN FORMA ESPECIAL A LOS LABORATORIOS
CIBA-GEIGY, POR CONDUCTO DEL M.V.Z. JUAN PABLO GARCIA ARENAS POR
EL APOYO OTORGADO MEDIANTE LA DONACION DEL FASINEX®, PRODUCTO
UTILIZADO PARA REALIZAR EL PRESENTE TRABAJO DE TESIS, DESEANDO
QUE ESTE PROYECTO HAYA SERVIDO PARA UNIR MAS LA AYUDA MUTUA EN
EL AREA DE INVESTIGACION.

CONTENIDO

	PAGINA
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	3
HIPOTESIS Y OBJETIVOS.....	7
MATERIAL Y METODOS.....	8
RESULTADOS.....	11
DISCUSION.....	16
CONCLUSIONES.....	20
LITERATURA CITADA.....	21
GRAFICAS.....	25

RESUMEN

CRUZ CASTELLANOS HUMBERTO. Determinación de la eliminación de huevos y de títulos de anticuerpos a *Fasciola hepatica* en ganado vacuno tratado con Triclabendazol^{*} en clima cálido húmedo (Bajo la dirección de: Hector Quiroz Romero, Cristina Guerrero Molina y Froylán Ibarra Velarde).

Este trabajo fué realizado en el rancho "La Villa de Guadalupe" ubicado en el municipio de Pichucalco, Estado de Chiapas. El objetivo fué determinar la prevalencia y la intensidad de *F. hepatica*, en ganado vacuno sometido a tratamientos con Triclabendazol^{*} cada 56 y 112 días, y conocer los títulos de anticuerpos contra éste trematodo determinando la correlación con la excreción de huevos. Se empleo un lote de 42 cabezas de ganado bovino cruza de cebu/suizo, mayores de 36 meses y en producción láctea, positivos a *F. hepatica* mediante un examen coproparasitológico. Se integraron tres grupos: el A y el B que fueron tratados con Triclabendazol^{*} con dosis de 12 mg/kg de peso en pié y el grupo C sin tratamiento (testigo). El experimento duró siete meses. El grupo A fué tratado cada 56 días. La prevalencia se redujo hasta un 21.42% \pm 0.47 después del primer tratamiento, y éste valor descendió hasta 0% después del tercer tratamiento. El grupo B fué tratado cada 112 días, la prevalencia fué de 14.28% \pm 0.49 después de un primer tratamiento. La prevalencia en el grupo testigo fué del 100% y la media de huevos excretados oscilo entre 77 y 99; en relación a la intensidad, se observó una mínima de 10 y como máxima 189. Entre el grupo A y el B se observaron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) en las medias de los días 84 y 112; y siempre se mostraron diferencias significativas con el grupo testigo ($P < 0.01$). Los títulos de anticuerpos analizados por la prueba ELISA se observaron bajos, que en densidades ópticas se mostraron por debajo de 0.679 nm; no se encontraron diferencias estadísticas ($P > 0.05$) entre un mismo grupo y entre los

* FASINEX®. CIBA-GEIGY.

tres grupos. La correlación entre los títulos de anticuerpos y la excreción de huevos fué baja (0.26, 0.0022 y 0.011 para los grupos "A", "B" y "C" respectivamente). Se concluye que el tratamiento con Triclabendazol* a intervalos de 56 días tiene una mayor eficacia que aplicandolo cada 112 días, pero el costo del tratamiento se eleva, por lo cuál será necesario evaluar el esquema a seguir en una explotación de acuerdo al costo beneficio. También se encontró que los títulos de anticuerpos no son de utilidad para determinar si un animal esta parasitado, y además, no guardan relación con la excreción de huevos de *F. hepatica*.

INTRODUCCION

Las zonas tropicales y subtropicales son las más propicias para el desarrollo y proliferación de enfermedades en el ganado, debido a las condiciones climatológicas tan favorables que existen(20,41). Es así, que problemas parasitarios gastrointestinales como la fasciolosis y la parafistomosis, son enfermedades muy comunes en esas regiones(33).

La humedad permanente es un obstáculo importante en el control de la fasciolosis, ya que ocasiona la proliferación del huésped intermediario propiciando reinfecciones constantes, en explotaciones extensivas(24).

La distribución de la fasciolosis es cosmopolita, variando su frecuencia en morbilidad y mortalidad grandemente, de una región a otra. Las especies más afectadas son el ganado ovino y bovino, aunque también son receptivos el porcino, equino, caprino y mamíferos silvestres como conejos, ratones, ciervos y jabalíes además de representar una zoonosis importante(11,15,33).

El sistema usual del ciclo evolutivo de *Fasciola hepatica*, se desarrolla de un estadio a otro en el que las pasturas húmedas y bajas, promueven el crecimiento y reproducción de caracoles de la Familia Lymnaeidae, los cuales se infectan por un miracidio, una larva móvil que eclosiona de un huevo del parásito que es excretado en las heces(2,8,16). Posterior al desarrollo que dura de 6 a 8 semanas, las cercarias emergen del caracol y se enquistan como metacercarias en la vegetación, y son capaces de sobrevivir varios meses en la pastura. Para completar el ciclo de vida, las metacercarias tienen que ser ingeridas por el ganado al momento de pastar y las fasciolas jóvenes migran por el hígado durante 8 a 10 semanas estableciéndose como adultos en los conductos biliares, en donde comienzan la postura de huevos(16,26,29,39).

La importancia de dicha enfermedad en los bovinos radica en su carácter enzoótico, con un notable efecto sobre la disminución de la producción láctea (43). El retraso en el crecimiento, la disminución de la calidad de la leche, bajos

parámetros de fertilidad, abortos y de gran importancia el decomiso de hígados(7,29,30,35).

Malone *et al.*(22) mencionan que en infecciones leves (conteo menor a 1 huevo por 2 gramos de heces) es imperceptible alguna pérdida económica, en casos moderados (2 a 10 huevos por 2 gramos de heces) es estimada una pérdida económica ligera, y en situaciones severas (más de 10 huevos por 2 gramos de heces) se observan pérdidas económicas considerables.

Los estudios inmunológicos han sido empleados en poca escala para el diagnóstico de la fasciolosis, teniéndose para este fin las pruebas de precipitación, aglutinación, fijación del complemento, inmunoensayo en capa delgada, pruebas cutáneas y pruebas inmunoenzimáticas; utilizándose también algunas de estas para realizar estudios seroepidemiológicos(27,42).

La técnica ELISA para el diagnóstico de *Fasciola hepatica* representa una situación ventajosa ya que permite la detección de anticuerpos anti-fasciola desde la segunda semana post-infección (27), lo que permite detectar la presencia del parásito en su estado juvenil. Esto contrasta con la técnica coproparasitoscópica, en la cuál la presencia del parásito adulto es detectada a través de sus huevos liberados entre 8 y 10 semanas posteriores a la infección(42).

En el control se han aplicado tratamientos contra *F. hepatica*, que no afectan a las formas inmaduras, por lo cuál la producción de huevos se interrumpe parcialmente pero el ciclo de vida continua indefinidamente (9,44), esto se ve favorecido en las regiones tropicales húmedas por la alta precipitación pluvial, donde el ciclo se presenta en forma continua durante todo el año (33), situación que se observa en la zona del estudio.

De los compuestos químicos con actividad fasciolicida, recientemente se ha introducido un nuevo fármaco que es el Triclabendazol* que ha revolucionado el tratamiento de la fasciolosis debido a su alta eficacia contra todos los estadios del parásito(28).

El Triclabendazol* es un compuesto clorinado derivado de los bencimidazoles, con acción específica sobre *F. hepatica*. El producto es inefectivo contra otros trematodos (*Dicrocoelium sp.*, *Paramphistomun sp.*, etc.), cestodos y nematodos. El mecanismo de acción de los bencimidazoles no está bien determinado aún(11,28).

Malone y Craig (22) determinaron en forma experimental que el Triclabendazol* a una dosis de 12mg/Kg de pv. en bovinos tiene una eficacia mayor al 99% contra formas adultas y en formas inmaduras (en conductos biliares), y mayor al 90% en formas inmaduras en su migración hepática.

Boray (1982) reporta eficacias del 93%, 85.4% y 95.7% contra fasciolas a las 2, 6 y 8 semanas postinfección con dosis de 12 mg/Kg de peso en pie con Triclabendazol*(3).

En un estudio realizado en China por Fuhui et al. (12) en el cual fueron infectadas experimentalmente 18 vacas con 8000 metacercarias y después de un tratamiento con Triclabendazol* a dosis de 12 mg/kg de peso en pie, se les realizó la necropsia obteniendo en comparación con los grupos no tratados, una reducción de 85%, 99.6%, 99.8%, 100% y 100%, a las 2, 6, 8, 12 y 16 semanas postinfección respectivamente.

Rapic et al. (34) obtuvieron una eficacia del 100% al tratar mediante aplicación oral a una dosis de 12 mg/Kg de peso en pie con Triclabendazol* a las 9 semanas postratamiento y una eficacia del 98.4% a las 15 semanas postratamiento.

Los fármacos que son eficaces contra los estadios juveniles de *F. hepatica* tienen el beneficio de que el intervalo de tratamiento puede ser mayor; con el Triclabendazol*, intervalos de tratamientos de 10 semanas pueden establecer un buen control, de tal manera que aplicando 3 tratamientos se puede asegurar una mínima contaminación de las pasturas(44).

En México se han realizado algunos trabajos donde se da seguimiento al ciclo de *F. hepatica*, y se establecen programas destinados a su control, como los efectuados por Nuñez y Quiroz en ganado de lidia(24), y por Rangel quién

llevo a cabo un estudio poblacional de la Fasciolosis en el estado de Tabasco(33); pero no ha sido elaborado un trabajo en el trópico húmedo en México, donde se de seguimiento a la eliminación de huevos y a la cinética de anticuerpos en animales bajo tratamiento a diferentes intervalos.

HIPOTESIS

La prevalencia y la intensidad en la eliminación de huevos de *Fasciola hepatica* en ganado vacuno tratado con Triclabendazol[®] cada 56 días es menor a los sometidos a tratamientos cada 112 días, bajo un sistema de pastoreo en clima cálido húmedo.

Los títulos de anticuerpos mediante la técnica ELISA varían entre los diferentes grupos y entre los diversos periodos sin que exista una correlación con la cinética de excreción de huevos de *F. hepatica*.

OBJETIVOS

1. Determinar la reducción en la positividad de muestras de heces a huevos de *F. hepatica* (prevalencia) y la intensidad, promedio de huevos por 5 gramos de heces (hp5gh) en ganado vacuno sometido a tratamientos con Triclabendazol[®] cada 56 y 112 días.

2. Conocer los títulos de anticuerpos contra *F. hepatica* mediante la técnica ELISA, en los tres grupos durante el periodo en estudio.

3. Determinar la correlación entre los títulos de anticuerpos y la cinética de excreción de huevos de *F. hepatica*.

MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo se realizó en el rancho "La Villa de Guadalupe" localizado en el km 2 de la carretera Pichucalco-Juárez en el Estado de Chiapas, a 105 metros sobre el nivel del mar. Presenta un clima cálido húmedo con temperatura media anual mayor de 22°C, y precipitación pluvial de 2900 mm al año(13).

El trabajo de laboratorio se llevó a cabo en el departamento de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, y en las instalaciones del Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Parasitología Veterinaria de la SAGAR-INIFAP, ubicado en el Estado de Morelos, México.

ANIMALES

Se empleo un lote de 42 cabezas de ganado vacuno en producción láctea con edades mayores a 36 meses, que permanecieron bajo las mismas condiciones ambientales y de alimentación, durante todo el periodo en estudio.

OBTENCION DE LA MATERIA FECAL

1. Se recolectaron aproximadamente 100 gramos de heces directamente del recto, se emplearon bolsas de plástico y se identificó cada muestra con el número correspondiente al arete del animal.
2. Las muestras de heces se transportaron al laboratorio en cajas de unisel con refrigerantes y se mantuvieron en refrigeración hasta ser procesadas.
3. Se aplicó a cada muestra de heces la técnica de Benedek para contar los huevos en 5g de heces(hp5gh) (1,31).

OBTENCION DE LOS SUEROS

1. De los animales se obtuvo una muestra de sangre de la arteria o vena coxígea empleando el sistema de tubos vacutainer sin anticoagulante y se identificaron con el número de cada animal.

2. Las muestras de sangre una vez coaguladas, se centrifugaron a 2000 revoluciones por minuto (rpm) durante 8 minutos. Posteriormente con la ayuda de una pipeta Pasteur se colectó el suero y se colocó en biales previamente identificados; se congelaron para ser transportados al laboratorio en una nevera con refrigerantes, donde se mantuvieron hasta ser procesados.

3. A las muestras de suero obtenidas se les aplicó la prueba indirecta de ensayo inmunoenzimático (ELISA) a partir de la descripción realizada por Boulard en 1985(5) y por Sánchez y Cambra (36) con algunas modificaciones del laboratorio del Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Parasitología Animal.

4. Estos procedimientos se repitieron los días 0, 28, 56 y 84.

TECNICA ELISA

En la prueba ELISA se utilizó antígeno de *F. hepatica* adulta (de secreción/excreción). Se emplearon microplacas Nunc-Immuno Plate MaxiSorp. El conjugado fue una anti-IgG bovino peroxidasa desarrollado en conejo, a una dilución de 1 en 2000. El sustrato utilizado fue ABTS (Sigma immuno chemicals), y la absorbancia fue leída mediante espectrofotómetro a 405 nanómetros de longitud de onda, empleando un lector Multiskan Plus, versión 2.03.

DISEÑO EXPERIMENTAL

I. Con las muestras de heces del día -30 se formaron tres grupos (A, B y C) realizándose una distribución homogénea de acuerdo a la cantidad de hp5gh(40).

II. Los grupos A y B fueron tratados con Triclabendazol* a dosis de 12 mg por Kg de peso en pié (4), y el grupo C no recibió tratamiento (permaneció como grupo testigo).

III. El grupo A recibió tratamiento cada 56 días, y el grupo B cada 112 días durante los 7 meses que duró el experimento.

EVALUACION DE RESULTADOS

Para realizar el análisis de éstas pruebas se utilizó el paquete **SAS®** (37).

1. Cada 28 días se determinó la prevalencia y la intensidad a través de la media de hp5gh, la mínima, la máxima, la desviación estándar y el error estándar.

2. Mediante la técnica ELISA se determinaron las densidades ópticas calculando la media, la desviación estándar, el error estándar, la mínima y la máxima densidad óptica.

3. Para interpretar los resultados de las densidades ópticas obtenidas de los sueros mediante la técnica ELISA, se consideró como valor base las mínimas y las máximas densidades ópticas de los controles positivos, así como sus medias aritméticas(36).

4. Se llevó a cabo una prueba de kruskal-Wallis con los grupos A, B y C para determinar si había diferencias estadísticas.

5. Con los datos de prevalencia y de intensidad de los grupos A y B de todo el periodo se aplicó la prueba de Wilcoxon para determinar a partir de que momento eran diferentes(40).

6. Se realizó una prueba de correlación de Spearman (40) entre la media de hp5gh mensual y los títulos de anticuerpos, interpretando los datos con el ajuste de tiempo correspondiente al ciclo del parásito, con la migración de formas juveniles de este.

RESULTADOS

En el cuadro 1 se describe el grupo A tratado con Triclabendazol* cada 56 días, que presentó una media antes del tratamiento de 86.57 ± 10.56 hp5gh (día 0) y después de éste, la media mostró una variación de 0 (días 84, 140 y 168) a 2.92 ± 1.99 (día 56). La mínima antes del tratamiento fué de 7 y la máxima de 182 huevos de *F. hepatica*, y después del tratamiento se observó una variación entre la mínima y la máxima de 0 (días 28 al 168) a 22 huevos (día 56). La prevalencia después del primer tratamiento disminuyó a 21.42% (día 28) y descendió hasta llegar a 0% (día 84) después de un segundo tratamiento. Posteriormente volvió a subir a 7.14% (día 112) pero después de un tercer tratamiento se mantuvo en 0% (días 140 y 168).

Cuadro 1. Efecto del Triclabendazol* en el grupo A sobre la excreción de huevos de *Fasciola hepatica* en ganado bovino tratado cada 56 días en clima cálido húmedo.

DIAS	-30	0	28	56	84	112	140	168
TX	-	+	-	+	-	+	-	+
X	69.71 ± 12	86.57 ± 10.5	0.78 ± 0.4	2.92 ± 1.99	0	0.071 ± 0.07	0	0
PREV	100	100	21.42	14.28	0	7.14	0	0
EI	0	0	99.14	97.07	100	99.91	100	100
m	7	25	0	0	0	0	0	0
M	182	173	6	22	0	1	0	0

X= Media aritmética de huevos de *Fasciola hepatica*.

PREV= Prevalencia.

EI= Reducción porcentual en la excreción de huevos.

m= Mínima cantidad de huevos excretados.

M= Máxima cantidad de huevos excretados.

TX= Tratamiento.

En el cuadro 2 se describe el grupo B que recibió tratamientos con intervalo de 112 días observándose una media de 82.85 ± 14.7 hp5gh (día 0) en el momento de iniciar el experimento, y posteriormente se presentó una variación de 0.14 ± 0.14 (día 140) después del segundo tratamiento a 8.35 ± 3.33 (día 112). La mínima de huevos antes del tratamiento fué de 26 y máxima de 190 (día 0), valores que se modificaron después del tratamiento a una mínima de 0 (días 28 al 168) y una máxima de 34 (día 112). La prevalencia en este grupo no llegó a ser de 0 en ninguno de los muestreos, y su variación fué de 7.14 (día 140) a 35.71 (días 84 y 112).

Cuadro 2. Efecto del Triclabendazol* en el grupo B sobre la excreción de huevos DE *F. hepatica* aplicandolo a intervalos de 112 días.

DIAS	-30	0	28	56	84	112	140	168
TX	-	+	-	-	-	+	-	-
X	67.92 ± 11	82.85 ± 14	0.71 ± 0.4	2 ± 1.4	4.14 ± 1.7	8.35 ± 3.3	0.14 ± 0.1	0.05 ± 0.5
PREV	100	100	14.28	14.28	35.71	35.71	7.14	14.28
EI	0	0	99.22	97.99	95.62	90.18	99.81	99.92
m	9	26	0	0	0	0	0	0
M	160	190	6	18	21	34	2	7

X= Media aritmética de huevos de *Fasciola hepatica*.

PREV= Prevalencia.

EI= Reducción porcentual en la excreción de huevos.

m= Mínima cantidad de huevos excretados.

M= Máxima cantidad de huevos excretados.

TX= Tratamiento.

El cuadro 3 muestra el grupo C que permaneció como testigo, se observó un aumento en la excreción de huevos después del día 0, alcanzando

su máximo nivel el día 56, después del cuál comenzó a disminuir progresivamente.

Cuadro 3. Cinética de eliminación de huevos de *F. hepatica* en el grupo C en animales que no fueron tratados con Triclabendazol*.

DIAS	-30	0	28	56	84	112	140	168
TX	-	-	-	-	-	-	-	-
X	68.14	79.92	91.21	99.92	94.64	85.07	76.78	78.85
PREV	100	100	100	100	100	100	100	100
EI	0	0	0	0	0	0	0	0
m	13	10	45	52	56	26	33	29
M	150	183	178	189	185	166	142	159

X= Media aritmética de huevos de *Fasciola hepatica*.

PREV= Prevalencia.

EI= Reducción porcentual en la excreción de huevos.

m= Mínima cantidad de huevos excretados.

M= Máxima cantidad de huevos excretados.

TX= Tratamiento.

En el cuadro 4 se puede apreciar que en los días -30 y 0 antes de iniciar el experimento, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos A, B y C, ($P > 0.05$) con la prueba de Kruskal-Wallis.

Después del tratamiento en el día 0 la reducción de huevos de *Fasciola hepatica* fué significativa ($P < 0.05$) en el grupo A con respecto al B (días 84 y 112), mediante una prueba de Wilcoxon. En relación al grupo C, se observó diferencia significativa ($P < 0.01$) con los grupos tratados, mediante una prueba de Kruskal-Wallis, desde el día 28 hasta finalizar el experimento.

Cuadro 4. Perfil comparativo entre las medias aritméticas de excreción de huevos en los animales tratados con Triclabendazol* (Grupos A y B) y los animales sin tratamiento (Grupo C).

DÍAS	GRUPO A	GRUPO B	GRUPO C
-30	69.71±12.61	67.92±11.42	68.14±11.23
0	86.67±10.56	82.85±14.70	79.92±47.97
28	0.78±0.47	0.71±0.49	91.21±12.03**
56	2.92±1.99	2±1.42	99.92±10.92**
84	0*	4.14±1.79	94.64±11.90**
112	0.071±0.071*	8.36±3.33	85.07±11.26**
140	0	0.14±0.14	76.78±11.09**
168	0	0.65±0.59	78.85±11.09**

* (P<0.05)

** (P<0.01)

Gráfica 1. En esta gráfica se comparan los tres grupos estudiados, donde claramente se observa la diferencia en la excreción de huevos de los animales tratados con relación a los controles.

En el cuadro 5 se observan las densidades ópticas en suero de bovinos con fasciolosis mediante la prueba ELISA. En el grupo A se observó una media antes del tratamiento de 0.679, y posteriormente disminuyó a 0.619 (día 84), pero antes se observó un aumento 0.636 (día 56). En el grupo B se observó una media de 0.643 antes del tratamiento, que fué menor a la densidad óptica promediada en el grupo A y posteriormente disminuyó a 0.628 (día 84) pero presentó antes una elevación a 0.651 (día 56). En el grupo C la media antes del tratamiento fue menor que en los grupos A y B, siendo de 0.634 (día 0) y observó una disminución a 0.607 (día 56) aumentando antes a 0.662 (día 28).

En los tres grupos no se observó una variación marcada en sus medias comportándose en una forma muy similar, y estadísticamente no se encontraron diferencias significativas (P>0.05).

Cuadro 5. Densidades ópticas en suero de bovinos con fasciolosis mediante la prueba ELISA.

DIAS	0	28	56	84
GRUPO A				
X	0.679±0.016	0.622±0.015	0.636±0.018	0.619±0.01
m	0.556	0.524	0.535	0.517
M	0.758	0.692	0.735	0.710
GRUPO B				
X	0.643±0.015	0.637±0.019	0.651±0.015	0.628±0.01
m	0.538	0.528	0.542	0.536
M	0.724	0.810	0.731	0.716
GRUPO C				
X	0.634±0.020	0.662±0.014	0.607±0.015	0.644±0.02
m	0.521	0.563	0.523	0.525
M	0.736	0.732	0.734	0.790

X= Media aritmética de las densidades ópticas.

m= Mínima densidad observada.

M= Máxima densidad observada.

Gráficas 2, 3 y 4 se muestra la correlación entre la excreción de huevos de *Fasciola hepatica* y las densidades ópticas obtenidas mediante ELISA de los grupos A, B y C. La prueba de correlación de Spearman que se realizó con los valores obtenidos en los análisis coproparasitológicos y las densidades ópticas para los días 0, 28, 56 y 84 demostró que existía una correlación muy baja (0.26, 0.0022 y 0.11 para cada grupo respectivamente).

DISCUSION

Con base en los resultados obtenidos, se determinó que después de un primer tratamiento no fueron eliminados totalmente los parásitos; situación que fué comprobada por la presencia de huevos en los muestreos posteriores, observándose una prevalencia al día 28 post-tratamiento de 21.42% y de 14.28% para los grupos A y B respectivamente. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Quiroz e Ibarra (32) quienes después del primer tratamiento con Triclabendazol* a dosis de 12 mg/kg de p.v. encontraron una prevalencia de 25%, señalando que esto pudo deberse a que el producto no es eficaz en un 100% contra las formas inmaduras de catorce días.

Büscher et al. (6) reportaron que el desarrollo de fasciolas que sobrevivieron al tratamiento con Triclabendazol* se retarda por aproximadamente 2 semanas; esto se correlaciona con la presencia de huevos de *F. hepatica* después de un primer tratamiento en el presente estudio. Por su parte Smeal y Hall (38) mencionan que en los bovinos las fasciolas de 3 a 5 semanas son ligeramente más resistentes, y por ende logran sobrevivir al tratamiento.

Ibarra et al. (18) en un estudio realizado sobre la extensión del efecto del Triclabendazol*, encontraron que a la tercera semana posterior al tratamiento se presentó una prevalencia del 30%.

En otro trabajo realizado por Ibarra y Vera (19) bajo condiciones de clima cálido húmedo, en el cuál se aplicó tratamiento con Triclabendazol* a dosis de 12 mg/kg de p.v. a un lote de bovinos, encontraron a las 4 y 8 semanas prevalencia de 16.6% y ésta aumentó a 66.7% en la doceava semana. De igual forma mencionan que las zonas que presentan éstas características climáticas, las lluvias mantienen una alta densidad durante todo el año y provocan reinfecciones por el parásito en forma permanente. El presente estudio se realizó bajo éstas mismas condiciones y los resultados obtenidos fueron muy semejantes.

Con respecto a los resultados entre los grupos A y B, se pudo observar que los tratamientos a menor intervalo de tiempo, traen consigo una mayor reducción en la excreción de huevos del parásito, ya que se logra eliminar a las formas inmaduras que sobreviven al primer tratamiento, observándose ésta situación en forma acumulativa para los posteriores tratamientos en el grupo A, esto se corrobora por los hallazgos encontrados por McKellar y Kinabo (21) quienes señalan que para lograr un control estratégico de *F. hepatica*, es necesario realizar varios tratamientos con cierto intervalo de tiempo para reducir la excreción de huevos.

Matone (23) determinó que de acuerdo a las condiciones climáticas de cada región, podrían ser necesarios 3 tratamientos, o incluso 4 tratamientos por año, para controlar la fasciolosis. En el presente trabajo se encontró que aplicando tratamientos cada 112 días se lograba disminuir la prevalencia a un menor porcentaje, en tratamientos subsecuentes.

Boray et al. (4) mencionan que repetidos tratamientos a intervalos de 8 a 11 semanas, son altamente eficientes en la disminución de la contaminación de pasturas, lo que se indica por una reducción en el número de huevos 14 meses después de un primer tratamiento, confirmando en esta forma el efecto de disminución acumulativa que se presentó en los resultados obtenidos.

Echevarría et al. (10) mencionan en un trabajo realizado en Brasil sobre el control de *F. hepatica*, que el promedio de huevos del total de un hato, disminuía habiendo sido tratado solo un tercio de él, y esto se entendía al considerar que el Triclabendazol[®] es altamente efectivo contra los estadios inmaduros del parásito, reduciendo la contaminación y las posibilidades de reinfección de los grupos controles. Esto se correlaciona con la disminución en la excreción de huevos del grupo testigo, durante el desarrollo del presente experimento.

En un estudio realizado sobre la eficacia del Triclabendazol[®], Eckert et al. (11) manejaron valores para sus grupos experimentales desde 2.4 hasta

71.4 hp5gh, y obtuvieron una eficacia del 93%; en el presente estudio, la eficacia fué de hasta un 85.72% en el grupo B después del primer tratamiento, pero se manejaron valores de hasta 190 hp5gh, lo que hace suponer un mayor grado de infección por el trematodo.

Como resultados de la prueba ELISA, se determinó que las densidades ópticas se mantuvieron muy similares durante los 4 muestreos que se realizaron, lo que concuerda con los resultados obtenidos por Tello, quién en un estudio sobre la prevalencia de fasciolosis en bovinos encontró poca variación en los niveles de anticuerpos para los animales que permanecen en exposición permanente al trematodo en cuestión.(42)

Malone y Craig (22), señalan que la prueba ELISA presenta como limitante, la dificultad para diferenciar el momento en que se presenta la infección por el parásito, y que no es posible determinar una infección primaria en animales que han permanecido durante varios años a la exposición de *F. hepatica*. Esta observación se aplica a los resultados obtenidos, y explica la presencia de niveles bajos en las densidades ópticas y la mínima variación encolrada entre los tres grupos, y es así que los animales que después del tratamiento con el fasciolicida resultaban negativos en el examen coproparasitológico, seguían manteniendo niveles de anticuerpos muy similares a los observados previos al tratamiento o incluso a los vistos en el grupo testigo.

Estos resultados pudieron ser debidos a la presencia de anticuerpos residuales que permanecen circulando aún por un periodo prolongado después del tratamiento". Tello determinó que no existía correlación alguna entre los niveles de anticuerpos y la excreción de huevos de *F. hepatica*, explicándose así los resultados obtenidos.(42) La eficacia obtenida al aplicar tratamientos con intervalos de 56 días es determinante, ya que se observó la eliminación de las formas inmaduras que habían sobrevivido al primer tratamiento, y demostró la

** Ibarra, V. F. comunicación personal, 1996.

reducción que se puede lograr en la reinfección y en la contaminación de pasturas. Resultados que se confirman con lo obtenido por Büscher et al. (6) quienes encontraron que tratamientos aplicados a intervalos de 8 a 10 semanas, logran controlar la extensión del periodo prepatente, en el cuál el Triclabendazol[®] actúa contra formas de mayor edad en forma selectiva, quedando las formas juveniles por ser resistentes, siendo esto apoyado por Boray et al. (4) determinando que un control excelente de la fasciolosis se logra con tratamientos a intervalos de 8 a 11 semanas.

Por otra parte si bien se demostró una alta eficacia el dar tratamientos cada 56 días, a nivel de campo nos enfrentamos al costo elevado del tratamiento, que es de \$20.44 para un bovino de 300 kg de peso(17). Sería importante evaluar en base a esto que opción es más rentable, si dar tratamientos cada 56 días, obteniendo una disminución mayor en la excreción de huevos pero a un alto costo, o emplear un programa de desparasitación cada 112 días con el cual se convive con la fasciolosis en un porcentaje bajo pero a un menor costo, y sometiendo a consideración la observación realizada por Ibarra (17), que en lo referente a la amplia distribución de *F. hepatica* entre ruminantes domésticos, animales no domésticos, roedores, lagomorfos y otras especies silvestres, el problema es muy difícil de erradicar. Es evidente que el control de la fasciolosis contempla la integración de diversas medidas, tales como la aplicación estratégica y sistemática de productos fasciolicidas, eficaces tanto para formas inmaduras como maduras; tratar de establecer el control de las poblaciones de caracoles, que actúan como huésped intermediario, en base a métodos físicos, químicos y biológicos, y apoyar éstas actividades mediante prácticas de manejo zootécnico, encaminadas a reducir las probabilidades de reinfección.(22,25,26)

Las pérdidas económicas que ocasiona *F. hepatica* han sido estudiadas por varios autores quienes mostraron ser considerables(14,15,30), esto sería interesante de considerar para la implantación de programas de desparasitación, apoyándose en estudios de costo-beneficio.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

CONCLUSIONES

Se concluye de éste trabajo que al aplicar Triclabendazol* a dosis de 12 mg/kg de peso en pié a intervalos de 56 días se logra una mayor eficacia que al aplicarlo cada 112 días, sin embargo ésto implica un alto costo en el tratamiento, por lo cuál deberá realizarse un análisis de costo beneficio y poder determinar que calendario de desparasitación se utilizará. También se comprobó la eficacia del Triclabendazol* bajo condiciones de alta humedad y temperatura en el sureste de México, lograndose disminuir la excreción de huevos de *F. hepatica* y reducir la contaminación de los potreros por éste trematodo.

En lo que corresponde a la prueba ELISA, se observó que no nos dá una clara idea del grado de infestación de los animales ya que da resultados positivos tanto en animales infectados y no infectados que anteriormente hayan sido expuestos al trematodo, y por otra parte al ser tan sensible, es de poca utilidad si se quieren apreciar los cambios reales posteriores a un tratamiento, además de ser costosa para implementarse debido al elevado valor económico del equipo y los materiales. Por esta razón deben considerarse pruebas alternas como son Dig-ELISA y DOT-ELISA, y considerar otras nuevas, haciendo referencia al uso de coproantígenos en los que todavía falta investigación pero que se plantea como una excelente alternativa.

También se concluye que no existe correlación entre los títulos de anticuerpos y la eliminación de huevos de *F. hepatica*, pues al haber anticuerpos residuales, puede no haber eliminación de huevos y al mismo tiempo se podrán observar niveles altos de anticuerpos.

Por lo tanto el control de la fasciolosis dependerá en gran parte de la aplicación de nuevos conocimientos sobre la epidemiología de éste parásito así como de establecer calendarios de actividad parasitaria en cada región geográfica. Apoyado esto con la implementación de nuevos programas de control químicos y biológicos.

LITERATURA CITADA

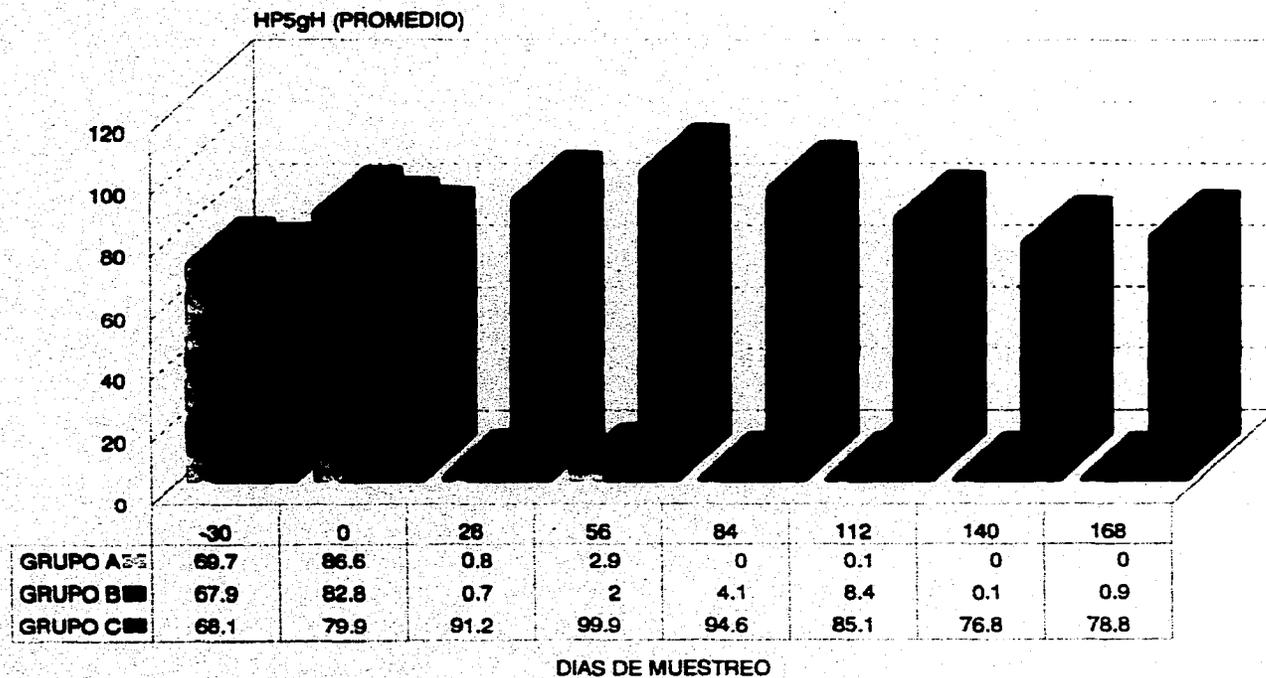
- 1.- Acevedo, M.A; Quintero, M.J; Romero, C.E.: Manual de técnicas de diagnóstico en parasitología veterinaria. Depto Parasitología. FMVZ-UNAM 1984.
- 2.-Bautista, G.C. y Garcia, O.M.: Fasciolosis en rumiantes. Folleto de divulgación No. 1. SARH-INIFAP. Centro Nacional de Investigación en Parasitología Veterinaria. Morelos, México 1993.
- 3.- Boray, J.C.: Chemotherapy of fasciolosis. *N.S.W. Vet. Proc.* 18:42-47 (1982).
- 4.- Boray, J.C; Jackson, R; Strong, M.B; Chemoprophylaxis of fasciolosis with Triclabendazole. *N.Z. Vet. J.* 33:182-185 (1985).
- 5.-Boulard, Ch.: Comparaison de la détection des foyers de Fasciolose par test ELISA sus lactosérum et sérum et par coproscopie. *Ann. Rech. Vét.* 16:363-368 (1985).
- 6.-Büscher, G; Bowen, F.L; Strong, M.B; Allison, J.R. & Richards, R.J.: Extension of the prepatent period of *Fasciola hepatica* in infected animals following treatment with triclabendazole. *Vet. Rec.* 120:460-461 (1987).
- 7.- Castellanos, H.A. Escutia, S.J; Quiroz, R.H.: Frecuencia de Fasciolosis hepática en bovinos sacrificados en plantas Tipo Inspección Federal en México de los años 1979-1987. *Vet. Méx.* 23:339-342 (1992).
- 8.- Cruz, R.A. & Malek, E.A.: Suitability of six Lymnaeid snail for infection with *Fasciola hepatica* *Vet. Parasit.* 24:203-210 (1987).
- 9.- Dobbins, S.E.: Comparison of the activity of some Fasciolicides against immature liver fluke in calves. *Vet. Rec.* 3:177-178 (1982).
- 10.-Echavarria, F.A.M. Correa, M.B.C. Wehrle R.D. & Correa I.F.: Experiments on Anthelmintic control of *Fasciola hepatica* in Brazil; *Vet. Parasit.* 43:211-222 (1992).
- 11.- Eckert, J. Schnetter, G. & Wolff.: Fasinex (Triclabendazole) a new fasciolicide. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochr.* 91:349-356 (1984).

- 12.- Fuhui, S. Bangfa, L; Chengui, Q; Ming, L. & Mingbao, F.: The efficacy of Triclabendazole (Fasinex) against immature and adult *Fasciola hepatica* in experimentally infected cattle. Vet. Parasit. 33:117-124 (1989).
- 13.- Garcia E.: Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 2a. ed. Instituto de Geografía, UNAM., Méx. 1973.
- 14.-Gonicot, B; Mouligneau F, and Lekeux P.: Economic and production consequences of liver fluke disease in double-muscled fattening cattle. Jour. Vet. Med. 38:203-208 (1991).
- 15.- Hope Cawdery, M.j.: Review of the economic importance of fasciolosis in sheep and cattle. Vet. News. 6: 14-22(1984).
- 16.-Ibarra, V.F.: Epidemiología de las principales enfermedades por trematodos. Memorias. Curso-taller regional en epidemiología, diagnóstico y control de infecciones por helmintos en ganado. FMVZ, UNAM-FAO. México, D.F. p.27-36 1996.
- 17.-Ibarra, V.F.: Selección de antihelmínticos. Memorias. Curso-taller regional en epidemiología, diagnóstico y control de infecciones por helmintos en ganado. FMVZ, UNAM-FAO. México, D.F. p.162-165. 1996
- 18.-Ibarra, V.F; Quiroz, R.H; Hector, P.J; Vera, M.Y. y Tello, R.M.: Determinación de la extensión del efecto de Triclabendazol, Rafoxanide, Nitroxinil y Meniclofolan en bovinos infectados en forma natural con *Fasciola hepatica*. Tec. Rec. Mex. 25:404-407 (1987).
- 19.-Ibarra, V.F. y Vera, M.Y.: Comparación del efecto extensivo de cinco fasciolocidas en bovinos en clima cálido. Vet. Mex. 22:159-163 (1991).
- 20.-Kaplan, M.R.: Liver Flukes in Cattle: Control based on seasonal transmission dynamics. Comp. of Cont. Educ. in Prac. Vet. 16:687-693 (1994).
- 21.-McKellar, Q.A. & Kinabo, L.D.B.: The pharmacology of flukicidal drugs. Br. Vet. J. 147:306-321 (1991).
- 22.-Malone, J.b. & Craig, M. Th.: Cattle Liver Flukes: Risk Assessment and Control. Comp. of Cont. Educ. in Prac. Vet. 12:5 747-754 (1990).

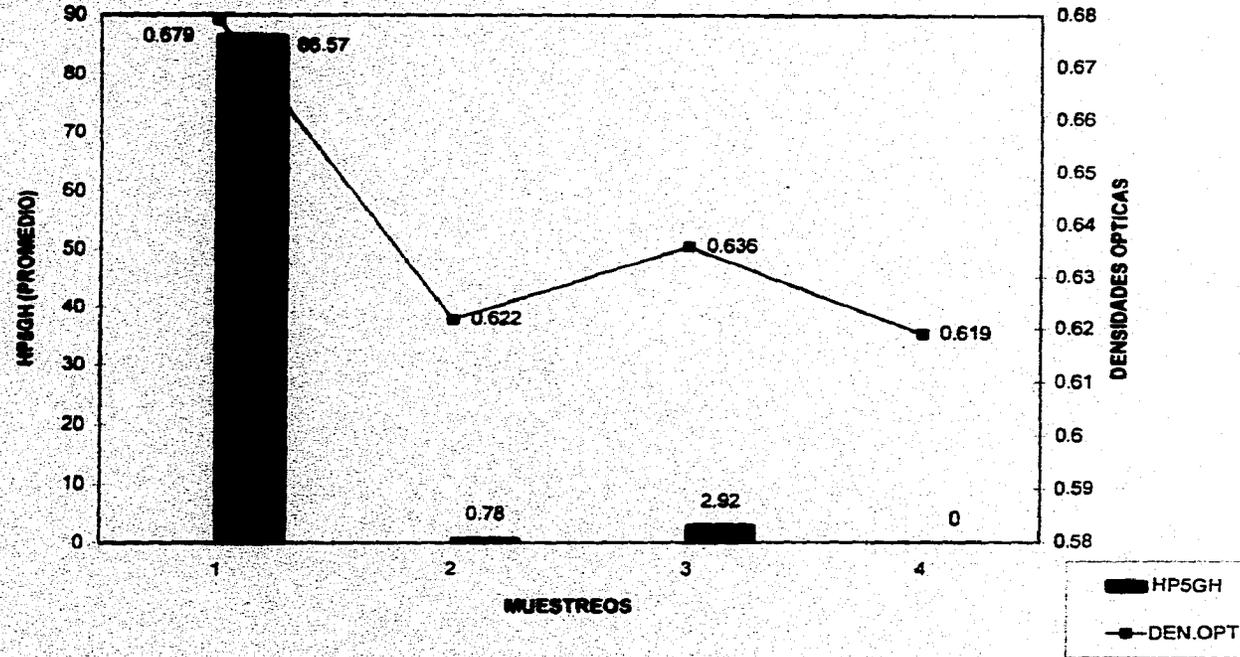
- 23.-Malone, J.B.: *Fasciola hepatica*: Diagnosis, treatment programs and evaluation of economic losses. Memorias. Curso-taller regional en epidemiología, diagnóstico y control de infecciones por helmintos en ganado. **FMVZ. UNAM-FAO**, México, D.F. p.49-53. 1996
- 24.-Núñez, M.T.G. y Quiroz,H.R.: Efecto de tratamientos sistemáticos con nitroxinil en la reducción de huevos de *Fasciola hepatica* en ganado de lidia. **Vet. Mex.** 25:341-343 (1994).
- 25.-Ollerenshaw, C.B.: Forecasting liver fluke disease. Symp.of the Brit. Soc. for Parasit. **Blackwell Scientific Publications, London**, 12:33-52 (1975).
- 26.-Over, J.H.: Ecological Basis of Parasite Control: Trematodes with special reference to Fascioliasis. **Vet. Parasit.** 11:85-97 (1982).
- 27.-Pfister,K.: Serodiagnosis of fascioliasis in ruminants. **Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.** 9:511-518 (1990).
- 28.-Quintin, A; Mckellar, Ludovick, D.B. & Kinabo: The Pharmacology of Flukicidal Drugs. **Br. Vet. Jour.** 147:306-321 (1991).
- 29.- Quiroz, R.H.: Parasitología y Enfermedades parasitarias de los animales Domésticos **Edit. Limusa**, México. p.232-251. 1984
- 30.-Quiroz, R.H.: Impacto económico de la fascioliasis en rumiantes domésticos. **Comp. de Prod. Bov. SUA, FMVZ, UNAM** (1993).
- 31.-Quiroz, R.H.: Principios diagnósticos de trematodos, cestodos, nematodos gastrointestinales, pulmonares y filarias. Memorias. Curso-taller regional en epidemiología, diagnóstico y control de infecciones por helmintos en ganado. **FMVZ. UNAM-FAO**, México, D.F. p.143-152. 1996
- 32.-Quiroz, R.H; Ibarra, V.F. y Vera, M.Y.: Eficacia del Triclabendazol contra formas Inmaduras de *Fasciola hepatica* y la ganancia de peso en bovinos. **Vet. Mex.** 19:29-33 (1988).
- 33.-Rangel, R.J.L.: Estudio Poblacional de la Fascioliasis en el estado de Tabasco; **Tesis Doctor en Ciencias**. Fac. Ciencias, UNAM. 1995

- 34.-Rapic, D; Dzakula; Sakar,D. & Richards, R.J.: Comparative efficacy of Triclabendazole, Nitroxylnil, and Rafoxanide against immature and mature *Fasciola hepatica* in naturally infected cattle. Vel. Record. 122:59-62 (1988).
- 35.-Rickard, L.G; Zimmerman, G.L; Hoberg, E.P; Bishop, J.K. & Pettitt, R.J.:Influence of Ivermectin and Clorsulon treatment on productivity of a cow-calf herd on the Southern Oregon Coast. Vel. Parasit. 41:45-55 (1992).
- 36.-Sánchez-Vizcalno, J.M. & Cambra, M.A.: Técnicas inmunoenzimáticas ELISA en patología animal y vegetal. 2da Ed. Oficina Internacional de Epizootias. Paris, Francia. 1987
- 37.-SAS. SAS/STAT® User's Guide. 4th Ed. SAS. Inst. Inc. Cary, N.C. 1990
- 38.-Smeal, M.G. & Hall, C.A.: The activity of triclabendazole against immature and adult *Fasciola hepatica* infection in sheep. Aust. Vet. J. 60:329-331 (1984).
- 39.-Soulsby, E.J.L.:Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. Edit. INTERAMERICANA, México, 1987.
- 40.-Stel, G.D. y Torrie, J.H.: Biostatística principios y procedimientos. Mc Graw-Hill. Méx, D.F. 1986
- 41.-Taylor, R.E.A; Muller, R.: The effects of meteorological factors upon parasites. Symp. of the Brit. Soc. for parasit. 12:32-52 (1973).
- 42.-Tello, R.M.: Prevalencia anual de Fasiolosis en bovinos de Tulancingo, Hgo. México. Tesis Licenciatura, UNAM, México. 1993
- 43.-Wamae, L.W. Fasciolosis as a limiting factor in livestock productivity. Bull. Anim. Hlth. Prod. Afr. 39: 257-269 (1991).
- 44.-Wehrle, R.D. & Richards,R.J.: Fasciolosis a strategic approach. 16th Jor. Uru. de Bui. Paysandu, Uruguay, pA1-A8 (1988).

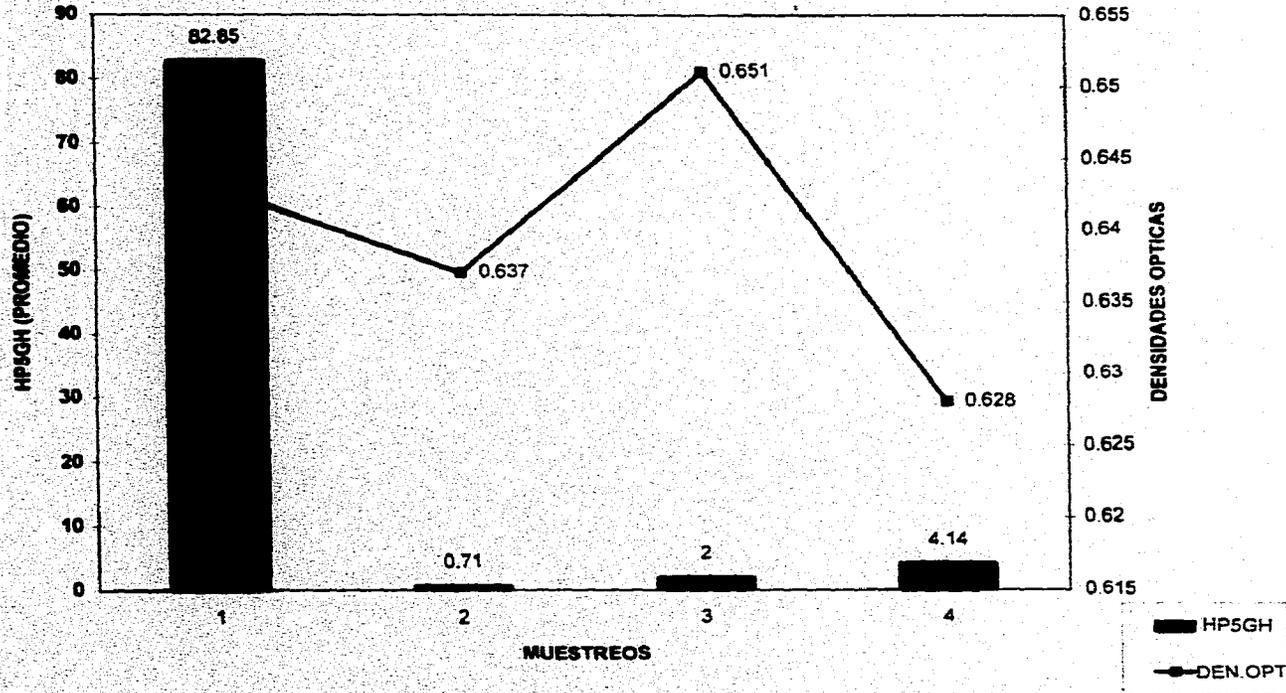
GRAFICA 1. COMPARACION DE LA DE EXCRECION DE HUEVOS DE F. hepatica EN LOS GRUPOS A, B Y C.



GRAFICA 2. CORRELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE EXCRECIÓN DE HUEVOS *Fasciola hepatica* Y LAS DENSIDADES OPTICAS (ELISA) EN EL SUERO DE BOVINOS. (GRUPO A)



GRAFICA 3. CORRELACION ENTRE LOS NIVELES DE EXCRECION DE HUEVOS DE *Fasciola hepatica* Y LAS DENSIDADES OPTICAS (ELISA) EN EL SUERO DE BOVINOS. (GRUPO B)



GRAFICA 4. CORRELACION ENTRE LOS NIVELES DE EXCRECION DE HUEVOS DE *Fasciola hepatica* Y LAS DENSIDADES OPTICAS (ELISA) EN EL SUERO DE BOVINOS. (GRUPO C)

