

01690

4



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

MODELOS QUIMIOTERAPEUTICOS EN EL CONTROL DE
FASCIOSIS Y DICROCELIOSIS EN GANADO BOVINO Y
OVINO EN SENDAS REGIONES DE MEXICO Y ESPAÑA

T E S I S
PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS VETERINARIAS
PRESENTADA POR

HECTOR QUIROZ ROMERO

DIRECTORES DE TESIS:
DR. FLOYLAN IBARRA VELARDE
DRA. MARIA YOLANDA MANGA GONZALEZ
DR. PEDRO OCHOA GALVAN



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F., MARZO DE 2002



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.

JURADO DE EXAMEN DE GRADO DE DOCTOR

Presidente: Dr. Francisco Suárez Güemes

Secretario: Dr. Pedro Ochoa Galván

Vocal: Dr. Danilo Méndez Medina

Suplente: Dra. M^a Yolanda Manga González

Suplente: Dra. Camila Arriaga de Morilla

Suplente: Dr. Alejandro Cruz Reyes

Suplente: Dr. Froylán Ibarra Velarde

COMITÉ TUTORAL

Dra. Camila Arriaga de Morilla, Investigadora del Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Microbiología, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Secretaría de Agricultura Ganadería y Desarrollo Rural, México.

Dr. Alejandro Cruz Reyes, Investigador del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.

Dr. Froylán Ibarra Velarde, Profesor Titular C de Tiempo Completo, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México.

Dra. M^a Yolanda Manga González, Investigadora Científica del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) y Jefa del Departamento de Sistemas de Producción y Sanidad Animal, Estación Agrícola Experimental (CSIC), León, España.

Dr. Danilo Méndez Medina, Profesor Titular C de Tiempo Completo, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México.

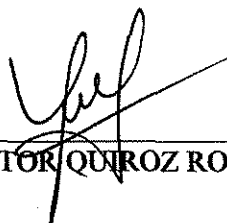
Dr. Pedro Ochoa Galván, Profesor Titular C de Tiempo Completo y Jefe del Departamento de Genética y Bioestadística, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México.

Dr. Francisco Suárez Güemes, Profesor Titular C de Tiempo Completo, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México.

DECLARACIÓN

Esta Tesis Doctoral es el resultado del trabajo de investigación del autor, en ella se da el reconocimiento a las fuentes de información consultada.

El autor da su consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, para que dicha Tesis esté disponible para cualquier tipo de reproducción e intercambio académico bibliotecario.



HÉCTOR QUIROZ ROMERO

DEDICATORIAS

Quiero dedicar este trabajo de investigación a la memoria de mi madre la Profesora M. del Carmen Romero Rubio y de mi padre Profesor Leonel Quiroz Vergara, quienes me enseñaron el amor al estudio y el placer de la lectura. A mi esposa y a mis hijos que me permitieron ser padre para participar en el proceso evolutivo de este mundo.

A mis maestros por haberme dado su amistad y sus enseñanzas del maravilloso mundo de la ciencia y las humanidades, por haber creado en mi la consciencia de la importancia de la enseñanza y la investigación, para tener un mundo más justo y una idea mas cercana a la verdad.

A mis discípulos y alumnos, por haberme permitido enseñarles algunas de mis experiencias en el campo de las ciencias biológicas y humanísticas, así como por compartir el trabajo de laboratorio, de campo, de biblioteca, en el cubículo, y así, ir, a la búsqueda de nuevos conocimientos para bien de la humanidad.

A Ciarfile, a mis amigas y amigos por haberme dado su amistad, y sus ideas sobre el pensamiento científico, el literario, el artístico, el filosófico, en un intercambio de experiencias, que a lo largo de la vida me han permitido entender mejor la compleja naturaleza humana, el entorno del ser humano y el placer de vivir.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos manifestar nuestro más sincero agradecimiento a todas aquellas personas e Instituciones que colaboraron, de manera directa e indirecta, en el presente estudio, sin cuya ayuda no hubiera sido posible su realización.

Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, con cuyo apoyo siempre hemos contado durante el desarrollo de este trabajo científico tanto en México como en España. A la Dirección General de Apoyo al Personal Académico por el financiamiento del Proyecto: "Aplicación de nuevos métodos para el control de fasciolosis y hemoncosis en ganado en dos regiones endémicas de México" Ref. IN218996, Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT). A la Dirección General de Estudios de Posgrado por el apoyo prestado en el Proyecto PAEP 006009.

Al consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) de España, por habernos acogido durante nuestra estancia de Año sabático - desde mayo de 1993 hasta diciembre de 1994 - en la Estación Agrícola Experimental, centro de CSIC en León, para realizar las investigaciones sobre *Dicrocoelium dendriticum*, que constituyen una de las partes de esta Tesis Doctoral.

Al Ministerio de Educación y Ciencia de España, Dirección General de Investigación Científica y Técnica (DGICYT) por haber financiado nuestra estancia de Año Sabático en León, Ref. SAB94-0139.

A la Dra. M.Yolanda Manga González, Investigadora Científica del CSIC y Jefa del Departamento de Sistemas de Producción y Sanidad Animal, Laboratorio de Parasitología, Estación Agrícola Experimental (CSIC), León, España, quien nos animó a iniciar las investigaciones que constituyen esta Tesis Doctoral, nos dirigió, asesoró y participó en el desarrollo de las mismas, y en la elaboración, redacción y revisión de la memoria. La Dra. Manga fue la Investigadora Responsable del Proyecto Científico de Año Sabático "Evaluación del efecto de tratamientos antihelmínticos contra *Dicrocoelium dendriticum* en ganado ovino" DGICYT, Ref. SAB94-0139, que desarrollamos en España, y del Proyecto financiado por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología "Estudios experimentales sobre dicroceliosis," CICYT, Ref. AGF92-0588, con los cuales se sufragaron los gastos generados durante el desarrollo de nuestras investigaciones en España.

Al Dr. Froylán Ibarra Velarde, ex-Jefe del Laboratorio de Fasciolosis del Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias (CENID) en Parasitología Veterinaria, Jiutepec, Morelos, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Secretaría de Agricultura Ganadería y Desarrollo Rural (SAGAR) de México, y Profesor de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, quien nos asesoró y participó en los experimentos realizados en ganado bovino en Nautla, Veracruz. El Dr. Ibarra fue el Investigador Responsable del proyecto "Control de la Fasciolosis" en convenio de colaboración con el Institute Nationale de la Recherche Agronomique (INRA) en

Francia, financiado por la Comunidad Europea, Programa STD-III, Referencia TS3 CT92-0106, con el cual se sufragaron los gastos de los primeros viajes de recolecta de muestras en los animales de Nautla, el material de laboratorio y el equipo instrumental necesario para realizar los estudios inmunológicos de la Tesis Doctoral.

Al Dr. Pedro Ochoa Galván, Jefe del Departamento de Genética y Bioestadística de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, por su asesoría y activa participación en la ejecución de los análisis estadísticos y en la interpretación de los resultados obtenidos en la Tesis Doctoral.

A los Doctores (as) Camila Arriaga de Morilla, Alejandro Cruz Reyes, Froylán Ibarra Velarde, M^a Yolanda Manga González, Danilo Méndez Medina, Pedro Ochoa Galván y Francisco Suárez Güemes, miembros del Comité Tutotal, por haber realizado la revisión crítica de los informes semestrales y del documento final de esta Tesis Doctoral, y por los acertados comentarios y recomendaciones que nos hicieron al respecto.

A los Doctores Luis Zarco Quintero, Leopoldo Paash Martínez y Francisco Trigo Tavera, Director, ex-Director y Jefe de la División de Estudios de Posgrado e Investigación, respectivamente, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, por el apoyo y las facilidades brindadas para que se llevara a cabo esta Tesis Doctoral.

A todo el personal de la Estación Agrícola Experimental del CSIC (León, España), especialmente a la Dra. Raquel Campo, Lic. en Veterinaria Rocío Vega, María Luz Carcedo, Carmen Espiniella y María Luisa Cordero, miembros del Laboratorio de Parasitología, y a Herminio Fidalgo, José Fuentes, Laudelino Pérez, y Avelino Merino, de la finca experimental, por su inestimable colaboración en los trabajos de laboratorio y de campo. También queremos expresar nuestro agradecimiento a los Drs. Angel Ruíz Mantecón y José Fernández Revuelta, Director y ex-Director, respectivamente, de dicha estación, por todas las facilidades que nos dieron para realizar nuestro trabajo.

A Don Jesús Soto, propietario del rebaño de ganado ovino en el que se realizaron los estudios sobre *Dicrocoelium dendriticum* en Grulleros (León, España), por habernos permitido utilizar sus animales para realizar nuestros experimentos, y por la ayuda que nos prestó en el manejo del ganado.

A Don Rolando Irizón Capitaine, propietario del hato de ganado bovino de la Finca las Gaviotas (Nautla, Veracruz, México), quien gustoso accedió a nuestra petición para realizar los estudios sobre fasciolosis.

A la Biol. Natividad Montenegro por la colaboración en los estudios inmunológicos realizados en el CENID Parasitología Veterinaria, INIFAP. A la QFB Rosalba Salcedo, miembro del Departamento de Patología Clínica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, por su participación en las determinaciones enzimáticas.

Al MVZ Juan Pablo García, Gerente de Novartis Salud Animal S.A. de C.V., por habernos proporcionado el fasciolicida "Fasinex" empleado en los experimentos en ganado vacuno, así como por el apoyo económico que nos brindó para la presentación de algunos resultados del presente estudio en el XII Congreso Latinoamericano de Parasitología celebrado en La Habana, Cuba.

A los miembros del Departamento de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, en especial a la MVZ, M en C Yazmín Alcalá Canto y a Espiridión Ramos Martínez por su colaboración en la elaboración de gráficas, y al MVZ Gilberto Ballesteros Rodea por su ayuda en los trabajos de campo. Al Dr. Andrés Aluja Schuneman, ex-Director del Centro de Enseñanza Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT) de la UNAM, ubicado en Martínez de la Torre Veracruz, por las facilidades brindadas durante las estancias en dicho centro los días en que se realizaba la toma de muestras en la Finca Las Gaviotas. Asimismo, al laboratorista Jorge Becerra del CEIEGT, por su ayuda en dichos trabajos de campo. También queremos agradecer al personal del laboratorio de Patología Animal en San Rafael, Veracruz, por habernos permitido el procesado de material biológico.

**FALTA
PAGINA**

VI

DATOS BIOGRÁFICOS

Héctor Quiroz Romero egresó de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM en 1961, se inició en la docencia como ayudante de profesor honorario de Parasitología en 1960 al lado del Dr. Manuel Chavarría Chavarría, Jefe del Dpto. de Parasitología en ese entonces. En 1962 pasó a ser profesor adjunto, en 1963 presentó y ganó el concurso de oposición de las asignaturas de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. En 1969 fue nombrado profesor de medio tiempo y en 1973 profesor de tiempo completo hasta la fecha. Ha sido Jefe y fundador del Dpto. de Parasitología del INIP y, en tres ocasiones, del de la Facultad. Además fue Consejero Técnico, Consejero Universitario y miembro de la Comisión Dictaminadora. Asimismo fue Director de la Facultad (1973-77), Jefe de la División de Estudios de Posgrado de (1981-1985) y Secretario de Planeación (1990-1993). En 1997 fue nombrado Profesor Emérito de la UNAM.

Durante 1965-66 realizó una estancia en Francia, con beca para realizar una especialización en Parasitología Veterinaria en la Ecole National Vétérinaire en Maison Alfort, París, Francia, bajo la dirección del Dr. J. Guilhon. En 1967 y 1968 estuvo como alumno de la Maestría en Ciencias Médicas en la Facultad de Medicina, bajo la dirección del Dr. Francisco Biagi. En 1980-81 obtuvo una invitación con beca durante su año sabático para colaborar con el Dr. J. Euzéby, en la École National Vétérinaire en Lyon, Francia. En 1993-94 fue becado, para laborar en el Consejo Superior de Investigaciones Científicas de León, España, en donde colaboró con la Dra. M. Yolanda Manga González sobre control de dicroceliosis en ganado ovino.

De 1964 a 2000 ha dirigido 214 tesis de licenciatura y 16 de maestría en parasitología con enfoques sobre: epidemiología, quimioterapia, inmunología, diagnóstico y control. Durante su vida profesional ha recibido 24 distinciones científicas o profesionales otorgadas por organismos nacionales e internacionales. Es autor del libro: Parasitología y Enfermedades Parasitarias de Animales Domésticos. De 1966 a la fecha ha publicado 65 artículos de parasitología en revistas nacionales e internacionales con arbitraje. Ha sido editor o coordinador de 28 libros y manuales. Ha escrito 18 capítulos de libros y 8 manuales para la enseñanza. Por otra parte ha impartido 172 conferencias nacionales e internacionales. De 1966 a la fecha ha publicado 260 resúmenes de trabajos de investigación en congresos nacionales e internacionales.

De 1970 a 2000 ha sido responsable de 22 proyectos de investigación con financiamiento oficial o privado sobre: Anaplasmosis, Babesiosis, Nematodosis y Fasciolosis. Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores nivel II, miembro numerario de la Academia Veterinaria Mexicana. Pertenece a las siguientes Asociaciones: Asociación Mexicana de Parasitología Veterinaria, Sociedad Mexicana de Parasitología, Asociación de Parasitólogos Españoles, Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, Sociedad Mexicana de Historia de la Medicina Veterinaria, Sociedad Argentina de Parasitología y Sociedad de Parasitología de Cuba (Presidente de honor).

Tabla de contenido (índice)

Declaración.....	I
Dedicatorias	II
Agradecimientos.....	III
Datos biográficos	VII
Resumen	VIII
Summary	IX
Tabla de contenido (índice)	X
Lista de Cuadros.....	XIII
Lista de Figuras.....	XVI
Abreviaturas y siglas usadas	XVIII
Capítulo 1.- INTRODUCCIÓN	1
1.1. Presentación del problema a investigar	1
1.2. Antecedentes sobre Dicroceliosis	1
1.2.1. Ciclo biológico de <i>Dicrocoelium dendriticum</i>	3
1.2.2. Bases epidemiológicas para el control de <i>D. dendriticum</i>	5
1.2.3. Quimioterapia.....	7
1.3. Antecedentes sobre fasciolosis.....	10
1.3.1. Ciclo biológico de <i>Fasciola hepatica</i>	11
1.3.2. Bases epidemiológicas para el control de <i>Fasciola hepatica</i>	12
1.3.3. Quimioterapia	18
1.3.4. Diagnóstico coprológico, inmunológico y enzimático.....	19
1.4. Justificación de las investigaciones.....	29
1.4.1. Dicroceliosis	29
1.4.2. Fasciolosis	31
1.5. Hipótesis de trabajo	33
1.5.1. Dicroceliosis	33
1.5.2. Fasciolosis	34
1.6. Objetivos generales.....	34
1.6.1. Dicroceliosis.....	34
1.6.1.1. Objetivos específicos	34
1.7. Objetivos generales	35
1.7.2. Fasciolosis	35

1.7.2.1. Objetivos específicos	36
Capítulo 2.- MATERIAL Y MÉTODOS	37
2.1. Experimentos sobre control de la dicroceliosis ovina en España	37
2.1.1. Localización	37
2.1.2. Animales	37
2.1.3. Diseño experimental	37
2.1.4. Toma de muestras de heces. Estudio coprológico	38
2.1.5. Análisis estadístico de los datos obtenidos	40
2.2. Experimentos sobre control de la fasciolosis bovina en México	41
2.2.1. Localización	41
2.2.2. Animales	41
2.2.3. Diseño experimental	41
2.2.4. Toma de muestras de heces. Estudio coprológico	44
2.2.5. Análisis estadístico de los resultados obtenidos.....	44
2.2.6. Toma de muestras de sangre.	45
2.2.7. Análisis estadístico de los datos obtenidos	48
Capítulo 3.- RESULTADOS	55
3.1. Experimentos sobre control de la dicroceliosis ovina en España	55
3.1.1. Importancia de la época de tratamiento contra <i>Dicrocoelium dendriticum</i> en ganado ovino.....	56
3.1.2. Valoración de modelos de control estratégico contra <i>Dicrocoelium dendriticum</i> en ganado ovino	85
3.2. Experimentos sobre control de la fasciolosis bovina en México.....	55
3.2.1. Evaluación de dos modelos quimioterapéuticos para el control de la fasciolosis bovina en clima cálido-húmedo en México.....	115
3.2.2. Modelos de tratamientos estratégicos contra <i>Fasciola hepatica</i> en ganado bovino en clima cálido.....	139
3.2.3. Comparación de tres modelos quimioterapéuticos contra <i>Fasciola hepatica</i> en ganado bovino en clima-cálido húmedo en México	163

Capítulo 4.- DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	187
4.1. Experimentos sobre control de la dicroceliosis ovina en España	187
4.1.1. Discusión	187
4.1.2. Conclusiones	194
4.2. Experimentos sobre control de la fasciolosis bovina en México	195
4.2.1. Discusión.....	195
4.2.1.1. Parámetros coprológicos.....	195
4.2.1.2. Niveles de anticuerpos anti- <i>Fasciola hepatica</i>	197
4.2.1.3. Valores de las enzimas GGT y AST	197
4.2.1.4. Conclusiones	198
Capítulo 5.- REFERENCIAS	199

Lista de Cuadros

Artículo 3.1.1. Importancia de la época de tratamiento contra *Dicrocoelium dendriticum* en ganado ovino

Cuadro 1. PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HPG DE *D. dendriticum* EN GANADO OVINO TRATADO CON ALBENDAZOL EN NOVIEMBRE Y ABRIL (GRUPO 1), pp.78.

Cuadro 2. PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HPG DE *D. dendriticum* EN GANADO OVINO TRATADO CON ALBENDAZOL EN ENERO (GRUPO 2), pp. 79.

Cuadro 3. PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HPG DE *D. dendriticum* EN GANADO OVINO TRATADO CON ALBENDAZOL EN ABRIL (GRUPO 3, TESTIGO), pp.80.

Cuadro 4. PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DE TASA DE HPG DE *D. dendriticum* vs G 3 (TESTIGO) DE GANADO OVINO TRATADO CON ALBENDAZOL EN DIFERENTES MESES, pp.81.

Cuadro 5. EFECTO EXTENSIÓN (E.E.) Y EFECTO INTENSIDAD (E.I.) DEL ALBENDAZOL EN LA ELIMINACIÓN DE HPG DE *D. dendriticum* EN GANADO OVINO TRATADO EN DIFERENTES MESES, pp.82.

Artículo 3.1.2. Valoración de modelos de control estratégico contra *Dicrocoelium dendriticum* en ganado ovino

Cuadro 1. PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HPG DE *D. dendriticum* EN GANADO OVINO TRATADO CON ALBENDAZOL EN NOVIEMBRE Y ENERO (GRUPO 1), pp.107.

Cuadro 2. PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HPG DE *D. dendriticum* EN GANADO OVINO TRATADO CON ALBENDAZOL EN NOVIEMBRE Y FEBRERO (GRUPO 2), pp.108.

Cuadro 3. PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HPG de *D. dendriticum* EN GANADO OVINO TRATADO CON ALBENDAZOL EN ABRIL (GRUPO 3, TESTIGO), pp. 109.

Cuadro 4. PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DE TASA DE HPG DE *D. dendriticum* vs G 3 (TESTIGO) DE GANADO OVINO TRATADO CON ALBENDAZOL EN DIFERENTES MESES, pp.110.

Cuadro 5. EFECTO EXTENSIÓN (E.E.) Y EFECTO INTENSIDAD (E.I.) DEL ALBENDAZOL EN LA ELIMINACIÓN DE HPG DE *D. dendriticum* EN GANADO OVINO TRATADO EN DIFERENTES MESES, pp.111.

Artículo 3.2.1. Evaluación de dos modelos quimioterapéuticos para el control de fasciolosis bovina en clima cálido-húmedo en México

Cuadro 1. PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HP5G DE *F. hepatica* EN GANADO BOVINO TRATADO CON TRICLABENDAZOL EN ENERO (GRUPO 1, TESTIGO), pp.132.

Cuadro 2. PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HP5G DE *F. hepatica* EN GANADO BOVINO TRATADO CON TRICLABENDAZOL EN ENERO Y MAYO (GRUPO 2), pp.133.

Cuadro 3. PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DE TASA DE LA MEDIA DE HP5G DE *F. hepatica* DE LOS DIFERENTES MUESTREOS POR PARES VS LA MEDIA DE HP5G DEL GRUPO 1 (TESTIGO), pp.134.

Artículo 3.2.2. Modelos de tratamientos estratégicos contra *Fasciola hepatica* en ganado bovino en clima cálido

Cuadro 1. PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HP5G DE *F. hepatica* EN GANADO BOVINO TRATADO CON TRICLABENDAZOL EN ENERO (GRUPO 1), pp.156.

Cuadro 2. PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HP5G DE *F. hepatica* EN GANADO BOVINO TRATADO CON TRICLABENDAZOL EN ENERO, MAYO Y JULIO (GRUPO 2), pp.157.

Cuadro 3. PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HP5G DE *F. hepatica* EN GANADO BOVINO TRATADO CON TRICLABENDAZOL EN ENERO, MAYO, AGOSTO Y OCTUBRE (GRUPO 3), pp.158.

Cuadro 4. PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DE TASA DE LA MEDIA DE HP5G DE *F. hepatica* VS GRUPO TESTIGO EN GANADO BOVINO TRATADO CON TRICLABENDAZOL EN DIFERENTES MESES, pp.159.

Artículo 3.2.3. Comparación de tres modelos quimioterapéuticos contra *Fasciola hepatica* en ganado bovino en clima cálido-húmedo en México

Cuadro 1. PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HP5G DE *F. hepatica* EN GANADO BOVINO TRATADO CON TRICLABENDAZOL EN ENERO (G1 TESTIGO), pp.182.

Cuadro 2. PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HP5G DE *F. hepatica* EN GANADO BOVINO TRATADO CON TRICLABENDAZOL EN ENERO Y JUNIO (GRUPO 2), pp.183.

Cuadro 3. PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HP5G DE *F. hepatica* EN GANADO BOVINO TRATADO CON TBZ EN ENERO, JUNIO Y OCTUBRE (GRUPO 3), pp. 184.

Cuadro 4. PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DE TASA DE LA MEDIA DE HP5G DE *F. hepatica* VS EL GRUPO TESTIGO EN GANADO BOVINO TRATADO CON TRICLABENDAZOL EN DIFERENTES MESES, pp. 185.

Lista de Figuras

Material y Métodos de la tesis.

Figura 1. Mapa de España y de la Provincia de León con la localización de la Ciudad de León (Manga-González, 1983). Grulleros está situado a 10 km al sur de dicha ciudad, pp. 49.

Figura 2. Precipitación pluvial y temperatura media mensuales en León, España, pp. 50.

Figura 3. Esquema del diseño experimental realizado en ganado ovino en León España, naturalmente infectado con *D. dendriticum* y tratado con albendazol (20 mg/kg) en distintos meses, pp.51.

Figura 4. Mapa de México y el estado de Veracruz, con la localización geográfica del poblado de Nautla, pp.52.

Figura 5. Precipitación pluvial y temperatura media mensuales en Nautla, Veracruz, México, pp.53.

Figura 6. Esquema del diseño experimental realizado en ganado bovino de Veracruz, México, naturalmente infectado con *F. hepatica* y tratado con triclabendazol (12 mg/kg) en distintos meses, pp. 54.

Artículo 3.1.1. Importancia de la época de tratamiento contra *Dicrocoelium dendriticum* en ganado ovino, pp. 56.

Figura 1. Mapa de España y de la Provincia de León con la localización de la Ciudad de León (Manga-González, 1983). Grulleros está situado a 10 km al sur de dicha ciudad, pp. 83

Figura 2. Precipitación pluvial y temperatura media mensuales en León, España, pp.84.

Artículo 3.1.2. Valoración de modelos de control estratégico contra *Dicrocoelium dendriticum* en ganado ovino, pp. 85.

Figura 1. Mapa de España y de la Provincia de León con la localización de la Ciudad de León (Manga-González, 1983). Grulleros está situado a 10 km al sur de dicha ciudad, pp. 112.

Figura 2. Precipitación pluvial y temperatura media mensuales en León, España, pp.113.

Artículo 3.2.1. Evaluación de dos modelos quimioterapéutico para el control de fasciolosis bovina en clima cálido-húmedo en México, pp. 115.

Figura 1. Mapa de México y el estado de Veracruz, con la localización geográfica del poblado de Nautla, pp.135.

Figura 2. Precipitación pluvial y temperatura media mensuales en Nautla, Veracruz, México, pp. 136.

Figura 3. Niveles de anticuerpos anti- *Fasciola hepatica* mediante ELISA en bovinos tratados con triclabendazol, pp.137.

Figura 4. Niveles de GGT en bovinos tratados con triclabendazol en enero (G1), y enero y mayo (G2), pp.138.

Artículo 3.2.2. Modelos de tratamientos estratégicos contra *Fasciola hepatica* en ganado bovino en clima cálido, pp. 139.

Figura 1. Mapa de México y el estado de Veracruz, con la localización geográfica del poblado de Nautla, pp.160.

Figura 2. Precipitación pluvial y temperatura media mensuales en Nautla, Veracruz, México, pp.161.

Figura 3. Valores de GGT en bovinos tratados con triclabendazol en enero (G1), enero y mayo (G2), enero, mayo, agosto y octubre (G3), pp. 162.

Artículo 3.2.3. Comparación de tres modelos quimioterapéuticos contra *Fasciola hepatica* en ganado bovino en clima cálido-húmedo en México, pp. 163.

Figura 1. Mapa de México y el estado de Veracruz, con la localización geográfica del poblado de Nautla, pp.186.

Figura 2. Precipitación pluvial y temperatura media mensuales en Nautla, Veracruz, México, pp. 187.

Figura 3. Niveles de GGT en bovinos tratadas con triclabendazol en enero (G1), enero y mayo (G2); enero, junio y octubre (G3), pp. 188.

Abreviaturas y siglas usadas en el experimento sobre dicroceliosis ovina en España

ABZ: Albendazol.
CSIC: Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
D. dendriticum: *Dicrocoelium dendriticum*.
e.e.: Error estándar.
E.E.: Efecto extensión de la eficacia del albendazol.
E.I.: Efecto intensidad de la eficacia del albendazol.
G: Grupo.
HPG: Huevos de *D. dendriticum* en 3 g de heces.
M1: Primer muestreo de heces de ovejas, noviembre de 1993.
M2: Segundo muestreo de heces de ovejas, enero de 1994.
M3: Tercer muestreo de heces de ovejas, febrero de 1994.
M4: Cuarto muestreo de heces de ovejas, abril de 1994.
M5: Quinto muestreo de heces de ovejas, mayo de 1994.
M6: Sexto muestreo de heces de ovejas, julio de 1994.
M7: Séptimo muestreo de heces de ovejas, agosto de 1994.
M8: Octavo muestreo de heces de ovejas, septiembre de 1994.
M9: Noveno muestreo de heces de ovejas, octubre de 1994.
M10: Décimo muestreo de heces de ovejas, noviembre de 1994.
P: Probabilidad estadística.
SAS: Statistical Analysis System.
p.i.: posinfección.
%RTvsM1: Porcentaje de reducción de tasa vs M1.
%RTvsT: Porcentaje de reducción de tasa vs el testigo.
%RTGvsT: Porcentaje de reducción de tasa global vs el testigo.

Abreviaturas y siglas usadas en los experimentos de fasciolosis bovina en México

ABC: Complejo Avidina Biotina.
%RTvsM1: Porcentaje de reducción de tasa vs M1.
%RTvsT: Porcentaje de reducción de tasa vs el testigo.
%RTGvsT: Porcentaje de reducción de tasa global vs el testigo.
P: Probabilidad estadística.
SAS: Statistical Analysis System.
p.i.: posinfección.
ALP: Fosfatasa alcalina.
ALT: Alanino amino transferasa.
AST: Aspartato amino transferasa.
DFA: Antígeno de fasciolas muertas.
DIG-ELISA: Técnica ELISA de difusión en gel.
DOT-ELISA: Técnica ELISA cuya reacción se manifiesta como un punto o mancha en la caja de plástico.
e.e.: Error estándar.

E.E.: Efecto extensión de la eficacia del triclabendazol.
E.I.: Efecto intensidad de la eficacia del triclabendazol.
ELISA: Técnica de inmunoensayo enzimático.
F. hepatica: Fasciola hepatica.
FFA: Antígeno de fasciolas frescas.
FLA: Antígeno de fasciolas liofilizadas.
G: Grupo.
GGT: Gamma-glutamil transpeptidasa.
GLDH: Glutamato deshidrogenasa.
GOT: Transaminasa glutámico oxalacética.
GT: Gamma-glutamil transferasa.
HPG: Huevos de *Fasciola hepatica* en cinco gramos de heces .
IgG: Inmunoglobulinas tipo G.
M1: Primer muestreo de heces de vacas, enero de 1996.
M2: Segundo muestreo de heces de vacas, febrero 1996.
M3: Segundo muestreo de heces de vacas, marzo 1996.
M4: Tercer muestreo de heces de vacas, mayo 1996.
M5: Cuarto muestreo de heces de vacas, junio 1996.
M6: Quinto muestreo de heces de vacas, agosto 1996.
M7: Sexto muestreo de heces de vacas, septiembre 1996.
M8: Octavo muestreo de heces de vacas, noviembre 1996.
M9: Noveno muestreo de heces de vacas, diciembre 1996.
M10: Décimo muestreo de heces de vacas, enero 1997.
PBS: Solución amortiguadora de fosfatos.
PPA: Antígeno parcialmente purificado.
SAS: Statistical Analysis System.
TBZ: Triclabendazol.
UI/L: Unidades internacionales por litro.

RESUMEN

Modelos quimioterapéuticos en el control de la fasciolosis y dicroceliosis en ganado bovino y ovino en sendas regiones de México y España.**HÉCTOR QUIROZ ROMERO****(Asesores: Dres. Froylán Ibarra Velarde, M. Yolanda Manga-González y Pedro Ochoa Galván)**

La dicroceliosis ovina en España y la fasciolosis bovina en México, representan dos problemas de salud animal de gran impacto económico. El objetivo fue evaluar cinco modelos de control quimioterapéutico contra *Dicrocoelium dendriticum* en ganado ovino en León, España y seis modelos contra *Fasciola hepatica* en Veracruz, México, para reducir la eliminación fecal de huevos. **Experimentos en dicroceliosis:** Cada modelo contra *D. dendriticum* se aplicó a un grupo (G) de 31 a 39 ovejas. El G1 fue tratado con albendazol en noviembre y enero, el G2 en noviembre y febrero, el G3 en noviembre y abril, el G4 en enero y el G5 en abril (testigo). Cada 45 días se realizó la técnica de sedimentación a 3 g de heces durante un año. Se encontró que la media en la reducción de eliminación fecal de huevos, el G1, 39.2 %, fue el que tuvo el mejor comportamiento entre enero y abril, siguieron en orden descendente el G4, 37.0 %; el G2, 26.2 %; el G3, 24.3 % y el G5, 0%, en el periodo de abril a noviembre no hubo diferencia significativa ($P \leq 0.05$). De los dos grupos a los cuales se les administró un tratamiento el G4, tratado en enero, tuvo un mejor comportamiento en relación al G5, tratado en abril y de los tres grupos que recibieron dos tratamientos el G1 fue el que redujo en mayor grado la eliminación de huevos, seguido en segundo lugar por el G2, y en tercer lugar el G3 ($P \leq 0.05$). **Experimentos en fasciolosis:** Cada modelo contra *F. hepatica* se aplicó a un grupo (G) de 23 vacas. El G1 (testigo) fue tratado con triclabendazol (TBZ) en enero, el G2 en enero y mayo, el G3 en enero, mayo y julio, el G4 en enero, mayo, agosto y octubre, el G5 en enero y junio, y el G6 en enero, junio y octubre, debido a la transmisión. Cada 60 días se colectaron heces y sangre. Se realizó la técnica de sedimentación con 5 g de heces, ELISA para anticuerpos anti-*F. hepatica* y espectrofotometría para las enzimas gamma-glutamil transpeptidasa (GGT) y aspartato amino transferasa (AST) en suero. El modelo con tratamiento en enero, junio y octubre aplicado al G6, fue el que tuvo el mejor comportamiento 59.1 % %, en orden descendente le siguieron el G4, 49.6 %; el G2, 30.8; el G3, 25.8 %; el G5, 8.1 % y el G1, 0 % (testigo), en los muestreos. Los niveles medios de anticuerpos anti-*F. hepatica* con punto de corte de 0.50, fueron positivos en todos los muestreos (0.515 a 0.824) y no revelaron el efecto de los tratamientos. Los valores de AST no rebasaron los niveles medios señalados como normales, mientras la media de GGT fue positiva en todos los muestreos, con un incremento significativo durante el periodo de junio a noviembre.

Palabras clave: *Dicrocoelium dendriticum*, *Fasciola hepatica*, ALBENDAZOL, TRICLABENDAZOL, MODELOS DE CONTROL, ELISA, GAMMA-GLUTAMIL TRANSPEPTIDASA, ASPARTATO AMINO TRANSFERASA, MÉXICO, ESPAÑA.

Summary

Chemotherapeutic models in the control of fasciolosis and dicrocoeliosis in cattle and sheep in each region of Mexico and Spain

HÉCTOR QUIROZ ROMERO

(Advisors: Drs. Froylán Ibarra Velarde, M. Yolanda Manga-González and Pedro Ochoa Galván).

The Ovine dicrocoeliosis in Spain and bovine fasciolosis in Mexico, represents two problems of great impact in animal health. The objective was to evaluate five models of chemotherapeutic control against *Dicrocoelium dendriticum* in sheep from Leon, Spain, and six models against *Fasciola hepatica* in cattle from Veracruz, Mexico, aimed to produce maximum reduction of the fecal elimination of eggs. **Experiments on dicrocoeliosis:** Each model against *D. dendriticum* was applied to one group (G), each of 31 to 39 lambs. G1 was treated with albendazole in November and Jenuary, G2 in November and February, G3 in November and April, G4 in January and G5 in April (control). Sedimentation test was applied using 3 gram of faeces every 45 days during one year. It was found that the best reduction of faecal elimination of eggs was in G1, followed by G4, G2, G3 and G5. After April, the five groups of lambs showed no statistical differences on the elimination of eggs. However, from November and April, of the two groups which received a single treatment G4, treated in January, showed a better performance than G5, treated in April. Of the three groups which received two treatments, G1 reduced the elimination of eggs to a higher degree followed by G2 and G3, respectively. **Experiments on fasciolosis:** Each model against *F. hepatica* was applied to one group each of 23 cows. The G1 (control) was treated in January with triclabendazole, G2 in January and May, G3 in January, May and July, G4 in January, May, August and October, G5 in January and June and G6 in January, June and October. Every 60 days blood and faeces were collected. Five g of faeces were analized by sedimentation test each time. Anti-*F. hepatica* antibodies were detected by the indirect ELISA test and gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) and aspartate amino transferase (AST) enzymes were determined by spectrophotometry. The best reduction of eggs was observed in G6 followed, in descending order, by G4, G2, G3, G5, and G1 (control). The serology performed showed positive antibody levels in the majority of animals. However, no correlation was observed with regard to the treatments administered. The AST levels did not overtake the normal enzymatic levels, while the mean levels of GGT were positive in the majority of sera sampling, showing a significant increase in some groups during the period from June and November.

Keywords: *Dicrocoelium dendriticum*, *Fasciola hepatica*, MODELS, CONTROL, ALBENDAZOLE, TRICLABENDAZOLE, ELISA, GAMMA-GLUTAMYL TRANSPEPTIDASE, ASPARTATE AMINO TRANSFERASE

Capítulo 1.- INTRODUCCIÓN

1.1. Presentación del problema a investigar

Algunas de las enfermedades parasitarias más importantes de los rumiantes domésticos en las regiones ganaderas del mundo, especialmente por su prevalencia, incidencia e impacto en la producción animal, son causadas por parásitos cuya transmisión se produce en el proceso de pastoreo, tal es el caso de las helmintosis hepáticas: fasciolosis y dicroceliosis. Los trematodos responsables de ellas tienen ciclos vitales dependientes del medio, por lo que el control eficaz de dichos digeneos se asienta sobre estudios epidemiológicos previos. Éstos permitirán conocer el modelo de las poblaciones parasitarias en los huéspedes definitivos e intermediarios y en el medio externo, la influencia de los factores ambientales sobre tales poblaciones, así como establecer los focos de contaminación y las épocas de riesgo para la infección de los huéspedes definitivos.

La fasciolosis es una parasitosis importante en la cría del ganado vacuno en México (Quiroz, 1984, 1997), y la dicroceliosis lo es en el ganado ovino de España (Cordero del Campillo *et al.*, 1994; Manga-González, 1997; Manga-González y Quiroz, 1999). Por esto, se decidió abordar estudios sobre el control de la primera parasitosis en el estado de Veracruz, México, y de la segunda en la Provincia de León, España.

1.2. Antecedentes sobre Dicroceliosis

La dicroceliosis, causada por *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899 (Digenea, Dicrocoeliidae), es una parasitosis hepática que afecta a numerosas especies de mamíferos domésticos y salvajes, principalmente rumiantes, que actúan como huéspedes definitivos, y que en ocasiones también puede afectar a humanos. Este parásito, ampliamente difundido en varios países de Europa, Asia, América y norte de

África, parasita en los conductos biliares y vesícula biliar en los huéspedes definitivos (Malek, 1980).

Dicrocoelium dendriticum producen en los huéspedes definitivos un efecto irritativo sobre la mucosa de los grandes conductos biliares, lo que explica la proliferación e incremento de la secreción de las células glandulares, además de colangitis y colangiectasia, en estados avanzados de la infección, cirrosis y degeneración celular (Dhar y Singh, 1963; Boch y Supperer, 1982; Wolff *et al.*, 1984; Alziev y Ducos de Lahitte, 1991; Sánchez-Campos *et al.*, 1996; Ferreras *et al.*, 1997). En dichos huéspedes, este parásito causa cirrosis del hígado (Mapes, 1951), engrosamiento y dilatación de los conductos biliares (Massoud, 1981; Campo, 1996) y moderada distensión de la vesícula biliar (Dhar y Singh, 1963).

Tanto en la fase aguda como en la crónica se produce un descenso en el número de eritrocitos y en la cantidad de hemoglobina, así como leucocitosis y una clara eosinofilia (Petrov y Abalkhin, 1983; Campo *et al.*, 1995 y Campo, 1996). Asimismo en la dicroceliosis experimental en ganado ovino se observa un incremento en la actividad de la colinesterasa, aspartato amino-transferasa y alanino amino-transferasa (Dementev *et al.*, 1978; Campo *et al.*, 1994; Campo, 1996). En corderos infectados experimentalmente con 1000 y 3000 metacercarias de *D. dendriticum* la primera detección de anticuerpos IgG por ELISA se detectó a los 30 días p.i. El nivel más elevado se observó a los 60 p.i. y permaneció ligeramente más bajo hasta los 180 días p.i., final del experimento (González-Lanza *et al.*, 2000). Además, los estudios realizados en el hígado de una parte de dichos corderos sacrificados a los dos meses p.i. mediante la técnica de inmuno marcaje "ABC (Avidina Biotina Complex) Peroxidasa" revelaron que la respuesta humoral y local inducida por el parásito no parece ser efectiva para que se produzca la destrucción del mismo (Ferreras *et al.*, 2000).

La importancia económica y patológica de la dicroceliosis se debe, por una parte, a las pérdidas directas ocasionadas por el decomiso de hígados alterados (Del Río, 1967; Lukin, 1980; Karanfilovski, 1983) y, por otra, a las indirectas causadas por los trastornos

digestivos derivados de las alteraciones hepatobiliares que provocan dichos parásitos, que ocasionan la disminución del peso de los animales (Boray, 1985; Campo, 1996), retraso en el crecimiento (Hohorst y Lämmler, 1962), reducción en la producción de leche (Cavani *et al.*, 1982), y pérdidas cualitativas y cuantitativas en la productividad en ganado ovino y bovino (Panasyuk *et al.*, 1972) entre otros. Además, hay que tener en cuenta los costos adicionales originados por la aplicación de tratamientos antihelmínticos a que deben ser sometidos los animales, la contaminación ambiental y la resistencia.

1.2.1. Ciclo biológico de *Dicrocoelium dendriticum*

D. dendriticum tiene un ciclo indirecto complejo, en el que intervienen numerosas especies de moluscos terrestres y de hormigas, que actúan como primeros y segundos huéspedes intermediarios, respectivamente (Manga-González, 1997; Manga-González y Quiroz, 1999; Manga-González *et al.*, 2001). El esclarecimiento de dicho ciclo exigió la realización de numerosos estudios durante más de un siglo, y fue completado por vez primera por Krull y Mapes (1952, 1953).

En el huésped definitivo, los estadios adultos del parásito, que se localizan en los conductos biliares y vesícula biliar, después de la fecundación depositan los huevos embrionados en los conductos biliares, donde pasan al intestino a través del conducto colédoco, para ser evacuados con las heces del huésped. Dichos huevos son operculados, de pared gruesa y coloración marrón con dos manchas grandes más intensas, que corresponden a las masas germinales.

La eclosión del huevo y la liberación del miracidio únicamente tiene lugar en el tubo digestivo de una amplia gama de moluscos terrestres, que actúan como primeros huéspedes intermediarios. El miracidio libre atraviesa la pared intestinal del molusco, pierde los cilios y se asienta en los espacios interlobulares del hepatopáncreas cercanos al corazón y al riñón. Allí se transforma en esporocisto madre o de primer orden que, al no poseer pared propia, toma la forma del espacio en el que se aloja. A partir de las masas germinales del esporocisto madre se diferencian los esporocistos hijos o de segundo orden, que son sacciformes, poseen pared propia y migran hasta asentarse en diferentes

partes del hepatopáncreas del molusco y, en las infecciones intensas, pueden localizarse también en el aparato reproductor. Las masas germinales, que llenan los esporocistos hijos inmaduros, se transforman en cercarias de larga cola de tipo distoma o xifidiocercaria. El período transcurrido desde que el caracol ingiere el huevo hasta que la cercaria está madura varía mínimo entre 3 y 6 meses, principalmente, por la especie de molusco y la temperatura. Las cercarias maduras abandonan los esporocistos por el tocostoma y se dirigen, a través del aparato circulatorio, a la cámara respiratoria del molusco, donde son recubiertas por mucus y forman pequeñas esférulas, las cuales contienen un número generalmente elevado de cercarias.

Varias de estas esférulas se asocian a modo de racimo y constituyen la bola de mucus que recién emitida tiene color blanco brillante, y puede llegar a albergar miles de cercarias. Mediante los movimientos del caracol, dichas bolas de mucus son expulsadas al exterior por el pneumostoma (orificio respiratorio) y permanecen adheridas al borde del manto del molusco, hasta que son depositadas sobre las plantas u otros soportes, al desplazarse el caracol.

Cuando las bolas de mucus, en condiciones adecuadas, son ingeridas por distintas especies de hormigas de la familia Formicidae, las cuales actúan como segundos huéspedes intermediarios, las cercarias atraviesan el buche de las hormigas con la ayuda del estilete, pierden la cola en las primeras horas de su ingestión y se transforman en metacercarias. Una de éstas (a veces 2 ó 3), llamada "larva cerebral," se aloja en el ganglio subesofágico de la hormiga; y el resto de las metacercarias, con pared quística más consistente, se aloja en el abdomen o gáster, en número variable de acuerdo con la especie de hormiga. Al descender la temperatura, la metacercaria (o metacercarias) alojada en el ganglio subesofágico altera el comportamiento de la hormiga, al provocar en ella una parálisis de los músculos mandibulares (fase de tetania) lo que hace que se fije a la hierba. Esto facilita enormemente que el huésped definitivo, durante el pastoreo, ingiera las hormigas con las metacercarias. Para llegar a ser infectantes, las metacercarias necesitan vivir aproximadamente 45 días en el interior de la hormiga.

Cuando los huéspedes definitivos ingieren dichas hormigas infectadas, las metacercarias maduras se desenquistan en el tubo digestivo y, por vía del conducto colédoco contra corriente, a veces de la circulación portal (Krull, 1958; Srivastava *et al.*, 1978), llegan al hígado, y se situán en los conductos biliares, donde se transforman en vermes adultos. Cuando estos vermes están maduros ponen huevos, que iniciarán su salida al medio externo con las heces del huésped, transcurrido el período de prepatencia (en la oveja de 47 a 79 días posinfección según Campo *et al.*, 2000), huevos que permitirán comenzar nuevamente el ciclo biológico de *D. dendriticum*.

1.2.2. Bases epidemiológicas para el control de *D. dendriticum*

La naturaleza epidemiológica de la dicroceliosis está extraordinariamente influida por las condiciones locales, principalmente, por la presencia, etología y receptividad al parásito de los huéspedes definitivos e intermediarios, modelo de ganadería, manejo de los animales, factores meteorológicos, tipo de suelo y vegetación. Por ello, las conclusiones obtenidas en otros países sobre algunos aspectos epidemiológicos (Mapes, 1951; Tarry, 1969; Kalkan, 1970; Paraschivescu, 1976; Badie, 1975, 1977, 1978; Bocharova, 1984; Spindler *et al.*, 1986; Schuster, 1991, 1993; entre otros) no son del todo transferibles a la península Ibérica, donde el parásito es muy frecuente en los rumiantes (Cordero del Campillo *et al.*, 1994).

En España se ha detectado infección por *D. dendriticum* en rumiantes en la mayor parte de las provincias, (Del Río, 1967; Rojo-Vázquez *et al.*, 1981; García-Pérez y Juste-Jordán, 1987a, 1987b; Reina *et al.*, 1987; Manga-González *et al.*, 1991a, Cabanas *et al.*, 1989; González-Lanza *et al.*, 1993; Ferre *et al.*, 1994; Cabanas, 1995; Manga-González *et al.*, 1995 entre otros). Las tasas de prevalencia de infección fueron variables, y en el ganado ovino, con al menos una temporada de pastoreo, oscilan entre el 4.8 % en Cáceres, hasta el 100 % en zonas como León o el país Vasco

Por otra parte, se han realizado estudios principalmente en la provincia de León, España para determinar las especies de moluscos y hormigas que actúan como huéspedes intermediarios de *D. dendriticum*, seguir la dinámica de su infección y el grado de

desarrollo de las fases larvarias que albergan, y establecer los focos de contaminación y épocas de riesgo para la infección de los huéspedes definitivos (Del Río, 1967; Alunda y Manga, 1982; Manga-González, 1983, 1987, 1992; Alunda y Rojo-Vázquez, 1984; Cabanas *et al.*, 1990; Cabanas, 1995; Campo, 1996; Gómez *et al.*, 1996; y Manga-González *et al.*, 2001). Asimismo, se han realizado estudios sobre la supervivencia y viabilidad de los huevos de *D. dendriticum* (Alunda y Rojo-Vázquez, 1983).

A continuación se resume el modelo epidemiológico de la dicroceliosis en la provincia de León (España), donde se desarrolló el presente estudio quimioterapéutico, basado en los resultados de las investigaciones realizadas en España, primordialmente en la provincia de León (Manga-González, 1987, 1992, 1997; Manga-González *et al.*, 1991a, 1995, 2001; González-Lanza *et al.*, 1993, 1997; Cabanas, 1995; Luzón-Peña y Manga-González, 1995; Campo, 1996; Manga-González y Quiroz, 1999; Campo *et al.*, 2000) en el presente estudio.

Los huéspedes definitivos sólo pueden infectarse durante el período en que están activas las hormigas y salen de sus hormigueros, es decir, aproximadamente entre marzo y noviembre. Por tanto, el riesgo de infección del ganado, por la ingestión de hormigas con metacercarias infectantes, comienza en marzo, ya que en dicha fecha ya pueden encontrarse en los pastos hormigas en fase de tetania que, parasitadas el año anterior, consiguieron sobrevivir durante el invierno. Dicho riesgo aumenta en los meses siguientes, pues, además de las hormigas mencionadas, estarán en los pastos otras que, infectadas con bolas de mucus emitidas al comienzo de la primavera por los moluscos adultos (parasitados el año anterior), pueden albergar metacercarias ya infectantes. Asimismo, durante el otoño los huéspedes definitivos pueden ingerir, además, hormigas infectadas con bolas de mucus, emitidas por los moluscos que comieron huevos del parásito al final del invierno y al principio de la primavera.

Por lo tanto, la ingestión de metacercarias y la carga de vermes de *D. dendriticum* va aumentando en los huéspedes definitivos a lo largo del período de actividad de las hormigas. Esto trae como consecuencia un incremento en la eliminación

de huevos desde el otoño hasta finales del invierno, momento éste en que todas las metacercarias ingeridas antes de comenzar la inactividad de las hormigas deben haber alcanzado la fase de vermes maduros, ya que, por una parte, se ha rebasado el período de prepatencia y, por otra, no ha sido posible la reinfección con otras metacercarias aproximadamente desde noviembre. En la primavera se inicia un ligero descenso en la eliminación de huevos y en el verano se alcanzan los valores más bajos. En general, la eliminación es mas alta en los animales más viejos.

Además, hay que tener en cuenta que las temperaturas altas disminuyen la viabilidad de los huevos de *D. dendriticum*, mientras que las bajas la favorecen. De esto se deriva la importancia que tiene en el mantenimiento de la dicroceliosis la elevada tasa de eliminación de huevos que se produce desde el otoño, cuando se inicia el descenso de la temperatura, hasta el final del invierno. Este hecho trae como consecuencia una elevada contaminación de los pastos con huevos viables en la primavera, lo que propicia que los moluscos que, empiezan a estar activos y son muy abundantes en dicha época los ingieran.

Para establecer programas efectivos de control de la dicroceliosis en un área determinada, es imprescindible conocer su modelo epidemiológico. Dicho conocimiento permitirá elegir las épocas idóneas para la administración del antihelmíntico, para evitar la aplicación de tratamientos en fechas inadecuadas que impidan lograr los efectos deseados e incrementan el gasto para los ganaderos, por la compra del producto, honorarios del veterinario y jornales del personal auxiliar. Por otra parte, deben elegirse fármacos con alta eficacia y que actúen sobre las formas adultas y juveniles, si es posible.

1.2.3. Quimioterapia

Debido a la complejidad del ciclo biológico de *D. dendriticum* y a la baja especificidad parasitaria con respecto a los huéspedes definitivos e intermediarios, no es fácil aplicar medidas profilácticas y de lucha contra la dicroceliosis. El método más eficaz es el tratamiento antihelmíntico del ganado. No obstante, son escasos los trabajos realizados sobre el control de la dicroceliosis y, en todo caso, se trata de pruebas críticas

para la evaluación de la eficacia de antihelmínticos (Himonas y Liakos, 1980; Tharaldsen y Whete, 1980; Cordero del Campillo *et al.*, 1982; Theodorides *et al.*, 1982; Rojo-Vázquez *et al.*, 1989), y no de tratamientos sistemáticos administrados de forma estratégica, teniendo en cuenta la epidemiología de la enfermedad.

De acuerdo con lo señalado por Meana y Gómez-Bautista (1995), la mayoría de los fármacos que han sido utilizados contra *D. dendriticum* en el ganado ovino pertenecen a la familia de los bencimidazol-carbamatos: tiabendazol, fenbendazol, mebendazol, luxabendazol, oxibendazol, cambendazol, albendazol, tiofanato (probencimidazol) y netobimin (proalbendazol) que actúan sobre el parásito adulto. Además, en el tratamiento de la dicroceliosis se utiliza la diamfetida, del grupo de amidas aromáticas, y el praciquantel del de isoquinolinas. Durante algún tiempo se utilizó también el hexacloroparaxilol (hetol, hetolin), aunque con poca eficacia y efectos secundarios indeseables.

A pesar de que se dispone de varios compuestos quimioterapéuticos para el tratamiento de la dicroceliosis, sin embargo, no existen antihelmínticos eficaces contra las fases juveniles e inmaduras, o si alguno tiene eficacia, como es el caso de la diamfenetida, es a una dosis alta (240 mg/kg eficacia del 93-95 %) a la que aparecen efectos secundarios graves después de la administración (Stratan, 1986). Según Jolivet *et al.* (1974) dicho antihelmíntico suministrado a dosis de 240 a 300 mg/kg tiene una eficacia del 90 % al 100 %, respectivamente. Danek *et al.* (1986) señalaron una eficacia de la diamfenetida del 70 % al 97 %, cuando la administraron a dosis de 260 a 280 mg/kg. Onar *et al.* (1985) indicaron que al aplicar diamfenetida a dosis de 110 mg/kg en dos ocasiones, con intervalo de 12 h., la eficacia fue del 97 %. Dichos autores señalaron, además, que la reducción en el número de huevos se inició al quinto día, y que los distomas maduros e inmaduros fueron expulsados por medio de una sonda colocada en el conducto colédoco. Desgraciadamente, es el único trabajo en el que se señala acción contra estadios inmaduros; sin embargo, no se precisa la eficacia sobre sendos estadios del parásito.

El tiofanato administrado a ganado ovino, por vía oral, a la dosis de 50 mg y 200 mg/kg presentó una eficacia del 100 % contra *D. dendriticum* en los estudios realizados por Ambrosi (1989) y Ambrosi *et al.* (1986), respectivamente. Sin embargo, con la dosis de 50 mg/kg Onar (1990) solo obtuvo el 74.4 % de efectividad. Brugère *et al.* (1986) recomendaron la utilización del tiofanato contra *D. dendriticum* en ganado ovino, puesto que indistintamente de la dosis que fuera 50, 100, y 200 mg/kg la eficacia era superior a 99 %.

La eficacia del albendazol, uno de los compuestos más ensayados contra *D. dendriticum*, ha variado en función de la dosis y la vía de administración utilizada, aunque han sido las dosis de 15 y 20 mg/kg las más recomendadas por los distintos autores. Tharaldsen y Wethe (1980) consiguieron, durante el periodo de estabulación de los animales, una reducción del 90 % en la eliminación de huevos de *D. dendriticum* por ganado ovino tratado en noviembre, al iniciar la estabulación, con 10 1 12 mg/kg de albendazol administrado 2 veces con intervalo de una semana. Cordero del Campillo *et al.* (1982) obtuvieron una eficacia de 92.2 % cuando administraron una dosis única de 10 mg/kg por vía oral. Corba y Krupicer (1992) utilizaron bolor de liberación lenta, a la dosis de 42 mg/día, y obtuvieron una eficacia del 91.8 %. Importante de mencionar es que el albendazol es dentro de los bencimidazoles el más económico y genera resultados similares de eficacia.

Luxabendazol administrado a dosis de 10 mg/kg eliminó el 59 y 99.1 de los vermes adultos de *D. dendriticum* de acuerdo con Schuster y Hiepe (1993) y Corba *et al.* (1987), respectivamente. A la dosis de 10 y 12.5 mg/kg la eficacia en la eliminación de vermes osciló entre 63.2 y 83.8 % según Kassai *et al.* (1988).

La eficacia del netobimin a la dosis de 20 mg/kg fue de 98.9 %, 97.9 y del 89.1 % según Sanz *et al.* (1987), Corba *et al.* (1993) y Schuster y Hiepe (1993), respectivamente. En otro estudio con el mismo compuesto, pero administrado a la dosis de 15 mg/kg, Rojo-Vazquez *et al.* (1989), obtuvieron una eficacia del 91.9 %. Por otra parte, Ambrosi *et al.* (1991) señalaron que el mebendazol a la dosis de 40 y 80 mg/kg

tuvo eficacias de 93 y 99.4 % respectivamente . La eficacia del fenbendazol obtenida por Stratan (1986) a dosis de 100 mg/kg fue de 99.9 % a 100 %. El praciquantel también ha sido ensayado contra *D. dendriticum* por Wolff *et al.* (1984), quienes consiguieron una eficacia de 89 % a 98 %, al administrar una dosis de 50 mg/kg.

1.3. Antecedentes sobre fasciolosis

La fasciolosis, causada por *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 (Digenea: Fasciolidae), es una enfermedad parasitaria ampliamente distribuida por todo el mundo, que afecta al hígado de numerosas especies de mamíferos domésticos y salvajes, principalmente rumiantes, que actúan como huéspedes definitivos. Además es una zoonosis clasificada como metazoonosis, subtipo saproozoonosis de acuerdo con Schwabe *et al.* (1977).

Los cambios patológicos provocados por la fasciolosis en el huésped definitivo están relacionados con el número y tamaño de las fasciolas que alberga, así como con el período de prepatencia, de acuerdo con lo señalado por Boray (1985). Desde el punto de vista clínico, la enfermedad puede presentarse en forma aguda, subaguda y crónica, siendo este último el tipo más frecuente en ganado bovino. En la fasciolosis aguda, que se produce por la ingestión de un gran número de metacercarias en un período muy corto, el hígado presenta lesiones de hepatitis traumática hemorrágica, provocadas principalmente por la migración de un elevado número de ejemplares de *F. hepatica* juveniles. En la fasciolosis crónica, la ingestión de las metacercarias se hace de forma espaciada, y las lesiones consisten, fundamentalmente, en cirrosis y fibrosis hepática, así como colangitis hiperplásica con litiasis (Dargie, 1973; Murray, 1975; Quiroz , 1979; Soulsby, 1987).

La fasciolosis es importante por las pérdidas económicas directas e indirectas que causa en el ganado por el decomiso de vísceras, mortalidad, infecciones bacterianas secundarias, interferencia con la fertilidad, reducción en la producción de carne, leche y

lana y gastos derivados de las medidas de control. Cerca de 250 millones de cabezas de ganado ovino y 300 de bovino están potencialmente infectadas por esta parasitosis en el mundo (Boray 1982a, 1985). En México la prevalencia y la importancia económica de la fasciolosis en ganado vacuno ha sido señalada por González (1969), Quiroz *et al.* (1972), Encinas *et al.* (1989), Castellanos *et al.* (1992), y Rangel *et al.* (1994). Dargie (1987) y Quiroz (1993), (1995) han llevado a cabo revisiones sobre el impacto económico.

1.3.1. Ciclo biológico de *Fasciola hepatica*

La descripción por vez primera del ciclo vital de este parásito fue realizada, en 1883, de forma casi simultánea por Leuckart en Alemania y por Thomas en Inglaterra. El descubrimiento del ciclo duró 145 años, y en él participaron numerosos investigadores, de acuerdo con lo señalado por Piekarski (1959) y Taylor (1965).

El parásito adulto elimina huevos amarillos, no embrionados, en los conductos biliares, los cuales pasan al intestino con la bilis, y salen en las heces, en cualquier época del año. Su desarrollo en el medio externo depende de la humedad, la temperatura y el oxígeno. A 26° C se desarrolla el miracidio, embrión ciliado, que se libera del huevo cuando éste eclosiona al cabo de 15 a 25 días.

Para que el ciclo continúe, el miracidio debe nadar, si accidentalmente encuentra a un molusco dulceacuícola de la familia Lymneidae, continúa su desarrollo, penetra activamente en él, pierde en el proceso la cubierta ciliada, y se transforma en un esporocisto. Cada esporocisto da lugar a unas 5-8 redias (Soulsby, 1987). En su interior, se pueden desarrollar redias hijas, cuando las condiciones son desfavorables. Las masas germinales contenidas en las redias se transforman en cercarias de tipo distoma con cola larga, que cuando están maduras abandonan al caracol cuatro y media a siete semanas después de la infección.

Una vez en el exterior, las cercarias nadan durante un período de unos minutos a dos horas (Soulsby, 1987), hasta adherirse a plantas o a la superficie inferior de la

película de agua. Cuando se fijan, pierden su cola y se enquistan rodeándose de una sustancia viscosa segregada por las glándulas cistógenas, y se transforman en metacercarias. Éstas son quistes opacos y de tinte gris blanquecino, de aproximadamente 0.2 mm de diámetro, que son infectantes para el huésped definitivo, transcurridas 24 horas desde su enquistamiento.

Cuando las metacercarias son ingeridas por los huéspedes definitivos, se desenquistan en el duodeno. Aunque algunos parásitos pueden llegar al hígado por la circulación sanguínea, lo normal es que esta migración la realicen a través de la cavidad peritoneal. Dentro de las primeras 24 horas posingestión, la mayoría de los ejemplares inmaduros de *F. hepatica* se encuentran en la cavidad abdominal, y al cabo de cuatro a seis días, la mayor parte de ellos han atravesado ya la cápsula de Glisson y se hallan migrando por el parénquima hepático. Las fasciolas juveniles se asientan en los conductos biliares del ganado ovino y bovino a partir de los 40 días posingestión, aproximadamente. En ellos y en la vesícula biliar, los parásitos alcanzan su madurez sexual, que es el período prepatente mínimo de 56 días en el ganado ovino y de 61 en el vacuno (Soulsby, 1987; Mehlhorn *et al.*, 1993).

1.3.2. Bases epidemiológicas para el control de *Fasciola hepatica*

El factor primario y esencial que determina la incidencia de *F. hepatica* es la presencia de los moluscos. En México, se han señalado como huéspedes intermediarios las siguientes especies de la familia Lymnaeidae: *Fossaria (Bakerilymnaea) cubensis* (Pfeiffer, 1839); *Pseudosuccinea columella* (Say, 1817); *Fossaria bulimoides* (Lea, 1841); *Fossaria viatrix* (Orbigni, 1835) y *Lymnaea humilis* (Say, 1822), (Gómez-Agudelo *et al.*, 1978; Malek, 1980; Cruz-Reyes, 1986; Cruz-Reyes y Malek, 1987; Brito *et al.*, 1992; Trejo *et al.*, 1992 y Rangel, 1995). Es necesaria suficiente humedad y temperatura favorable para que se produzca un óptimo desarrollo del parásito, (Buriro y Chaudhry 1982). Sin embargo, la prevalencia de la fasciolosis, su efecto sobre el huésped y la continua propagación del parásito, depende de una amplia variación de factores secundarios: biológicos, topográficos, de manejo zootécnico y hábitos alimentarios de humanos. Estos factores determinan cuando los parásitos producen fasciolosis clínica o

subclínica con brotes epidémicos y mortalidad. La influencia de dichos factores en la epidemiología de la enfermedad ha sido analizada por diversos autores tales como: Ollerenshaw (1959,1970) en Inglaterra; Boray (1969), Boray *et al.* (1969), Meek y Morris (1979) y McCausland *et al.* (1980) en Australia; Quiroz (1984, 1986, 2000) en México; Harris y Charleston (1980) en Nueva Zelanda; Manga-González *et al.* (1990, 1991b), González-Lanza *et al.* (1989) y Luzón-Peña *et al.* (1994) en España; Bundy *et al.* (1983) en Jamaica; Ueno *et al.* (1975) en Bolivia; Ueno *et al.* (1973) en República Dominicana; Ross (1970) en Irlanda; Alcaino *et al.* (1993) en Chile; Chiriboga *et al.* (1980) en Puerto Rico y Buriro y Chaudhry (1982) en Pakistán, entre otros.

El eficiente control de estas enfermedades, en términos generales, depende de la aplicación correcta de varias medidas preventivas y curativas integradas a un sistema de manejo zootécnico. La aplicación estratégica de estas medidas requiere información epidemiológica sobre la prevalencia de la infección en las diversas zonas en estudio en las diversas zonas ganaderas y en las diferentes estaciones del año. Esta información puede ser obtenida de estudios previos sobre la prevalencia de infección de los moluscos, así como de los estadios de vida libre del parásito. Sin embargo, en la epidemiología de esta trematodosis se involucran muchos y variados factores. Por otra parte, se ha ensayado también el empleo de animales rastreadores, los cuales pueden proporcionar una información directa sobre los períodos de transmisión, así, Boray (1969) en Australia; Alcaino *et al.* (1993) en Chile; Malone *et al.* (1984), (1987) y Zukowski *et al.* (1985) en Louisiana E.U.A., han informado de resultados sobre tales investigaciones en fasciolosis. Boray *et al.* (1985) señalan que dichas medidas son: 1/ Reducción del número de parásitos en el huésped mediante el regular tratamiento trematocida, 2/ Disminución de los huéspedes intermediarios por medios físicos, químicos o biológicos y 3. Reducción de las posibilidades de infección por medio de prácticas de manejo zootécnico. Existen notificaciones sobre la predicción de las épocas de transmisión y los brotes de enfermedad realizadas por Goodall *et al.* (1989), McIlroy *et al.* (1990) y Goodall *et al.* (1991). Over (1982), señaló las bases ecológicas para el control de fasciolosis. Asimismo, Ollerenshaw (1959) estudió la ecología de *F. hepatica* y la epidemiología en Inglaterra, como base para el control de la infección. Aunque son

escasos los trabajos realizados sobre control de fasciolosis en condiciones tropicales, no obstante, se han efectuado estudios en ganado bovino y ovino en Brasil, por Echevarría *et al.* (1992); Puerto Rico, por Chiriboga *et al.* (1980); México, por Nuñez y Quiroz (1994), Ballesteros *et al.* (1995), Cerrud y Quiroz (1995) y Cruz *et al.* (1999).

Hay diversos factores, favorables y desfavorables, que influyen en la terminación de los sucesivos ciclos biológicos del parásito, que en forma directa o indirecta determinan la efectividad de las medidas de control.

Se sabe que la actividad de varios de los estadios de vida en el ciclo biológico de *F. hepatica* varía con las medidas de control y el tipo de clima. La actividad esperada de *F. hepatica* y sus huéspedes intermediarios, para cada tipo de clima, ha sido estructurada de acuerdo con el conocimiento ecológico del parásito y sobre todo, con las observaciones llevadas a cabo en el campo y en el laboratorio (Boray, 1985).

Generalmente se recomienda aplicar un tratamiento entre 6 y 8 semanas después de la probable ingestión masiva de metacercarias, para evitar el daño fuerte al hígado y matar a los trematodos antes de que alcancen su madurez sexual, lo que evitará la puesta de huevos y la consiguiente contaminación del suelo. El tratamiento de invierno, generalmente, se recomienda 12 semanas después de la última probable ingestión de metacercarias, antes de que los síntomas crónicos se manifiesten y la masiva producción de huevos comience. Dichas pautas de tratamiento recomendada por Boray *et al.* (1985) para el control de la fasciolosis en un clima templado, pueden ser aplicadas en regiones con clima similar. Sin embargo estas pautas no son del todo aplicables para el control de la parasitosis en un clima cálido húmedo, como el que tiene la región en la que se realizó el estudio.

De acuerdo con los resultados obtenidos por Rangel (1995) en su estudio sobre la fasciolosis, realizado en el estado de Tabasco, México, con clima cálido húmedo, la emisión de huevos del parásito es constante durante todo el año, ya que halló en el ganado bovino fasciolas adultas sexualmente maduras (estadio III) en todos los meses.

Dicho autor comenta que la viabilidad de los miracidios disminuye en la estación de sequía, debido a las altas temperaturas, por lo que, a pesar de la existencia de huevos durante todo el año, la infección de *Fossaria viatrix*, molusco huésped intermediario, sólo tiene lugar en la estación de lluvia (verano) y en la de nortes (meses de lluvia de invierno), siendo esta última en la que la infección alcanzó los valores más altos. Por lo tanto, la estación de sequía puede representar una barrera epidemiológica en el ciclo de *Fasciola hepatica* en Tabasco. Entre marzo de 1989 y febrero de 1992 Rangel (1995) observó tres períodos importantes en la infección de *F. viatrix* por *F. hepatica*, que se presentaron inmediatamente después del pico máximo de precipitación mensual con temperatura media por debajo de 26° C. En el primero, que comprendió octubre y diciembre de 1989 y enero-abril de 1990, encontró los valores más altos de la prevalencia de infección en enero (11.36 %) y en abril (7.69 %). En el segundo, que se correspondió con octubre y noviembre de 1990 y enero-marzo de 1991, la citada prevalencia más alta se detectó en enero (3.68 %). En el tercer período, comprendido entre diciembre de 1991 y febrero de 1992, el valor más elevado de la mencionada prevalencia correspondió también a enero (4.27 %). El autor observó los valores mínimos de prevalencia de infección entre mayo y septiembre, mientras que los valores máximos fueron de enero a abril.

Bajo las condiciones particulares de Nautla, estado de Veracruz, situada en la costa del Golfo de México, no se dispone de información epidemiológica sobre los períodos de transmisión de *F. hepatica*, por lo que no se sabe con precisión si son iguales a los señalados por Rangel (1995) en Tabasco, o varían considerablemente.

La prevalencia de la fasciolosis en el ganado vacuno en el estado de Veracruz ha sido señalada por varios autores, mediante la detección de hígados parasitados en animales sacrificados en diferentes rastros. De esta forma, Mazzotti *et al.* (1956) encontraron el 19.6 % de infección en el matadero del Puerto de Veracruz; Leyva (1975) halló el 12 % en el municipio de Boca del Río; Bonilla (1974) registró el 20.4 % en el rastro de Tuxpan; Valenzuela (1973) señaló el 6 % en el de Papantla; Osorio (1986) observó el 36 % y Cruz-Reyes (1992) 16.7 %, ambos en el matadero de Martínez de la

Torre; Sánchez (1974) notificó el 1.6 % de decomisos por fasciolosis en el rastro municipal de Jalapa. Cruz-Reyes (1992) el 18.9 % en el de Tlapacoyan; García (1975) señaló 1.28 %, en ganado de Veracruz y sacrificado en el rastro de la Paz, estado de México.

Mediante la técnica de intradermorreacción también en ganado vacuno, Gómez (1970) encontró en el municipio de Acayucan una prevalencia de 91 % y mediante el examen de heces de 92 %. Por otra parte, mediante exámenes coprológicos en ganado bovino en el municipio de Tierra Blanca, Martínez (1972) registró prevalencias del 31 al 99 %; mientras que Olvera (1973) en el mismo municipio, encontró 44 %; no obstante, en el municipio de Martínez de la Torre, Duchateau (1974) notificó un promedio de frecuencias en varios ranchos de 38 %. En el municipio de Chalchijapan, Aragón (1975) encontró 10 % y Álvarez (1978) en Nautla el 53.4 % ambos de prevalencia.

Algunos estudios se realizaron en rastros y empacadoras, en los cuales se indican las frecuencias de decomiso de hígados, mientras que en otros se han empleado técnicas coprológicas e inmunológicas en el ganado de diferentes ranchos del estado, con prevalencias de 1.6 % a 99 %. Dichos estudios, en conjunto, han hecho resaltar la importancia médica y económica del problema causado por esta trematodosis en varias regiones del estado.

El desarrollo y empleo de modelos para el control de enfermedades ha sido señalado por Davis (1978) quién, en un estudio de campo y de laboratorio, notifica aspectos de la dinámica de los huéspedes intermediarios, la temperatura y la humedad de un modelo epidemiológico en fasciolosis, mediante la simulación en computadora, que puede ser utilizado para evaluar diferentes estrategias de control, tales como aplicación de molusquicidas, régimen de tratamientos antihelmínticos y drenaje del suelo.

McIlroy *et al.* (1990) señalan un modelo de sistema computarizado para predecir la prevalencia de fasciolosis en el norte de Irlanda, el modelo reúne las variaciones de 18 años de la prevalencia de la fasciolosis. Este sistema computarizado es usado a finales de

agosto para predecir la prevalencia del siguiente año, éste permite la formulación de efectivas estrategias de control, basadas en la prevalencia esperada. Desgraciadamente en la región en estudio no se dispone de información similar para su aplicación.

Gurikina y Gorokov (1991) notifican de los factores que afectan el desarrollo del proceso epidemiológico en la fasciolosis por medio de un modelo matemático. Dichos autores incluyen, además de los aspectos de clima y otros factores epidemiológicos, la influencia de factores antropológicos, como son la aplicación de molusquicidas, manejo zootécnico de las pasturas, terapia antihelmíntica etc.

Malone *et al.*, (1992) notifican del empleo de un sistema llamado "LANSAT MSS" imagen y tipo de suelo en un sistema de información geográfica, para valorar los sitios específicos de riesgo de la fasciolosis en los ranchos ganaderos del río rojo en Luisiana E.U.A. Por otra parte Malone y Zukowski (1992) notifican de modelos geográficos y control de *F. hepatica* en ganado en Luisiana. Este mismo grupo de investigadores (Zukowski *et al.*, 1985) señalan el desarrollo de un sistema de uso de mapas de suelo, en un sistema de información geográfica para estimar el riesgo de la enfermedad en la costa de Luisiana. Por otra parte Kaplan (1994) notifica de un modelo de control basado en la dinámica de transmisión estacional de *F. hepatica* y recomendaciones para su control en Florida. Al analizar los datos generados en ese estudio y los de Rangel (1995) en Tabasco, parece haber diferencias en los periodos de transmisión entre ambas regiones.

Smith (1984) señala el uso de un modelo analítico para valorar el impacto de una serie de dosis discretas de antihelmíntico sobre la prevalencia e intensidad (Margolis *et al.*, 1982) de fasciolosis en ovinos en Inglaterra. Otros autores también lo han demostrado en periodos relativamente cortos. Boray *et al.* (1985) y Buscher *et al.* (1987) en Australia; Lecuyer *et al.* (1985) en Francia; Misra *et al.* (1987) en la India; Owen (1987) en Nueva Guinea; Rapic *et al.* (1988) en la antigua Yugoslavia; Stanfield *et al.* (1987) en Inglaterra; Wehrle y Richards (1988) en Uruguay; Echevarría *et al.* (1992) en Brasil; Quiroz *et al.* (1972, 1982, 1988, 1997); Ibarra y Vera (1991), Nuñez y Quiroz

(1994); Ballesteros *et al.* (1995); en México, encontraron que la época de aplicación varía de acuerdo a las condiciones epidemiológicas y de manejo zootécnico en cada región, por lo que es necesario generar información local o regional, para ayudar a resolver el problema de la fasciolosis.

Boyce y Courtney (1990) notifican que la transmisión estacional de *F. hepatica* en el norte de Florida, mediante ovinos rastreadores ocurre durante la primera mitad del año con un incremento de febrero a abril, indican también que la transmisión no ocurre durante los meses cálidos del verano, cesa de mayo a junio de cada año y se reinicia otra vez al final del otoño, principio de invierno (noviembre enero). Sin embargo, Rangel (1995) señala que en Teapa, estado de Tabasco, México, hay transmisión todo el año, aunque varía de intensidad, la de mayor transmisión se inicia en febrero-marzo y termina en septiembre-octubre, separadas por un mes que puede ser julio o agosto.

1.3.3. Quimioterapia

En el establecimiento y valoración de modelos quimioterapéuticos para el control de fasciolosis es muy importante seleccionar el mejor producto. El mas importante criterio para seleccionar un buen antihelmíntico, para el tratamiento de esta trematodosis, es que tenga una alta eficacia contra los estadios inmaduros y adultos del trematodo. Además, es necesario que no queden residuos que persistan en los tejidos del huésped y que el antihelmíntico sea de fácil aplicación, de precio económico y que no tenga antecedentes de resistencia en el parásito.

En años recientes, ha habido un enorme desarrollo de nuevos antihelmínticos para el control de nematodos gastrointestinales en ganado ovino y bovino, sin embargo ese avance no ha sido tan rápido en los fasciolicidas. Para lograr una eficiente quimioprofilaxis, es necesario contar con compuestos químicos altamente eficaces contra todos los estadios de *F. hepatica*, desde los inmaduros tempranos hasta los adultos. Algunas de las primeras drogas, incluyendo la oxiclozanida y el nitroxinil, son eficaces solamente contra el parásito de 6 semanas de edad. Asimismo, el rafoxanide es eficaz

contra fasciolas de 6 semanas (50-90 %) o más, a las dosis recomendadas por el fabricante. La diamfenetida es más activo contra estadios inmaduros, pero menos efectivo cuando el parásito es adulto. Algunos bencimidazoles empleados para el control de nematodos, tales como el fenbendazol, mebendazol, albendazol (Quiroz *et al.*, 1982) y netobimin (Quiroz *et al.*, 1987) tienen un efecto marginal contra los adultos de *F. hepatica*, conforme se aumenta la dosis. De estos compuestos, solamente el albendazol es recomendado contra el parásito, pero su eficacia está restringida a *F. hepatica* de 12 ó más semanas de edad. En la década de los 80 se introdujo un nuevo bencimidazol, altamente efectivo contra los estadios inmaduros tempranos y los maduros de *F. hepatica* en ganado ovino, bovino, caprino, equino, e inclusive en el hombre, recientemente. Dicho compuesto es el triclabendazol que es altamente eficiente contra fasciolas de 4 semanas a dosis de 5 mg/kg. Además, a las dosis de 10 y 15 mg/kg es eficaz contra estadios inmaduros tempranos de 24 h (98-100 %) después de la infección: a más del 90 %, contra estadios de fasciola de 1 a 2 semanas de edad y al 100 %, contra fasciolas de 2 a 4 semanas. Se ha demostrado que la dosis de 12 mg/kg de triclabendazol en el ganado bovino es altamente efectiva contra fasciolas de todas las edades y que, aún a la dosis de 3 mg/kg es efectivo contra estos trematodos de 8 semanas o más de edad (Boray, 1982a, 1982b). Ropic *et al.* (1988) realizaron estudios comparativos entre la eficacia del triclabendazol, nitroxinil y rafoxanide, en tanto que Buscher *et al.* (1987) lo hicieron sobre la extensión del período prepatente. Quiroz *et al.* (1988) señalaron la eficacia del triclabendazol contra estadios inmaduros de *F. hepatica*, y la ganancia de peso en ganado bovino. Por otra parte, Stanfield *et al.* (1987) realizaron ensayos con triclabendazol contra estadios del parásito de varias edades. Ibarra y Vera (1991) compararon el efecto extensivo de cinco fasciolicidas en ganado bovino en clima cálido, encontraron que al cabo de 16 semanas dicho efecto fue de 83.4 % con triclabendazol, de 33.3 % con nitroxinil, de 16.6 % con rafoxanide, en tanto que albendazol y closantel fue de 0 %.

Fawcet (1990) menciona un programa de dosificaciones estratégicas con triclabendazol, en ovejas durante cinco años en Inglaterra, la infección se redujo de 49 % a 1 %. En nuestro país Nuñez y Quiroz (1994) notifican en ganado de lidia, localizado al

norte del estado de Guanajuato, mediante tratamiento con nitroxinil cada 75 días, que la eliminación de huevos se redujo de 68 % a 5 % en 7 meses. Por otra parte Ballesteros *et al.* (1995) mencionan que en ganado bovino lechero, localizado en Tulancingo, estado de Hidalgo México, mediante tratamiento con triclabendazol cada 84 días durante 14 meses, la prevalencia se redujo de 100 % a 2.4 %.

1.3.4. Diagnóstico coprológico, inmunológico y enzimático

Diagnóstico coprológico. El diagnóstico coprológico de la fasciolosis es específico; sin embargo, su sensibilidad es baja. Benedek y Nemeseri (1953) introdujeron una técnica de sedimentación cuantitativa, que ha sido empleada y modificada por muchos autores. Quiala (1974) encontró sólo el 61.4% de muestras positivas a huevos de *F. hepatica* con un examen coprológico; no obstante, la presencia de parásitos a la necropsia fue de 100 %. Happich y Boray (1969) señalaron que el número de fasciolas adultas presentes y el efecto esperado en una infección crónica, pueden ser valorados por la cuenta de huevos. González *et al.* (1982) indicaron la importancia del número de exámenes, en el diagnóstico coprológico de la fasciolosis, un solo examen tiene aproximadamente 70 % de sensibilidad, mientras que una serie de tres es superior al 90 %.

Diagnóstico inmunológico. Son varias las técnicas inmunológicas que han sido aplicadas en el diagnóstico de la fasciolosis, entre otras, las de: difusión en gel Ouchterlony (Hillyer *et al.*, 1985), la intradermorreacción (Quiroz *et al.*, 1973); contraelectroforesis (Hillyer, 1980). El ELISA (inmunoensayo enzimático) la alta sensibilidad ha sido usada para el inmunodiagnóstico de la fasciolosis en el ganado (Grelck y Höechner, 1977; Burden y Hammet, 1978; Wescott *et al.*, 1984), que por el momento, es la más confiable (Hillyer *et al.*, 1985, Hillyer y Santiago, 1981; Espino *et al.*, 1990; Welch *et al.*, 1987). Bautista-Garfias *et al.* (1989) notifican sobre el empleo de DIG-ELISA en el diagnóstico de la fasciolosis en ganado ovino empleando antígenos de secreciones excreciones y sobre evaluación de antígenos de *F. hepatica* para el diagnóstico en ganado bovino (Morilla *et al.*, 1983). Los niveles de anticuerpos son detectados ya a los 15 días de la infección, situación que tiene ventaja al diagnóstico

coprológico. Hillyer y Santiago (1979) indicaron que los títulos de anticuerpos caen rápidamente cuando los animales son tratados con un fasciolicida 4 a 6 semanas después de la infección, y que la técnica ELISA puede ser empleada en el serodiagnóstico de la fasciolosis, por ser útil en la predicción de los sucesos quimioterapéuticos. Farrell *et al.* (1981) también recomiendan la aplicación de la técnica de ELISA en el diagnóstico de la fasciolosis en bovinos; los estudios incluyeron el empleo de 4 antígenos: antígeno de fasciolas frescas recién colectadas (FFA), antígeno de fasciolas muertas (DFA), antígeno de fasciolas liofilizadas (FLA) y antígeno parcialmente purificado (PPA), los antígenos FFA y FLA fueron utilizados en fasciolosis natural y experimental en bovinos. Dichos autores señalan que usando el antígeno FFA, se detectan anticuerpos en becerros ya a las 4 semanas después de la infección. El DFA es menos activo y el FLA no fue activo hasta las 9-10 semanas posinfección (p.i). El PPA no fue suficientemente específico. Emplearon incubación larga y corta del ELISA, ambas resultaron igualmente sensibles con densidades ópticas de 2.5 veces más que con sueros normales.

Recientemente se ha señalado el diagnóstico de fasciolosis en bovinos mediante la detección de coproantígenos (El Bahi *et al.*, 1992; Castro *et al.*, 1994). Una revisión sobre serodiagnóstico de la fasciolosis fue realizada por Hillyer (1993), y otra sobre antígenos de *F. hepatica* por Reddington *et al.* (1984).

Ibarra *et al.* (1998) realizaron la comparación de tres técnicas ELISA en estudio de seroepidemiología en ganado bovino; compararon la especificidad y sensibilidad del DIG-ELISA, DOT-ELISA y ELISA indirecto, para determinar la seroprevalencia de fasciolosis en ganado bovino bajo condiciones tropicales. El ELISA indirecto mostró una sensibilidad de 96.5 % y especificidad de 98.8 %, DIG-ELISA 97.5 % y 80 % y DOT-ELISA 93.1 % y 95.4 %, respectivamente. En el ELISA indirecto los niveles de IgG anti- *F. hepatica* fueron altos. En el presente estudio se consideró conveniente el empleo de esta técnica, dada la experiencia que se tenía y la buena sensibilidad.

Diagnóstico enzimático. Durante el curso de las infecciones hepáticas causadas por *F. hepatica*, se liberan gran número de enzimas que escapan de las células dañadas, cuya

medición ha sido usada con propósitos diagnósticos por Anderson *et al.* (1977) y Fariá *et al.* (1996), quienes consideran que estas pruebas son valiosas para la detección y grado de daño, tratamiento y control de infecciones por *F. hepatica*.

El diagnóstico de las afecciones hepáticas se ha visto favorecido por la medición de la actividad sérica de enzimas específicas, que escapan de las células dañadas. Desde hace tiempo varios autores han aplicado la interpretación de diversas enzimas en el diagnóstico de la fasciolosis (Rowlands y Clampitt, 1979; Sykes *et al.*, 1980; Furmaga *et al.*, 1980; Bulgin y Anderson, 1984; Wyckoff y Bradley, 1985; Khan *et al.*, 1989; Fariá *et al.*, 1996 entre otros). La medición de la alanino amino transferasa (ALT), también conocida como transaminasa pirúvica, ha sido usada extensamente en humanos, perros y gatos para este propósito. Desafortunadamente, el hígado de rumiantes adultos contiene bajas concentraciones de esta enzima. En estas especies los niveles séricos de aspartato amino transferasa (AST), conocida también como transaminasa glutámico oxalacética (GLOT) y la fosfatasa alcalina (ALP) son comúnmente empleadas para medir el daño hepático. Sin embargo, estas enzimas no son específicas para enfermedades hepáticas porque también se encuentran en otros tejidos (Cornelius *et al.*, 1959).

Algunas enfermedades hepáticas, incluyendo la causada por *Fasciola hepatica*, son comunes en rumiantes, y en ocasiones es necesario emplear técnicas que ayuden a un diagnóstico más específico. En los perros, gatos, ganado vacuno, ovino y cerdos la actividad sérica de la arginasa se incrementa rápidamente cuando hay necrosis hepática (Cornelius *et al.*, 1963).

La gamma-glutamyl transpeptidasa (GGT) se encuentra en tejido hepático, renal y pancreático de humanos. La determinación, en suero, de niveles elevados de GGT ha sido útil en el diagnóstico del tracto hepatobiliar en el hombre (Goldberg y Martín, 1975). Esto también se ha encontrado en tejido hepático, renal y pancreático en ganado vacuno (Rico *et al.*, 1977). Las lesiones renales hacen que la enzima salga en la orina más que en la sangre, y por el incremento de GGT en el suero de ganado vacuno se asume que se originan de hígado o páncreas, pero no de riñón (Rico *et al.*, 1977;

Blackshaw, 1978). Los valores en ganado bovino sano tienen un rango de 2 a 20 unidades internacionales por litro -1 (UI/L) (Blackshaw, 1978). En otro estudio Rowlands y Clampitt (1979) señalan como valores normales el rango de 10 a 17.

Las enzimas asociadas con el hígado pueden variar de concentración entre diferentes áreas del cuerpo, por ej. la GGT está más concentrada en el epitelio biliar que en los hepatocitos (Goldberg y Martin, 1975).

En la fasciolosis bovina, las fasciolas juveniles pueden encontrarse en el parénquima hepático 1 ó 2 días después de la ingestión de metacercarias, en donde permanecen aproximadamente por 6 semanas, y migran y crecen por los tejidos. Dichas fasciolas entran por los conductos biliares, maduran y ponen huevos, los que pueden encontrarse en las heces a las 8 semanas o varios meses después de iniciada la infección (Soulsby, 1987); esta determinación de huevos no ayuda a un diagnóstico temprano de la parasitosis.

Las lesiones producidas en el hígado por *F. hepatica* están en función de muchas variables del huésped y del parásito. Durante la migración de los estadios juveniles del trematodo hay un trauma directo con necrosis hemorrágica, infiltración eosinofílica y subsecuente cicatrización por tejido de granulación rico en linfocitos y eosinófilos. Algunas fasciolas jóvenes nunca llegan a los conductos biliares, debido a que se enquistan en el parénquima. En los conductos biliares, los parásitos causan una colangitis fibrosa crónica. La irritación, obstrucción y necrosis causada por la excreción del parásito y una secundaria infección, acompañada con una respuesta variable del huésped, provee un amplio rango de lesiones. Además, hay fibrosis biliar y prominente acumulación de eosinófilos (Jubb *et al.*, 1985).

Bulgin y Anderson (1984) notifican de la actividad de los niveles séricos de la GGT en ganado bovino con fasciolosis inducida. Dichos autores inocularon becerros de 6 meses de edad con 200 metacercarias de *F. hepatica* y midieron el efecto durante 72 días. La GGT fue medida con intervalos de 2 semanas. La infección final fue con 19 a 87

parásitos, mientras los niveles de GGT se incrementaron el día 56 después de la infección y permanecieron altos hasta el día 83 después de la misma. El incremento inicial coincidió con la penetración en los conductos biliares de las fasciolas en migración.

Bulgin y Anderson (1984) señalan que, aunque la actividad de la AST en los becerros inoculados con 200 metacercarias fue más alto que en los controles, no se incrementó arriba de los valores de referencia de 78 a 132 UI/L. Estos resultados coinciden con los de Simensen *et al.* (1973), concluyendo que los mencionados valores de AST probablemente no ayudan al diagnóstico de grado bajo de fasciolosis.

Por otra parte, Wyckoff y Bradley (1985) notifican haber inoculado becerros con 1000, 100 y 10 metacercarias de *F. hepatica* en tres ocasiones, en total 3000, 300 y 30, luego fueron tratados con albendazol en dosis de 15 mg/kg a las 13 semanas posinfección. Se determinaron las enzimas AST y GGT observándose un incremento de AST en la cuarta semana posterior a la infección y de GGT en la novena. El incremento de AST indica daño del parénquima, mientras que el incremento de GGT indica daño hepatobiliar, la diferenciación puede hacerse entre las fases migratorias y las fases dentro de los conductos. Al compararles con los exámenes coprológicos, las enzimas plasmáticas dieron un indicador temprano y semicuantitativo de la infección con *F. hepatica* en los becerros infectados experimentalmente. Aunque el incremento de estas enzimas no permite un diagnóstico definitivo de fasciolosis, es información útil sobre la edad y la cantidad de parásitos presentes, y el proceso de la enfermedad puede deducirse por estos métodos. Los niveles de GGT y AST no fueron indicativos del suceso quimioterapéutico, cuando los becerros con fasciolas adultas (14 semanas) fueron tratados.

Se ha señalado que la medición cuantitativa de los niveles séricos como el glutamato deshidrogenasa (GLDH) y la gamma-glutamil transferasa (GT) son de valor diagnóstico. El GLDH es un excelente indicador del daño celular agudo del hígado y la GGT indica fibrosis hepática y principio del estado crónico de la enfermedad en ganado ovino y bovino. Las pruebas con enzimas séricas son también útiles para determinar la

eficacia de los tratamientos (Boray, 1982b). Se ha demostrado que los niveles plasmáticos de GLDH en becerros se incrementaron sustancialmente en los animales testigo sin tratamiento. El valor del primer tratamiento se demostró por la falta del daño hepático agudo indicado por la baja de los niveles de GLDH en los animales tratados dos semanas después de la infección. La reducción dramática de los niveles de la enzima después del tratamiento, ocho semanas después de la infección, indica el éxito quimioterapéutico. Estos datos demuestran claramente la ventaja de usar antihelmínticos que matan fasciolas del hígado antes de que ocurran serios daños patológicos. Se ha demostrado en el laboratorio que la enzima GLDH es razonablemente estable al permanecer en las muestras de sangre por dos días a temperatura de laboratorio, a diferencia de otras enzimas, que se deterioran en el plasma si no se refrigeran. Esta prueba enzimática puede ser empleada como diagnóstico de rutina para detectar la fase aguda y subaguda de fasciolosis en trabajos de campo (Boray, 1982b).

Simensen *et al.* (1973), señalan la importancia de medir los niveles de GGT en ganado bovino infectado por *F. hepatica*; los autores encontraron que la actividad de la enzima empieza a subir un mes después de la infección, hasta lograr el máximo nivel a los cinco meses. En un estudio similar realizado por Anderson *et al.* (1977) con una serie de enzimas que fueron determinadas en el plasma del ganado infectado con *F. hepatica*, se informa que la GGT y la GLDH fueron las mejores enzimas indicadoras de fasciolosis aguda.

En un estudio realizado en ganado bovino infectado experimentalmente con 650 a 1000 metacercarias de *F. hepatica* se encontró daño hepático debido a la migración de los parásitos y pudo ser detectado en los primeros estadios, por la medición de la actividad plasmática de enzimas apropiadas del metabolismo intermediario. Sin embargo, en el ganado que no fue tratado con diamfenetida hubo una marcada elevación de los niveles plasmáticos de las enzimas a las tres semanas después de la infección, con una actividad máxima 7-8 semanas después. La administración de diamfenetida a los becerros, 3, 5 y 7 semanas después de la infección, resultó en cambios de la enzima en

los niveles plasmáticos, lo que sugiere el cese de la actividad en el hígado (Rowlands y Clampitt, 1979).

Rowlands y Clampitt (1979) infectaron becerros con 650 metacercarias de *F. hepatica*, e indicaron que los niveles de GLDH se incrementaron en todos los animales 1 semana después de la inoculación. En los animales que no recibieron tratamiento, este incremento progresó y el pico fue a las 9 semanas de la inoculación (aproximadamente 8 veces a la registrada al inicio del trabajo), seguido por una caída de la actividad se observó una normalización de la actividad plasmática de la enzima después de la administración de diamfenetida, pero la actividad llegó al pico al mismo tiempo que el testigo. Los animales tratados con diamfenetida a las 3,5 y 7 semanas después de la infección mostraron un marcado decremento en la GLDH, sin embargo, posteriormente hubo un incremento, que llegó el máximo 3 semanas después que el observado en los testigos sin tratamiento. En otro grupo inoculado con 1000 metacercarias el segundo incremento apareció 5 semanas después de haberse presentado en el grupo sin tratamiento. Los niveles de GLDH registrados en el segundo pico fueron considerablemente más bajos que los observados en los animales sin tratamiento. Además en los niveles 9 semanas después; esto fue más obvio en el grupo tratado, 7 semanas después de la inoculación. La administración de diamfenetida 9 semanas después de la infección, tuvo poco efecto sobre el incremento de los niveles de GLDH.

En el mismo estudio, dichos autores señalan que la actividad de GGT permaneció con valores constantes y bajos en todos los animales durante las primeras 7 semanas después de la inoculación, pero en la octava semana hubo un marcado incremento, apareciendo en la gráfica un plato en la semana 12 en los animales sin tratamiento. Este incremento fue de 33 veces, en comparación con la actividad registrada en las primeras 7 semanas del experimento. El tratamiento con diamfenetida, una semana después de la infección, se manifestó con dos semanas de retraso en el incremento de la GGT, pero el alza en el incremento de la enzima fue de similar magnitud y ocurrió en el mismo tiempo al observado en los animales con y sin tratamiento. Además, en los niveles plasmáticos

de AST se observaron cambios menos marcados en los grupos tratados que en los no tratados (Rowlands y Clampitt, 1979).

La determinación de los valores medios de las cuentas de huevos en heces se realizaron 12 semanas después de la inoculación, por el número y tamaño de las fasciolas recuperadas en la necropsia. Es interesante notar que las fasciolas recuperadas en los animales de los grupos tratados 3 y 5 semanas después de la infección, respectivamente, solamente 38.5 % y 51.5 % fueron mayores de 10 mm, comparado con la media de 75.4 % de los otros grupos (Rowlands y Clampitt, 1979).

Estos mismos autores señalan que la actividad de GGT en becerros inoculados con 1000 metacercarias de *F. hepatica* permanecen con valores bajos durante las primeras siete semanas después de la infección. Los animales sin tratamiento mostraron un incremento que llegó al pico 12 semanas posteriores a la inoculación (aproximadamente 13 veces a la observada en los testigos sin infección), después de lo cual los niveles disminuyeron. Sin embargo, la actividad plasmática de la GGT en los animales tratados con diamfenetida mostró un menor incremento progresivo con bajos niveles en la semana 15 después de la infección, la que fue seguida de una gradual declinación durante las 2 últimas semanas del experimento (Rowlands y Clampitt, 1979).

También se observaron cambios similares menos marcados en el plasma con AST, asimismo con la 5 nucleotidasa y lactato deshidrogenasa (LDH) (Rowlands y Clampitt, 1979).

Furmaga *et al.* (1980) mencionan que infectaron a 8 becerros de ocho semanas de edad con 600 metacercarias de *F. hepatica*, dejaron cuatro becerros testigos y los sacrificaron 128 días después. La actividad del AST y de la fructosadifosfato aldolasa se incrementaron, dichos incrementos fueron de manera regular de la semana 4 a la semana 8-9, en que llegó al pico.

Wensvort y Over (1982) señalan que durante una sola infección experimental con *F. hepatica* en becerros, se incrementó la concentración de GGT presente en el suero durante el estadio biliar del parásito. La enzima se origina del hígado, después de que el trematodo ha causado colestasis intermitente y selectiva en los conductos biliares. La enzima normalmente esta presente en los conductos biliares, y bajo estas circunstancias puede entrar al tejido intersticial, a través de las uniones rotas del sistema de drenaje de la bilis, o estar, además, asociado con la proliferación de epitelio de los conductos biliares. Esta multiplicación de las células de los conductos biliares forma colangiomas, los cuales llegan esencialmente cuando se forma tejido nuevo de tipo conectivo perilobular, que previene la restauración de las conexiones anatómicas de los capilares biliares con el árbol biliar. El tejido conectivo crece y es inducido por el fluido biliar; inicialmente hay una fibrosis regional perilobular que es eventualmente distribuida de manera difusa a través del hígado por migración de los parásitos. Esta migración continúa y se extiende a fibrosis debido a la constante, recurrente, intermitente y selectiva colestasis. La oclusión de las ramas de los conductos biliares es atribuida a la persistente colangitis. El crecimiento del tejido conectivo tiene un considerable efecto sobre la ganancia de peso del tejido.

En otro estudio, Sykes *et al.* (1980) mencionan el efecto de infecciones crónicas de bajo grado en ganado ovino infectado con *F. hepatica* sobre la concentración de GGT y AST y el GLDH en el plasma, las que fueron investigadas en ganado ovino dosificados diariamente con tres (AL3), ocho (AL8) y catorce (AL14) metacercarias en 22 semanas, o una sola dosis de 200 metacercarias. Primero hubo un incremento en la actividad plasmática de la GLDH en las semanas 9,12, y 23 y la GGT después de la semana 12, 24 y 32 para los grupos AL14, AL8 y AL3, respectivamente. Los cambios en los niveles de AST no fueron claramente relacionados con la dosis y el nivel enzimático. En ovejas con una sola infección, las enzimas GLDH y GGT fueron capaces de detectar daño hepático con 10 o más fasciolas. La actividad plasmática de GLDH y GGT fueron los más sensibles indicadores de daño hepático en fasciolosis subclínica y crónica, comparada con la actividad de AST.

Khan *et al.* (1989) valoraron el efecto de la fasciolosis natural de los niveles en suero de la bilirrubina y el AST en 100 ovejas infectadas: Grupo A 64 animales con 300 a 600 HPG; Grupo B, 36 ovinos con más de 600 HPG y Grupo C con 50 animales no infectados. Se encontraron diferencias significativas entre los grupos A,B y C, que fueron directamente proporcionales a la cantidad de huevos.

La actividad plasmática de GLDH y GGT fueron los más sensibles indicadores del daño de las células hepáticas en la fasciolosis subclínica crónica, así como la actividad de la AST y GGT pueden ser más útiles como una ayuda en el diagnóstico por su gran estabilidad (Sykes *et al.*, 1980).

Tomando en cuenta los antecedentes sobre las diferentes enzimas indicadoras de daño hepático, para aplicarlas en el diagnóstico de la fasciolosis y que fueran factibles en nuestro medio, se optó por emplear a la GGT y la AST.

1.4. Justificación de las investigaciones

1.4.1. Dicroceliosis

A pesar de que la dicroceliosis es una parasitosis que está muy extendida en el ganado ovino de la Península Ibérica, no se han realizado estudios sobre tratamientos antihelmínticos contra *D. dendriticum* administrados de forma estratégica, los cuales permitirán establecer programas efectivos para el control de la dicroceliosis. Esto se ha debido, posiblemente, a la falta de información sobre el proceso de transmisión parasitaria del trematodo en España, la cual es imprescindible para poder elegir las épocas idóneas en las que la administración del antihelmíntico sea eficaz. Sin embargo, en los últimos años se ha podido establecer el modelo epidemiológico de la dicroceliosis en la provincia de León, expuesto en el apartado 1.2.2 de este protocolo.

Teniendo en cuenta lo anteriormente dicho, se consideró conveniente iniciar una serie de investigaciones con el fin de determinar los meses más adecuados para que la aplicación de un número mínimo de tratamientos antihelmínticos al ganado ovino

reduzca al máximo el número de animales que eliminan huevos de *D. dendriticum* y el de huevos por ellos eliminados. La información así obtenida permitirá establecer programas más eficaces para el control de la dicroceliosis, a corto y largo plazo, lo que traerá como consecuencia el mejor estado sanitario de los animales y el aumento de la producción para el ganado.

Con base en las consideraciones epidemiológicas expuestas, se puede afirmar que para que la aplicación de un antihelmíntico, de eficacia probada, pueda ser efectiva en el control de la dicroceliosis, deberá cortar o disminuir al máximo la eliminación de huevos de los adultos desde el otoño hasta el final del invierno, período en el que la tasa de excreción es mayor. De esta forma, se evitará que los pastos estén contaminados con huevos en la primavera, época en la que los moluscos, huéspedes intermediarios, son muy abundantes y empiezan a estar activos.

El aplicar un antihelmíntico cuando cesa la actividad de las hormigas, aproximadamente en noviembre, se considera como tratamiento estratégico. Si el fármaco empleado tiene una alta eficacia contra estadios adultos e inmaduros del parásito, entonces la eliminación de huevos debe cesar durante todo el período de inactividad de las hormigas, es decir, aproximadamente hasta marzo, por no haber reinfección. Sin embargo, la eliminación podría iniciarse en los meses siguientes, después de que los huéspedes definitivos coman las hormigas parasitadas que hayan sobrevivido durante el invierno.

Si el dicrocelicida empleado solo presenta eficacia frente a estadios adultos, entonces, para interrumpir o disminuir la eliminación de huevos será necesario administrar un tratamiento estratégico en noviembre, y un segundo tratamiento en enero o febrero, con el fin de matar los vermes que estaban en estadio inmaduro cuando se aplicó el tratamiento en noviembre, pero que en esas fechas ya son adultos. La aplicación de un solo tratamiento en abril se hará para poder cuantificar la contaminación que se produce en el período más álgido de eliminación de huevos (final del otoño e invierno) y valorar mejor el efecto de los tratamientos de noviembre, enero y febrero.

1.4.2. Fasciolosis

En México no se dispone de información experimental sobre modelos quimioterapéuticos para el control de la fasciolosis, a través de la aplicación de tratamientos estratégicos o sistemáticos en ganado bovino, que pasta en zonas con clima cálido húmedo. Para el control de esta trematodosis, es necesario disponer de información local sobre el comportamiento de dichos modelos quimioterapéuticos durante periodos de por lo menos un año, para poder aplicarlos en el control de la fasciolosis. En la costa del Golfo de México existe una extensa zona endémica de esta trematodosis, que se inicia en el norte del estado de Veracruz y llega hasta los estados de Tabasco y Chiapas. Las condiciones climatológicas del municipio de Nautla, estado de Veracruz en particular la precipitación pluvial y la temperatura, se pueden considerar representativas de una amplia zona de dicho estado de Veracruz. Por esta razón, los resultados obtenidos en el presente estudio, en seis modelos de control quimioterapéutico contra *F. hepatica*, ensayados en una zona endémica de fasciolosis del Golfo de México, pueden tener aplicación en otras regiones que tengan condiciones similares.

La generación de modelos quimioterapéuticos experimentales desarrollados en nuestro país, para el control de la fasciolosis, permitirá a los veterinarios seguir dichos modelos para poder aplicar fasciolicidas eficaces en las épocas idóneas, con el fin de lograr reducir al máximo la población de parásitos adultos e inmaduros, y disminuir la eliminación de huevos utilizando el menor número de tratamientos. Como consecuencia, se producirá un ahorro para el ganadero.

El empleo de la técnica de Benedek, para realizar el diagnóstico cuantitativo y cualitativo de huevos de *F. hepatica*, sin ser la técnica ideal, permite, tener una interpretación numérica aceptable del fenómeno biológico a través de la repetición individual. No obstante, dicha técnica permite evaluar la eficacia del producto fasciolicida empleado, a través de la excreción de huevos, así como la maduración de

estadios inmaduros, que inician su postura después del período prepatente, además de las reinfecciones que pudieran ocurrir.

Es muy importante poder interpretar, cuando falta información epidemiológica local, cuáles son los meses o las temporadas donde las condiciones ambientales son favorables para el desarrollo de los estadios exógenos del parásito, y así poder predecir las épocas del año en que hay mayor grado de transmisión de la fasciolosis. Tomando como base los datos climatológicos de la zona, señalados por García (1988), el ciclo epidemiológico del parásito, aunados a la prevalencia de decomisos de hígados por *fasciola* y la variación de eliminación de huevos, se pueden plantear las hipótesis para la selección de las épocas idóneas para la aplicación de los tratamientos estratégicos, como se plantean en el presente estudio. Con dichos modelos se espera obtener una disminución de la prevalencia y la intensidad de eliminación de huevos, en relación a la media de huevos en 5 g de heces (HP5G) del muestreo 1 (M1). Con los datos obtenidos se pretende hacer una valoración de la tendencia de la parasitosis, para aumentar, disminuir o ser estable, y para contar con modelos de control quimioterapéutico. La valoración de tratamientos fasciolocidas aplicados de manera estratégica, permitirá conocer las ventajas o desventajas de dicha metodología.

El empleo de la técnica ELISA permitirá conocer la cinética de anticuerpos cuando los animales parasitados son tratados en diferentes épocas del año, así como conocer la correlación entre la prevalencia, intensidad y porcentaje de variación de huevos de *F. hepatica* con el título de anticuerpos.

De acuerdo con los resultados de Rangel (1995) en Tabasco, el ganado bovino alberga trematodos maduros e inmaduros de *F. hepatica* durante todo el año, aunque con distinta intensidad de infección. Considerando que una situación similar pudiera ocurrir en la zona donde se realizará el presente estudio (Nautla, Veracruz), se emplearán las técnicas enzimáticas de espectrofotometría indicadoras de función hepática (GGT y AST), para determinar por una parte, las alteraciones que ocurren en el ganado expuesto a diferentes grados de infección en el año y, por otra correlacionar los niveles

de GGT y AST, con las épocas en que hay mayor daño hepático por la migración larvaria del trematodo. Esta información permitirá comprender y conocer con mayor precisión las épocas del año adecuadas para aplicar tratamientos estratégicos, para el control de la fasciolosis.

Por lo señalado anteriormente, e interpretando las curvas de precipitación pluvial y temperatura para el municipio de Nautla (García, 1988), el diseño de aplicación de tratamientos en enero se basa en que en dicho mes el 100 % de los animales son positivos, de acuerdo con observaciones previas. Como consecuencia de la humedad constante y la posible ingestión de metacercarias durante todos los meses, aunque con diferente grado de intensidad durante el año, se ensayará la aplicación de tratamientos en enero ó tático por estar parasitados todos los animales, y mayo, junio, julio, agosto y octubre, estratégicos por considerar meses de mayor transmisión. Los diferentes grupos recibirán dos, tres y cuatro tratamientos fasciolicidas, esperando obtener información que permita discriminar cuáles son los modelos idóneos para reducir la prevalencia y la cantidad de eliminación de huevos de *Fasciola hepatica*, en dicha zona

1.5. Hipótesis de trabajo

1.5.1. Dicroceliosis

Teniendo en cuenta los estudios epidemiológicos realizados previamente en la provincia de León (España), donde se efectuó el presente trabajo, el tratamiento con un dicrocelicida eficaz contra formas adultas, aplicado a ganado ovino en noviembre es más efectivo que el de abril para reducir la contaminación de los pastos, puesto que evita la eliminación de los huevos de *D. dendriticum* durante el periodo final del otoño-invierno, cuando los valores de la prevalencia de infección y el número de huevos por gramo eliminados en las heces son más elevados. Además, hay que tener en cuenta que no se produce reinfección entre noviembre y marzo, por lo menos, pues las hormigas que actúan como segundos huéspedes intermediarios están en hibernación.

La aplicación del dicrocelicida en enero y febrero, meses en los que tiene lugar la mayor eliminación de huevos, es más efectiva que en abril para reducir la contaminación de los pastos y, como consecuencia, evitar la infección de los moluscos huéspedes intermediarios en la primavera, época en que están activos y son muy abundantes.

La eficacia de los tratamientos de enero y febrero en la reducción de la eliminación de huevos evaluada a los 45 días de la aplicación del tratamiento, es más alta que en los tratamientos de noviembre y abril, puesto que en enero y febrero todos los vermes son adultos, por no producirse reinfección a partir de noviembre.

1.5.2. Fasciolosis

En la región de Nautla, Veracruz, el modelo idóneo de control quimioterapéutico es el que combina el tratamiento de enero (táctico) y los estratégicos aplicados en mayo, julio y octubre.

La eficacia del tratamiento de enero, es mayor al de los aplicados de mayo a octubre por la baja transmisión de febrero a mayo.

La cinética de anticuerpos anti- *Fasciola hepatica* en el ganado vacuno en estudio, sometido a tratamientos fasciolicidas aplicados de manera, estratégica y táctica, con reinfecciones durante todo el año, no varían significativamente.

El incremento de los niveles enzimáticos de GGT y AST en el ganado bovino en estudio, se relaciona con los períodos de mayor infección y la intensidad de *F. hepatica* durante el año.

1.6. Objetivos generales

1.6.1. Dicroceliosis

Valorar el efecto sobre la reducción de eliminación de huevos de *D. dendriticum*, durante 13 meses, de cinco modelos de control quimioterapéutico para la dicroceliosis, constituidos por uno o dos tratamientos con ABZ, aplicados de manera estratégica, de acuerdo a la epidemiología, a ganado ovino en pastoreo en una zona endémica del parásito en León, España. Se pretende conocer las épocas idóneas en las que la aplicación de un número mínimo de tratamientos reduzca al máximo la eliminación de huevos.

1.6.1.1. Objetivos específicos

1. Determinar la fluctuación en la eliminación fecal de huevos de *D. dendriticum* durante 13 meses, en ganado ovino tratado con ABZ en noviembre y enero (modelo 1).
2. Cuantificar la eliminación de huevos de *D. dendriticum* durante 13 meses, en ganado ovino tratado con ABZ en noviembre y febrero (modelo 2).
3. Valorar la oscilación en la eliminación de huevos de *D. dendriticum* durante 13 meses, en ganado ovino tratado con ABZ en noviembre y abril (modelo 3).
4. Seguir la eliminación de huevos de *D. dendriticum* durante 13 meses, en materia fecal de ganado ovino tratado con albendazol en enero (modelo 4).
5. Evaluar la fluctuación en la eliminación fecal de huevos de *D. dendriticum* durante 13 meses, en ganado ovino tratado con albendazol en abril (modelo 5, testigo).

1.7. Objetivos generales

1.7.1. Fasciolosis

Determinar el efecto sobre la reducción de eliminación de HPG de *F. hepatica*, en 6 modelos de control quimioterapéutico de la fasciolosis constituidos por uno, dos, tres y cuatro tratamientos con triclabendazol, aplicados de manera estratégica, así mismo los niveles de anticuerpos anti-*F. hepatica* y los valores de GGT y AST en una zona endémica del municipio de Nautla, estado de Veracruz, México.

1.7.1.1. Objetivos específicos.

1. Determinar el cambio de eliminación de huevos de *F. hepatica* en ganado bovino tratado con triclabendazol en enero, los niveles de anticuerpos anti-*F. hepatica*, y los valores de GGT y AST durante 13 meses (modelo 1, testigo).
2. Cuantificar la oscilación de eliminación de huevos de *F. hepatica* en ganado bovino tratado con triclabendazol en enero y mayo, los niveles de anticuerpos anti-*F. hepatica*, y los valores de GGT y AST durante 13 meses (modelo 2).
3. Valorar la eliminación de huevos de *F. hepatica* en ganado bovino tratado con triclabendazol en enero, mayo y julio, los niveles de anticuerpos anti-*F. hepatica*, y los valores de GGT y AST durante 13 meses (modelo 3).
4. Precisar el cambio de eliminación de huevos de *F. hepatica* en ganado bovino tratado con triclabendazol en enero, mayo, agosto y octubre, los niveles de anticuerpos anti-*F. hepatica*, y los valores de GGT y AST durante 13 meses (modelo 4).
5. Evaluar la variación de eliminación de huevos de *F. hepatica* en ganado bovino tratado con triclabendazol en enero y junio, los niveles de anticuerpos anti-*F. hepatica*, y los valores de GGT y AST durante 13 meses (modelo 5).
6. Determinar la oscilación de eliminación de huevos de *F. hepatica* en ganado bovino tratado con triclabendazol en enero, junio y octubre, los niveles de anticuerpos anti-*F. hepatica*, y los valores de GGT y AST durante 13 meses (modelo 6).

Capítulo 2.- MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Experimentos sobre control de la dicroceliosis ovina en España

2.1.1. Localización

El trabajo de campo se realizó en un rebaño de ganado ovino de Grulleros, localidad perteneciente a la provincia de León (noroeste de España), Figura 1, ubicada en una meseta a 10 km de la capital de León, en dirección al sur. Dicha localidad está situada a 787 m sobre el nivel del mar, con clima templado continental, característico de una zona de transición entre el Mediterráneo y el Atlántico. La temperatura media* anual es de 11.2° C, el mes más frío es enero (3.0° C) y el más caluroso julio (21.2° C) ver Figura 2. La precipitación pluvial* anual es de 459 mm, el mes con más lluvia es mayo (101 mm) y el de menos, marzo (5 mm), ver Figura 2. El estudio de las muestras recolectadas se llevó a cabo en el laboratorio de parasitología del Departamento de Sistemas de Producción y Sanidad Animal de la Estación Agrícola Experimental (León), centro que pertenece al Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) de España.

2.1.2. Animales

La elección del rebaño, constituido aproximadamente por 600 cabezas de ganado ovino de las razas Churra, Assaf y cruce de ambas, se realizó debido a que en un estudio coprológico previo se había detectado en dicho rebaño un número elevado de animales infectados con *D. dendriticum*. El ganado, que se dedica a la producción de leche, estaba sometido a estabulación nocturna y pastoreo extensivo diurno en una zona de varios kilómetros cuadrados situada en los alrededores del poblado de Grulleros.

2.1.3. Diseño experimental

En octubre de 1993, un mes antes de iniciar las investigaciones quimioterapéuticas, se realizó un estudio coprológico de 240 animales del rebaño,

* Los datos de temperatura y precipitación corresponden a la estación meteorológica de La Virgen del Camino (León, España) y fueron suministrados por el Instituto Nacional de Meteorología, Centro Meteorológico Territorial de Castilla y León (Valladolid, España).

previamente marcados mediante un crotal en la oreja. De esta forma se detectó un 63.7 % de animales que eliminaban huevos de *D. dendriticum*.

Con los animales infectados se establecieron 5 grupos de 31-39 animales cada uno (Figura 3), distribuidos de manera aleatoria sin que existieran diferencias estadísticamente significativas entre grupos, en cuanto al número de huevos eliminados por gramo.

Los estudios quimioterapéuticos contra *D. dendriticum* se llevaron a cabo en dichos grupos a partir de noviembre de 1993 (Figura 3), aplicando por vía oral, uno o dos tratamientos de albendazol* (metil (5-propil-tio-1 H bencimidazol-2-yl) carbamato), en las mismas fechas en que se tomaron las muestras de heces. Dicho producto se administró a dosis de 20 mg/kg, de acuerdo con las recomendaciones realizadas por varios autores mencionados en el apartado de quimioterapia del capítulo 1. Se establecieron 5 modelos quimioterapéuticos (Figura 3), que se aplicaron de la siguiente forma: modelo 1, con tratamiento en noviembre de 1993 y enero de 1994, se aplicó al Grupo 1; modelo 2, con tratamiento en noviembre y febrero de 1994, al Grupo 2; modelo 3, con tratamiento en noviembre de 1993 y abril de 1994, al Grupo 3; modelo 4, con tratamiento en enero de 1994, al Grupo 4; y el modelo 5, con tratamiento en abril de 1994, al Grupo 5, considerado éste como testigo. La justificación de la elección de estas fechas ya se hizo en el capítulo de introducción.

2.1.4. Toma de muestras de heces. Estudio coprológico

Desde noviembre de 1993 se efectuaron 10 muestreos, aproximadamente cada 45 días (intervalo ligeramente inferior al período de prepatencia), para recolectar muestras durante 13 meses se obtuvieron muestras de heces de todos los animales incluidos en los 5 grupos. Dichos muestreos (M) se realizaron en noviembre de 1993 (M1), enero de 1994 (M2), febrero de 1994 (M3), abril de 1994 (M4), mayo de 1994 (M5), julio de 1994 (M6), agosto de 1994 (M7), septiembre de 1994 (M8), octubre de 1994 (M9) y noviembre de 1994 (M10). La toma de muestras se realizó directamente del recto de

*Valbazen, marca registrada por Merck Sharp & Dohme

cada animal, entre las 8 y las 12 horas. Dichas muestras, contenidas en bolsas de polietileno, fueron transportadas inmediatamente al laboratorio (situado a unos dos kilómetros), pesadas y mantenidas a 4 ° C hasta su proceso.

El examen coprológico de 3 gramos de heces de cada muestra por gramo de heces (HPG), para la realización del recuento de huevos de *D. dendriticum* por gramo de heces, se llevó a cabo mediante la técnica de sedimentación y con la ayuda de cámaras McMaster.

Sobre los datos concernientes a la eliminación de huevos obtenidos en cada muestreo de cada grupo, así como en el total de los 10 muestreos de cada grupo, se calculó, del conjunto de muestras positivas y negativas: 1/ Porcentaje de muestras positivas a huevos de *D. dendriticum*; 2/ Media de HPG \pm error estándar (e.e.); 3/ Rango de máxima y mínima cantidad de HPG; 4/ Coeficiente de variación de la media de HPG; 5/ Porcentaje de reducción de tasa de la media de HPG vs muestreo1 (%RTvsM1); 6/ Porcentaje de reducción de tasa de la media de HPG de los diferentes muestreos por pares vs la media de cada muestreo del testigo (%RTvsT); 7/ Porcentaje de reducción de tasa global de la media de HPG de todos los muestreos del grupo vs el testigo (%RTGvsT), considerando porcentaje de muestras positivas por una parte y media de HPG por otra, estos parámetros permiten saber cuál de los grupos tuvo el mejor comportamiento en la reducción de eliminación de huevos durante todo el estudio. Además del conjunto, considerando únicamente las muestras positivas se calcularon los parámetros 2, 3, 4 y 5. Los porcentaje de reducción de tasa se calcularon de acuerdo a la fórmula señalada por Greenberg *et al.* (1998) y adaptados de la siguiente manera.

5/ %RTvsM1 = media de HPG del M1 - media de HPG del M2 (enésimo) \div media de HPG del M1 x 100.

6/ %RTvsT = media de HPG de cada uno de los muestreos del grupo testigo - media de HPG de cada uno de los muestreos del grupo tratado (experimental) \div media de HPG de cada uno de los muestreos del grupo testigo x 100.

7/ $\%RTGvsT = \text{porcentaje de muestras positivas de todas las muestras del grupo testigo} - \text{porcentaje de muestras positivas de todas las muestras del grupo tratado (experimental)} \div \text{porcentaje de muestras positivas de todas las muestras del grupo testigo} \times 100.$

7bis/ $\%RTGvsT = \text{media de HPG de todas las muestras del grupo testigo} - \text{media HPG de todas las muestras del grupo tratado (experimental)} \div \text{media de HPG de todas las muestras del grupo testigo} \times 100.$

Además, únicamente en el muestreo siguiente a aquél en que se aplicó el tratamiento, se evaluó la eficacia del albendazol contra *D. dendriticum*, a través de: 1/ Efecto extensión de la eficacia del albendazol (E.E.) y 2/ Efecto intensidad de la eficacia del albendazol (E.I.), calculados según la fórmula utilizada por Eckert *et al.* (1984), pero considerando como testigo el propio grupo el día en que se aplicó el tratamiento. El efecto extensión y el efecto intensidad, expresados en porcentajes, midieron la eficacia del dicrocelicida en la reducción del número de muestras positivas y el número de huevos eliminados por gramo, respectivamente.

1/ E.E. = $\% \text{ muestras positivas el día del tratamiento} - \% \text{ de muestras positivas en el muestreo siguiente al tratamiento} \div \% \text{ de muestras positivas el día del tratamiento} \times 100.$

2/ E.I. = $\text{media de HPG de las muestras positivas el día del tratamiento} - \text{media de HPG en muestras positivas y negativas en el muestreo siguiente al tratamiento} \div \text{media de HPG de muestras positivas el día del tratamiento} \times 100.$

2.1.5. Análisis estadístico de los resultados obtenidos

Al inicio del experimento, una vez que se conformaron los grupos, se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis (Daniel, 1984), sin que hubiera diferencia estadística. Para la comparación por pares entre los 10 muestreos de cada grupo se empleó la prueba de Friedman (Daniel, 1984). Dicha prueba también se utilizó para comparar, en cada grupo el número de HPG obtenido en el muestreo en que se aplicó el tratamiento y en el siguiente al mismo (efecto intensidad). La comparación entre los valores de HPG obtenidos en el mismo muestreo, entre los grupos de animales, se llevo a cabo mediante

la prueba de Kruskal-Wallis y cuando hubo diferencia se empleó la prueba Nemenyi (Zar, 1996). Los datos fueron procesados utilizando el Statistical Analysis System (SAS) (Ronald y Jeff, 1991).

2.2. Experimentos sobre control de la fasciolosis bovina en México

2.2.1. Localización

Los trabajos de campo se realizaron en el rancho las Gaviotas, en el municipio de Nautla, estado de Veracruz, México, Figura 4. Dicho municipio esta situado a 8 msn del mar el tipo de clima es A x'(w 1) (y) w'', es decir cálido húmedo con lluvias casi todo el año, se encuentra localizado en las coordenadas 20° 13' y 96°46', la temperatura media anual es de 23.8 ° C, el mes menos caluroso es enero (19.9° C) y el más caluroso es julio (26.4° C). La precipitación pluvial anual es de 1271 mm., el mes con mayor lluvia es septiembre (258 mm) y el de menor es febrero (52 mm) Figura 5, (García, 1988). El citado rancho está situado a 2 km al oeste del poblado de Nautla, tiene una superficie de aproximadamente 115 hs. de terreno plano con pasto estrella de Africa, pangola, gramas nativas y arbustos tropicales, tiene mal drenaje y está dividido en 3 potreros.

2.2.2. Animales. De un hato de aproximadamente 300 cabezas de ganado bovino adulto, con antecedentes de fasciolosis y examinadas coprológicamente, se utilizaron 138 hembras, cruza de cebú x suizo, dedicadas a la producción de leche y sometidas a pastoreo extensivo. Se contaba con corrales para manejo del ganado y una manga para su contención. Cada animal se identificó, al mismo tiempo, mediante un arete de plástico en la oreja y por el nombre que le tenían asignado los vaqueros encargados del cuidado y ordeño.

2.2.3. Diseño experimental

Previamente a la iniciación de las investigaciones quimioterapéuticas, se realizó un estudio coprológico del hato, mediante la técnica de sedimentación de Benedek, modificada por Happich y Boray (1969) para poder identificar y seleccionar los animales infectados con *F. hepatica*. Se procesaron 5 g de cada muestra de heces recolectadas individualmente, para cuantificar el total de huevos en el sedimento (HP5G).

Con los resultados así obtenidos, se formaron 6 grupos de 23 animales infectados, distribuidos de manera aleatoria sin que existieran diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, en cuanto al número de HP5G eliminados.

Con los 6 grupos conformados, se aplicó a cada uno un modelo de control quimioterapéutico contra *F. hepatica*, mediante la aplicación, por vía oral, de triclabendazol *, (6 cloro-5(2,3-diclorofenoxi)-2-metiltio-bencimidazol), a dosis de 12 mg/kg por vía oral, de acuerdo con Boray *et al.* (1985). Este compuesto fue seleccionado, entre un gran número de fasciolicidas, por tener una alta eficacia contra estadios adultos e inmaduros. El TBZ se administró en enero a todos los animales, el efecto se consideró la variable dependiente, además se le aplicó el tratamiento por estar el 100 % de los animales positivos y con elevada carga parasitaria. Los tratamientos se especifican a continuación: modelo 1 en enero, Grupo 1, fue considerado el testigo; modelo 2 en enero y mayo, Grupo 2; modelo 3 en enero mayo y julio, Grupo 3; modelo 4 en enero, mayo, agosto y octubre, Grupo 4; modelo 5 en enero y junio, Grupo 5; y modelo 6 en enero, junio y octubre, Grupo 6 (Figura 6). El efecto de los tratamientos de mayo, junio, julio, agosto y octubre fueron considerados las variables independientes. Las fechas de administración de los tratamientos se realizaron los mismos días en que se tomaron las muestras de heces y sangre a los animales, excepto en julio y octubre.

2.2.4. Toma de muestras de heces. Estudio coprológico

Desde enero de 1996, aproximadamente cada 45 (intervalo menor al periodo prepatente) días durante 13 meses, se recolectaron muestras de heces directamente del recto de cada uno de los animales del hato. Dichas muestras, contenidas en bolsas de polietileno, fueron transportadas al laboratorio en refrigeración a 4° C y mantenidas en él a dicha temperatura hasta su examen. Dichos muestreos se realizaron en enero de 1996 (M1), febrero de 1996 (M2), marzo de 1996 (M3), mayo de 1996 (M4), junio de 1996 (M5), agosto de 1996 (M6), septiembre de 1996 (M7), noviembre de 1996 (M8),

*Fasinex, marca registrada por Novartis S.A. de C.V .

diciembre de 1996 (M9), enero de 1997 (M10).

De cada una de las muestras así obtenidas, se procesaron igualmente 5 gramos mediante la técnica de sedimentación de Benedek, (modificada por Happich y Boray, 1969) y se realizó el recuento de HP5G. Dicho proceso se realizó en el Laboratorio de investigación y posgrado del Departamento de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, así como en el Laboratorio del Proyecto Fasciolosis del Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Parasitología Veterinaria del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), de la Secretaría de Agricultura Ganadería y Desarrollo Rural, en Jiutepec, estado de Morelos, México.

Sobre los datos referentes a la eliminación de huevos obtenidos en cada muestreo, así como en el total de los 10 muestreos de cada grupo, se calculó del conjunto de muestras positivas y negativas: 1/ Porcentaje de muestras positivas a huevos de *F. hepatica*; 2/ Media de HP5G \pm error estándar, 3/ Rango de máxima y mínima cantidad de HP5G; 4/ Coeficiente de variación de la media de HP5G; 5/ Porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs muestreo1 (%RTvsM1); 6/ Porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G de los diferentes muestreos por pares vs la media de cada muestreo del testigo (%RTvsT), 7/ Porcentaje de reducción de tasa global grupo vs testigo (%RTGvsT), considerando porcentaje de muestras positivas por una parte (fórmula 7) y la media de HP5G por otra (fórmula 7 bis), estos parámetros permiten saber cuál de los grupos tuvo el mejor comportamiento en la reducción de eliminación de huevos durante todo el estudio. Además del conjunto, considerando únicamente las muestras positivas se calcularon los parámetros 2, 3, 4 y 5. Los porcentaje de reducción de tasa se calcularon de acuerdo a la fórmula señalada por Greenberg *et al.* (1998) y adaptados de la siguiente manera.

5/ $\%RTvsM1 = \text{media de HP5G del M1} - \text{media de HP5G del M2 (enésimo)} \div \text{media de HP5G del M1} \times 100.$

6/ $\%TRvsT = \text{media de HP5G de cada uno de los muestreos del grupo testigo} - \text{media de HP5G de cada uno de los muestreos del grupo tratado (experimental)} \div \text{media de HP5G de cada uno de los muestreos del grupo testigo} \times 100.$

7/ $\%RTG_{vsT}$ = porcentaje de muestras positivas de todas las muestras del grupo testigo - porcentaje de muestras positivas de todas las muestras del grupo tratado (experimental) \div porcentaje de muestras positivas de todas las muestras del grupo testigo \times 100.

7bis. $\%RTG_{vsT}$ = media de HP5G de todas las muestras del grupo testigo - media HP5G de todas las muestras del grupo tratado (experimental) \div media de HP5G de todas las muestras del grupo testigo \times 100.

Además, únicamente en el muestreo siguiente a aquél en que se aplicó el tratamiento, se evaluó la eficacia del triclabendazol contra *F. hepatica*, a través de 1/ Efecto extensión de la eficacia del TBZ (E.E.) y 2/ Efecto intensidad de la eficacia del TBZ (E.I.), calculados siguiendo la fórmula utilizada por Eckert *et al.* (1984), pero considerando como testigo el propio grupo el día en que se aplicó el tratamiento. El efecto extensión y el efecto intensidad, expresados en porcentajes, midieron la eficacia del fasciolicida en la reducción del número de muestras positivas y el número de huevos eliminados por gramo respectivamente.

1/ E.E. = % muestras positivas el día del tratamiento - % de muestras positivas en el muestreo siguiente al tratamiento \div % de muestras positivas el día del tratamiento \times 100.

2/ E.I. = media de HP5G de las muestras positivas el día del tratamiento - media de HP5G en muestras positivas y negativas en el muestreo siguiente al tratamiento \div media de HP5G de muestras positivas el día del tratamiento \times 100.

2.2.5. Análisis estadístico de los resultados obtenidos

Al inicio del experimento, una vez que se conformaron los grupos, se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis (Daniel, 1984), sin que hubiera diferencia estadística. Para la comparación por pares entre los 10 muestreos de cada grupo se empleó la prueba de Friedman (Daniel, 1984). Dicha prueba también se utilizó para comparar, en cada grupo el número de HP5G obtenido en el muestreo en que se aplicó el tratamiento y en el siguiente al mismo (efecto intensidad). La comparación entre los valores de HP5G obtenidos en el mismo muestreo, entre los grupos de animales, se llevo a cabo mediante la prueba de Kruskal-Wallis y cuando hubo diferencia se empleó la prueba Nemenyi (Zar,

1996). Los datos fueron procesados utilizando el Statistical Analysis System (SAS) (Ronald y Jeff, 1991).

2.2.6. Toma de muestras de sangre.

En las mismas fechas elegidas para la toma de muestras de heces, a partir de enero y durante 10 ocasiones en un periodo de 13 meses, se extrajo también una muestra de 10 ml de sangre de la vena o arteria coxígea, mediante el sistema vacutainer de un subgrupo de 15 animales, en cada uno de los 6 grupos, siempre los mismos bovinos. Posteriormente se separaron los sueros por centrifugación y se colocaron en viales de plástico en refrigeración a 4 ° C; dicho proceso se realizó en el Laboratorio de Salud Animal, en San Rafael, estado de Veracruz. Al día siguiente se trasladaron al laboratorio del Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Parasitología Veterinaria, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias de la Secretaría de Agricultura y Ganadería y Desarrollo Rural, en donde se congelaron (36 h aproximadamente desde la colecta) a -20 ° C hasta su procesamiento. Un ml aproximado de cada muestra de suero se utilizó en los estudios inmunológicos y otro en las determinaciones enzimáticas de GGT y AST.

ELISA

La detección de anticuerpos anti *F. hepatica* en el suero se realizó mediante la lectura de densidades ópticas (D.O.), utilizando la técnica de ELISA indirecta. Para este fin se empleó un antígeno de secreción-excreción de dicho parásito, preparado de acuerdo con Boulard *et al.* (1985), Hillyer *et al.* (1985), Sinclair y Wassall (1988) y Fernández *et al.* (1995). Dichas detecciones se hicieron en el Laboratorio del Proyecto Fasciolosis del Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Parasitología Veterinaria (Jiutepec, Morelos, México) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias de la Secretaría de Agricultura Ganadería y Desarrollo Rural.

La técnica ELISA se basó en la descrita por Boulard *et al.* (1985) con algunas modificaciones que a continuación se describen

Se consideró positivo un suero cuando el valor de densidades ópticas (D.O.) fue mayor o igual a 0.50, y de menor a igual a 0.36 se consideró negativo; cuando el valor de D.O. fue de 0.37 a 0.49 el rango se estimó sospechoso Montenegro, (1997). El punto de corte fue calculado con la media de sueros negativos más tres veces la desviación estándar.

Sensibilización. Se emplearon placas Nunc-immunoplate Maxi Sorp (Intermed), las cuales se sensibilizaron con antígeno a concentraciones de 5 µg/ml en solución amortiguadora de carbonatos pH 9.6 en diluciones dobles seriadas e incubadas 90 minutos a 37 ° C.

Bloqueo. El bloqueo se realizó con leche Sveltes al 2 %, diluida en solución de carbonatos pH 9.6 y se incubó durante 30 minutos a 37 ° C.

Sueros. Para la dilución óptima del suero, se hicieron microdiluciones en placas con solución amortiguadora de fosfatos (PBS) pH 7.2 partiendo de la dilución 1:50 doble seriada continua, e incubados 30 minutos a 37 ° C.

Conjugado. El conjugado utilizado fue un anti- IgG de bovino, peroxidasa desarrollado en conejo*. Para saber la dilución óptima a emplear, se hicieron diluciones dobles seriadas a partir de 1:200 continua y se incubaron a 37° C por 30 minutos.

Sustrato. El sustrato utilizado fue ABT (azino bencil tiosulfato)*, con peróxido de hidrógeno al 30 % y con solución de paro (ácido cítrico) en tiempos de 5 minutos sin solución de paro, y 10 minutos con solución de paro.

En cada paso a realizar, se hicieron 5 lavados con PBS Tween 20 al 0.1 % con agitación de 1 minuto, utilizando un agitador orbital.

La lectura se realizó en un lector ELISA Multiskan** plus P versión 2.03, utilizando un filtro de 405 nanómetros.

Con los datos de D.O. obtenidas, correspondientes a anticuerpos anti- *F. hepatica* en cada uno de los 10 muestreos, de cada grupo de control quimioterapéutico se calculó: el promedio de D.O, considerando muestras positivas y negativas, y el rango de máxima y mínima.

Con los datos obtenidos en los exámenes coprológicos de los seis grupos, de los mismos animales a los que se les extrajo sangre para practicar el ELISA y las determinaciones enzimáticas. Se integraron seis subgrupos, correspondientes a cada uno de los grupos, se calculó y comparó: el porcentaje de muestras positivas; el promedio de HP5G considerando muestras positivas y negativas. Se hizo una comparación de los promedios de los valores de anticuerpos y de HP5G de cada subgrupo correspondiente a cada grupo.

Con los datos obtenidos de anticuerpos anti- *F. hepatica* , así como con las cantidades de HP5G entre los diferentes muestreos de cada subgrupo se determinaron las diferencias estadísticas. Para la comparación por pares entre los 10 muestreos, se empleó la prueba de Friedman Daniel, (1984), y para ver la diferencia entre los 6 grupos, se empleó la prueba de Kruskal-Wallis (Daniel, 1984) y cuando hubo diferencia se aplicó la prueba de Nemenyi (Zar, 1996). Posteriormente, se aplicaron las pruebas de coeficiente de correlación de Spearman (Daniel, 1984), se empleó ésta última por considerarse más adecuada para el coeficiente de correlación entre HP5G y título de anticuerpos anti- *F. hepatica*.

Determinación de niveles enzimáticos

La determinación en suero, de los niveles de las enzimas GGT y AST se realizó

*Sigma Immuno Chemical EE. UU. ** marca Fisher Scientific modelo 361.

mediante la “prueba cinética” de diagnóstico, con un espectrofotómetro* y con reactivos Ciba Corning. La GGT se determinó a 30 ° C, con una longitud de onda de 405 nm. en Unidades Internacionales por litro (U.I./L). Para la enzima se usó el factor 2760. El espectro realiza 4 lecturas y obtiene una media con intervalos de 1 minuto, con un tiempo de lectura de 30 segundos. La absorción máxima fue de 1,500; el volumen de la muestra fue de 0.05 ml, el volumen del reactivo, de 1 ml; y el volumen total que toma el equipo fue de 0.8 ml (Tietz, 1982).

La enzima AST se leyó con una longitud de onda de 340 nm, en U.I / L. a 37 ° C, el factor enzima fue de 2572, se hicieron tres lecturas con intervalos de 1 minuto, la lectura se hizo en 60 segundos cada una. La absorción fue de 0.48, el volumen de las muestras, de 0.1 ml; el volumen del reactivo, de 1.5 ml (1500 microlitros), y el volumen que toma el equipo, de 0.8 ml, (Tietz, 1982). La interpretación de los resultados obtenidos de ambas se hizo de acuerdo con Anderson *et al.* (1977), Boray *et al.* (1985), Bulgin y Anderson (1984) y Benjamin (1984).

2.2.7. Análisis estadístico de los datos obtenidos

Para el análisis de los datos obtenidos de los niveles séricos de GGT, AST , así como con las cantidades de HP5G entre los diferentes muestreos de cada subgrupo, se compararon por pares entre los 10 muestreos, se utilizó la prueba de Friedman (Daniel, 1984). Para ver la diferencia entre los muestreos de los 6 subgrupos se empleó la prueba de Kruskal-Wallis (Daniel, 1984) y cuando hubo diferencia se empleó la prueba de Nemenyi (Zar, 1996). Posteriormente se aplicaron las pruebas de coeficiente de correlación de Spearman (Daniel, 1984)., ésta última se empleó por considerarse más adecuada para el coeficiente de correlación entre HP5G y GGT y AST. Para el proceso de los datos se empleó el programa estadístico SAS (Ronald y Jeff, 1991).

* Ciba Corning, modelo Micro Chen 565

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

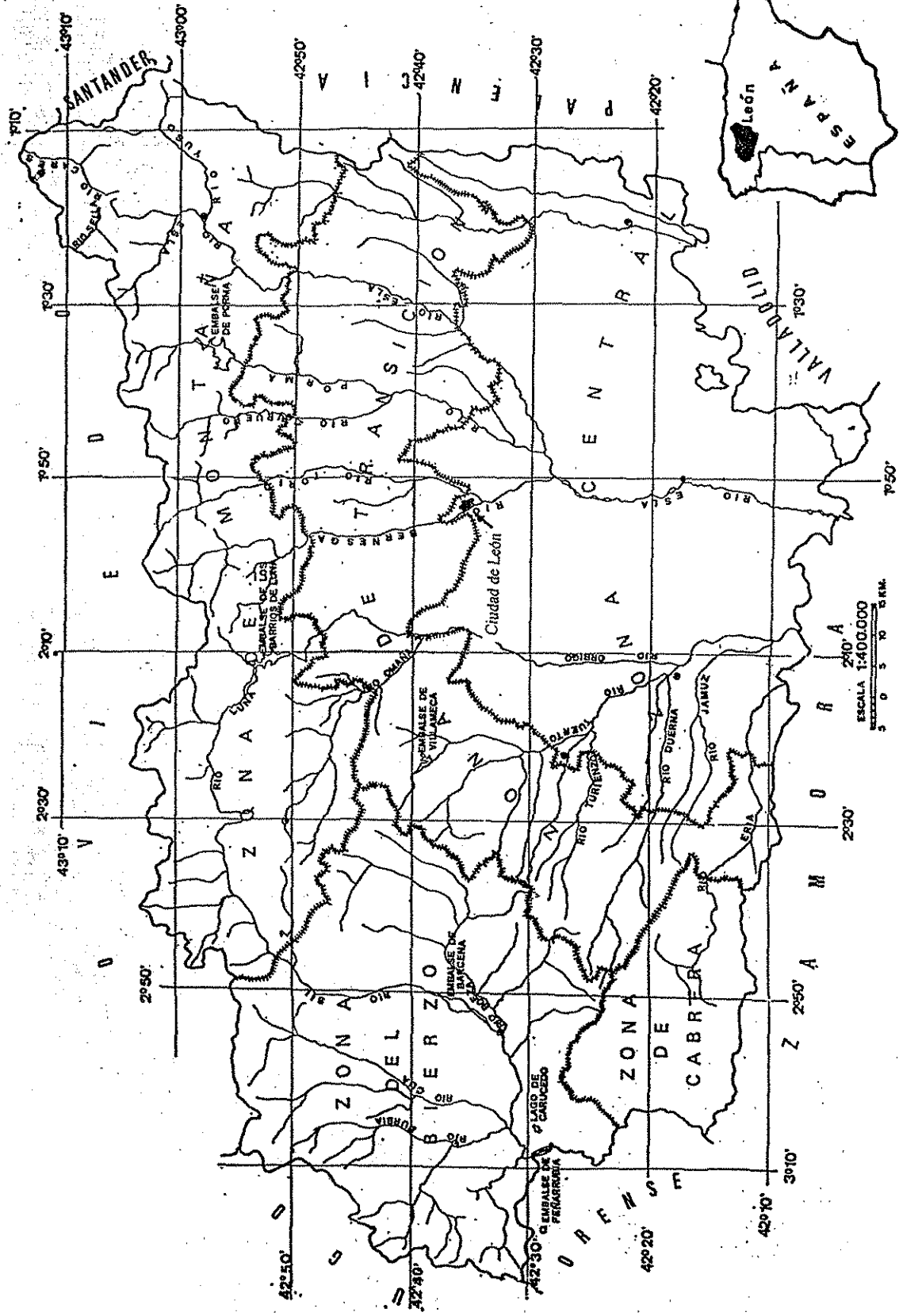


Figura 1. Mapa de España y de la Provincia de León con la localización de la Ciudad de León (Manga-González, 1983). Grulleros está situado a 10 km al sur de dicha ciudad.

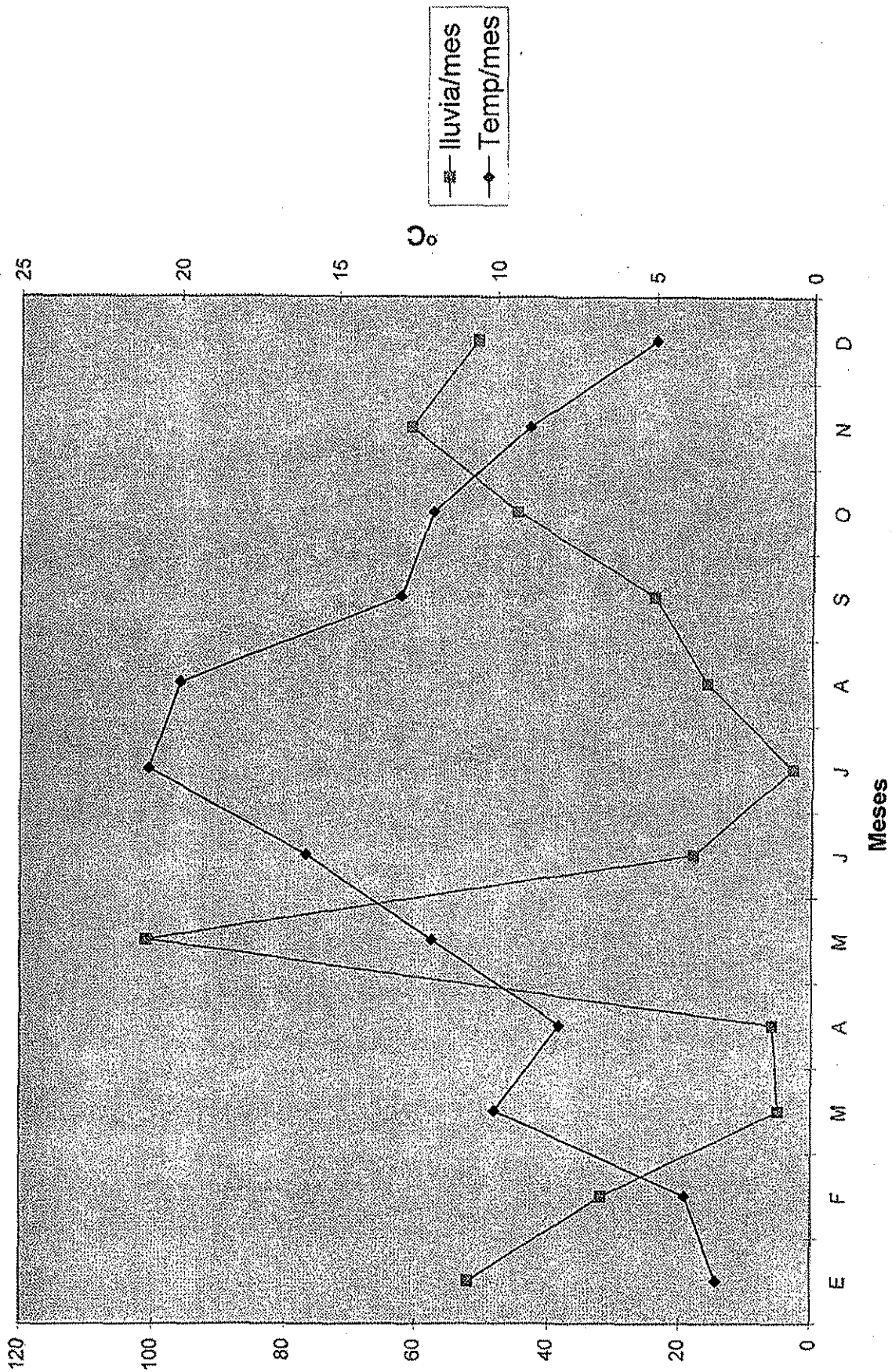


Figura 2. Precipitación pluvial y temperatura media mensuales en León, España.

TEXIS CON FALLA DE ORIGEN

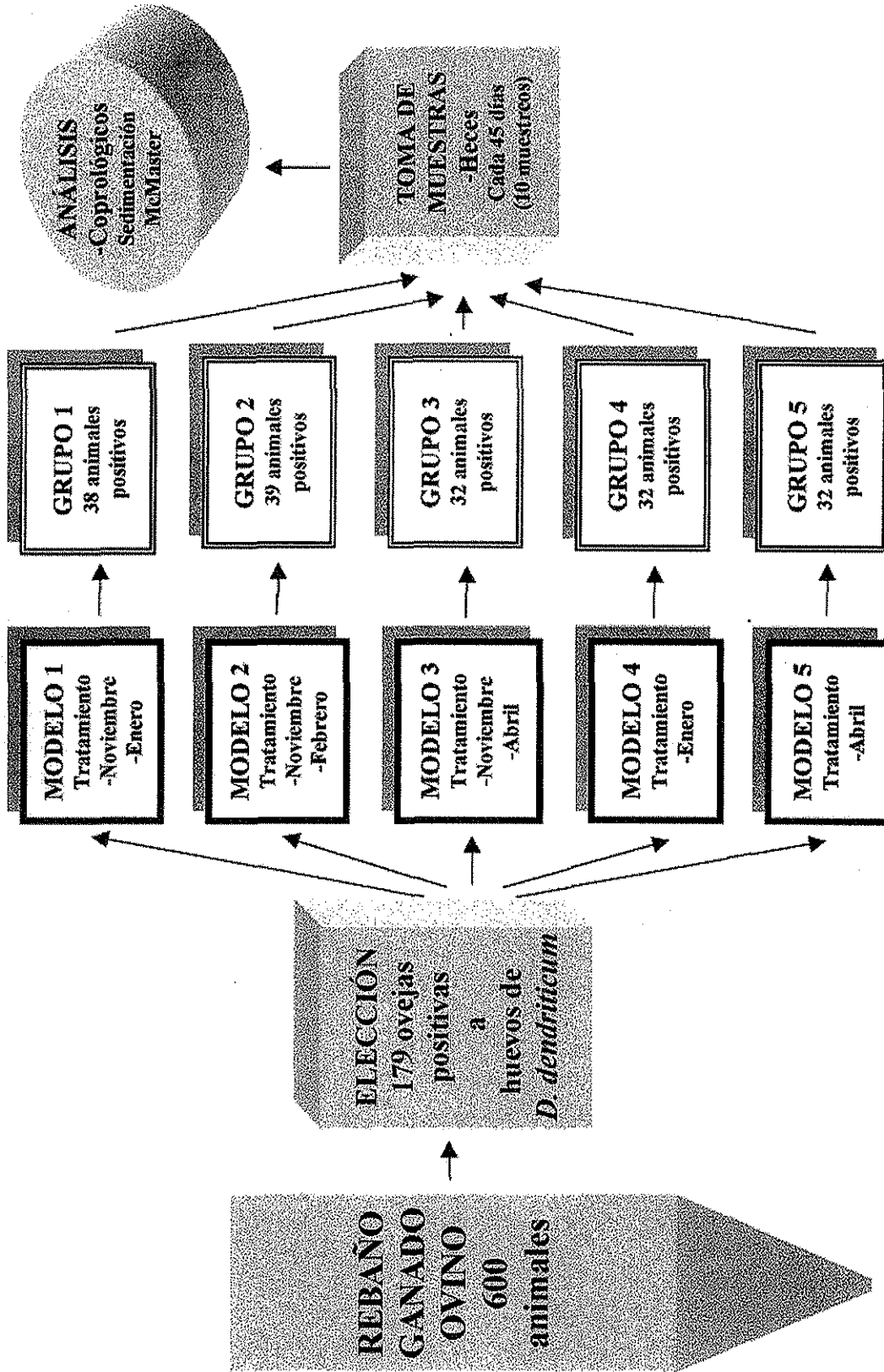


Figura 3. Esquema del diseño experimental realizado en ganado ovino de León, España, naturalmente infectado con *D. dendriticum* y tratado con albendazol (20 mg/kg) en distintos meses.

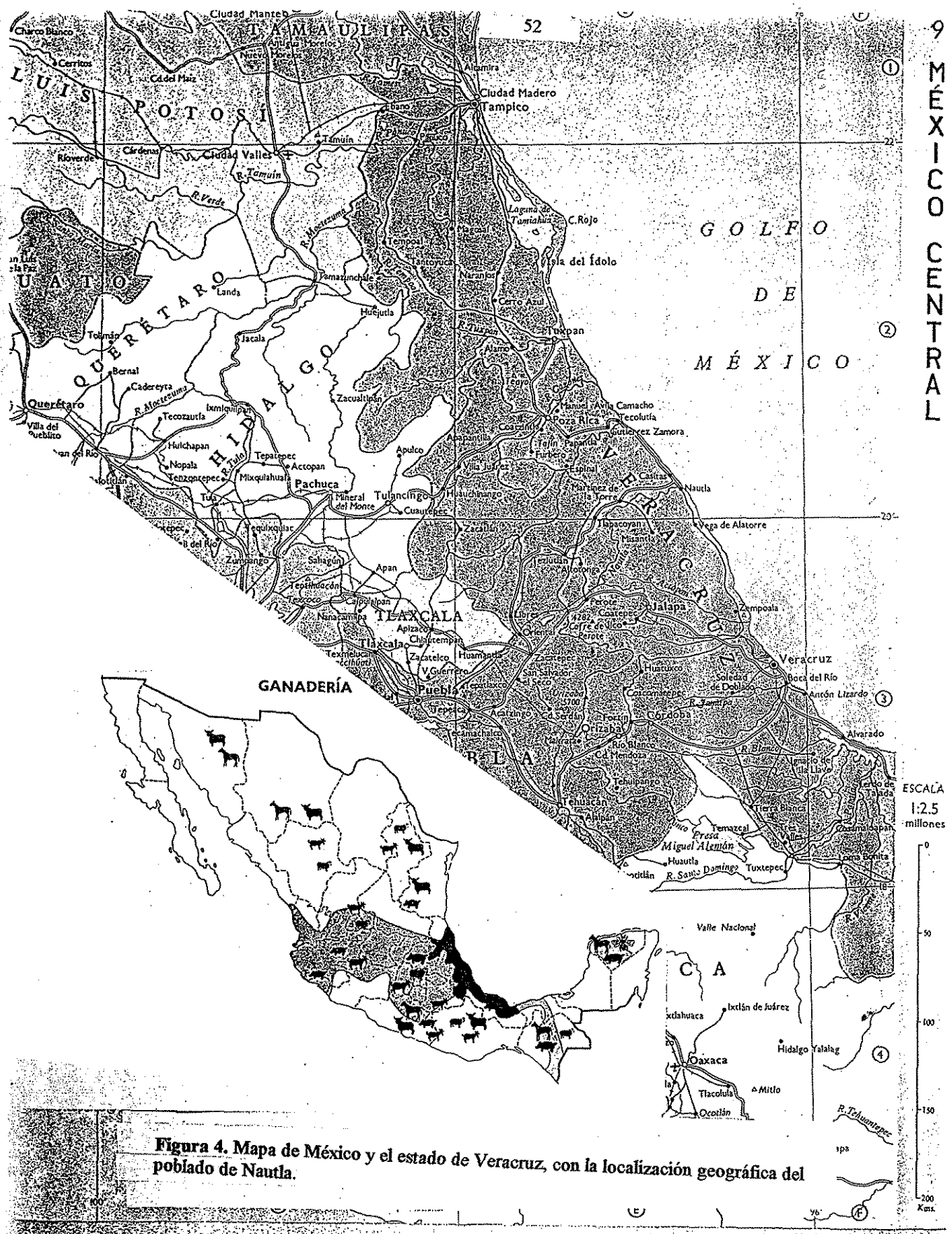


Figura 4. Mapa de México y el estado de Veracruz, con la localización geográfica del poblado de Nautla.

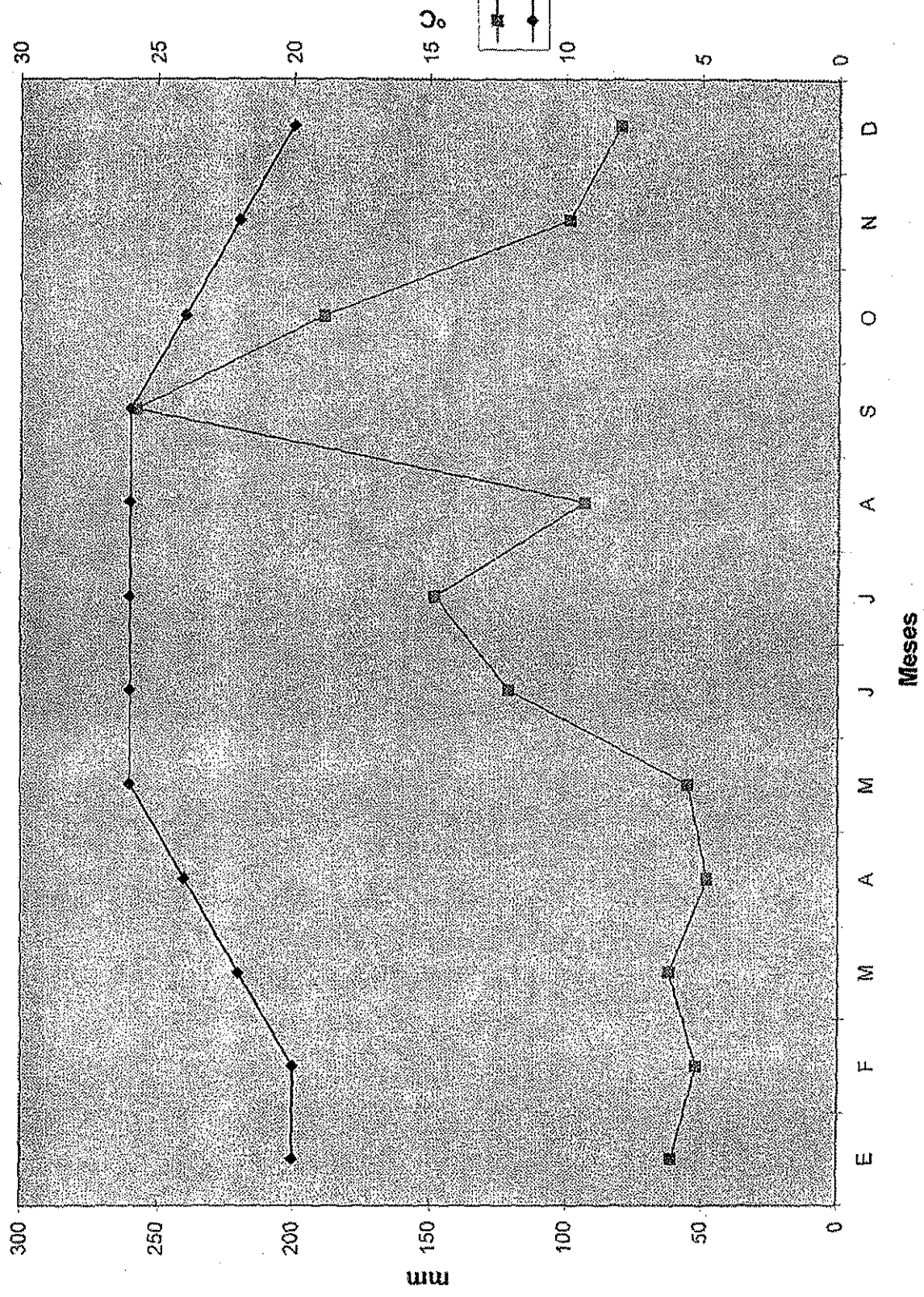


Figura 5. Precipitación pluvial y temperatura media mensuales en Nautla, Veracruz, México.

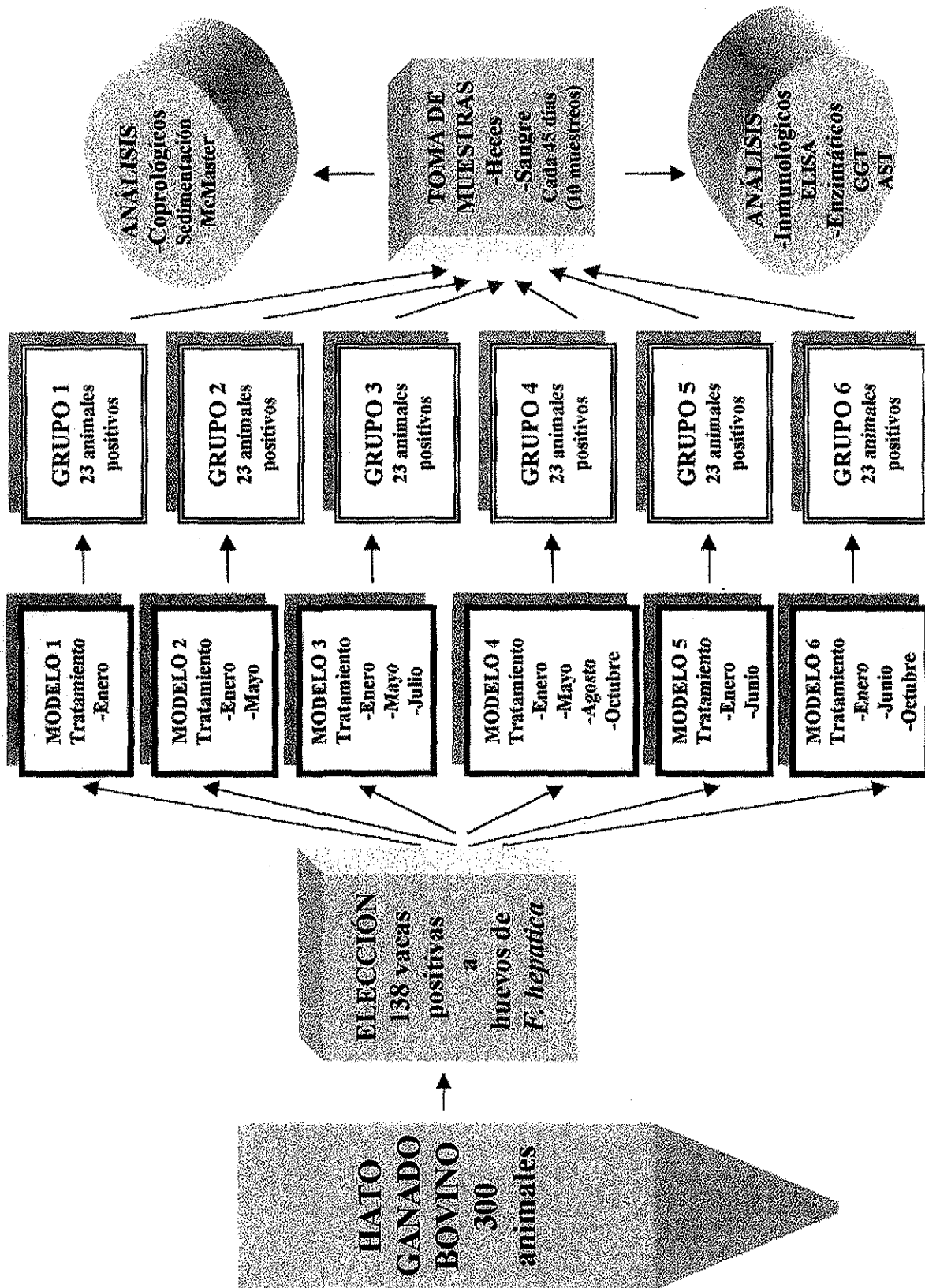


Figura 6. Esquema del diseño experimental realizado en ganado bovino de Veracruz, México, naturalmente infectado con *F. hepatica* y tratado con triclabendazol (12 mg/kg) en distintos meses.

Capítulo 3.- RESULTADOS

3.1. Experimentos sobre control de la dicroceliosis ovina en España

3.1.1. **Importancia de la época de tratamiento contra *Dicrocoelium dendriticum* en ganado ovino.** La información que se incluye en este apartado será enviada para su publicación, previa adaptación a las normas y traducción al inglés, a la revista *Veterinary Parasitology* (Elsevier, Holanda).

3.1.2. **Valoración de modelos de control estratégico contra *Dicrocoelium dendriticum* en ganado ovino.** La información que se incluye en este apartado será enviada para su publicación, previa adaptación a las normas y traducción al inglés, a la revista *Parasitology Research* (Springer-Verlag, Alemania).

3.2. Experimentos sobre control de la fasciolosis bovina en México

3.2.1. **Evaluación de dos modelos quimioterapéuticos para el control de fasciolosis bovina en clima cálido-húmedo en México.** La información incluida en este apartado ha sido ya publicada en la *Revista Veterinaria México*, 32: 55-61 (2001).

3.2.2. **Modelos de tratamientos estratégicos contra *Fasciola hepatica* en ganado bovino en clima cálido.** La información que se incluye en este apartado será enviada para su publicación, previa adaptación a las normas y traducción al inglés, a la revista *Veterinary Parasitology* (Elsevier, Holanda).

3.2.3. **Comparación de tres modelos quimioterapéuticos contra *Fasciola hepatica* en ganado bovino en clima cálido húmedo en México.** La información que se incluye en este apartado será enviada para su publicación, previa adaptación a las normas y traducción al inglés, a la revista *Parasitology Research* (Springer-Verlag, Alemania).

3.1.1. Importancia de la época de tratamiento contra *Dicrocoelium dendriticum* en ganado ovino

Quiroz, R.H.,* Manga-González, M.Y.,** Campo, R.,** Ochoa, G.P.*

* Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, 04510 México, D.F., México.

** Estación Agrícola Experimental, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Apartado 788, 24080-León, España.

Abstract

In order to determine the optimal months for the administration of a strategic treatment regimen with albendazole (ABZ) in sheep aimed at significantly reducing the passage *D. dendriticum* eggs onto the pasture, three models of chemotherapy control were designed and administered to three groups (G) of naturally infected sheep (G1=39 animals, G2=32 and G3=31) located in Grulleros, Leon, Spain. G1 was treated with ABZ (dose of 20 mg/kg bodyweight administered orally) in November and April (model 1), G2 in January (model 2), and G3 in April (model 3, control). The first treatment was administered in November 1993. Faeces samples were collected from all animals every 35 to 45 day during 13 months. Three grams of each sample were processed by sedimentation method and McMaster chamber were used for the egg count. The treatments administered in November, January and April significantly reduced ($P \leq 0.05$) faecal egg output. The percentage of positive samples in the G1 oscillated from 100 % to 33.3 %; in G2 from 100 % to 36. % in G3 from 100 % to 37.5 %. The mean value of eggs per gram of faeces (EPG) fluctuated in G1 from 23.0 ± 5.7 to 143.3 ± 24.1 , in G2 from 19.6 ± 7.2 to 135.0 ± 25.2 , and in G3 from 22.7 ± 7.2 to 216.3 ± 55.8 . Considering the mean EPG among the 3 groups the improvement percentage was 29.4 % in G1, 40.6 % in G2, and 0 % for the G3 (control). These results suggest what model 2 (treated in January) showed the best behavior regarding the reduction of faecal egg output, followed by model 1 (treated in November and April) and finally by model 3 (treated in April).

Key words: *Dicrocoelium dendriticum*, SHEEP, CONTROL, ESTRATEGIC ALBENDAZOLE, ESPAÑA.

Resumen

Con el objetivo de determinar los meses idóneos para aplicar el tratamiento estratégico con albendazol (ABZ) en ganado ovino, para reducir al máximo la eliminación de huevos de *D. dendriticum*, se diseñaron 3 modelos de tratamiento estratégico que se aplicaron a 3 grupos (G) de ovejas: (G1=39 animales, G2=32 y G3=31) infectadas de manera natural y localizadas en Grulleros, León, España. El G1 fue tratado con ABZ (dosis de 20 mg/kg de peso vivo, por vía oral) en noviembre y abril (modelo 1), el G2 en enero (modelo 2) y el G3 en abril (modelo 3, testigo). El primer tratamiento se administró en noviembre de 1993. Se tomaron muestras de heces de todos los animales cada 35-45 días durante 13 meses. Se procesaron 3 gramos de cada muestra por sedimentación y se realizó el recuento de huevos en cámaras McMaster. Los tratamientos de noviembre, enero y abril redujeron significativamente ($P \leq 0.05$) la eliminación de huevos. El porcentaje de muestras positivas osciló: en el G1, de 100 % a 33.3 %; en el G2, de 100 % a 36.0 %, y en el G3, de 100 % a 37.5 %. En el conjunto de muestras positivas y negativas, la media de huevos por gramo (HPG) fluctuó: en el G1, de 23.0 ± 5.7 a 143.3 ± 24.1 ; en el G2, de 19.6 ± 7.2 a 135.0 ± 25.2 ; y en el G3 (testigo) de 22.7 ± 7.2 a 216.3 ± 55.8 . El porcentaje de reducción de tasa vs G3 (testigo), considerando la media de HPG entre los 3 grupos fue: en el G1, 29.4 %; en el G2, 40.6 %; y en el G3 (testigo), 0%. Los resultados sugieren que el modelo quimioterapéutico 2, con tratamiento en enero, fue el que tuvo el mejor comportamiento en la reducción de la eliminación de huevos, seguido del modelo 1, con tratamiento en noviembre y abril, y finalmente del modelo 3, con tratamiento en abril.

Palabras clave: *Dicrocoelium dendriticum*, OVINOS, CONTROL, ESTRATÉGICO, ALBENDAZOL, ESPAÑA.

Introducción

La dicroceliosis, causada por *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Loos, 1899 (Digenea, Dicrocoeliidae), es una parasitosis hepática, sanitaria y económicamente importante en la cría de los rumiantes, que genera pérdidas directas por el decomiso de hígados parasitados y al costo que origina la aplicación de tratamientos antihelmínticos. Este Digenea es muy frecuente en los rumiantes de León, España (Del Río, 1967; Manga-González *et al.*, 1991; González-Lanza *et al.*, 1993; Ferre *et al.*, 1994), en los de la Península Ibérica (Cordero Campillo *et al.*, 1994) y en los de otros numerosos países (Malek, 1980). En su complejo ciclo biológico intervienen, además de los mamíferos domésticos y silvestres que son huéspedes definitivos, una amplia gama de especies de moluscos terrestres y de hormigas, que actúan como primeros y segundos huéspedes intermediarios, respectivamente (Manga-González *et al.*, 2001).

El ciclo de *D. dendriticum* ocurre en la naturaleza con cierta cronología, determinada principalmente por la presencia, etología y receptividad al parásito de los huéspedes definitivos e intermediarios, las prácticas de manejo zootécnico, la temperatura, la humedad, el tipo de suelo y la vegetación (Manga-González y Quiroz, 1999).

La aplicación de medidas eficaces de control quimioterapéutico de la dicroceliosis requiere un buen diagnóstico, el conocimiento adecuado de su epidemiología y la elección de un antihelmíntico que actúe contra las fases maduras y juveniles del parásito. Además es necesario realizar la valoración económica de los tratamientos y contar con la colaboración de los ganaderos. Sin embargo, debido a la complejidad del ciclo y a la baja especificidad parasitaria de *D. dendriticum* respecto a los huéspedes definitivos e intermediarios, no es fácil aplicar medidas profilácticas y de lucha contra la dicroceliosis. Actualmente el método más eficaz de control de la dicroceliosis es el tratamiento antihelmíntico del ganado, aunque sigue siendo insatisfactorio (Eckert y Hertzberg, 1994).

De acuerdo con las investigaciones previas realizadas sobre la transmisión parasitaria de *D. dendriticum* en la provincia de León (España), lugar donde se ha

realizado el presente trabajo, la eliminación de huevos de *D. dendriticum* con las heces de los rumiantes se produce ininterrumpidamente a lo largo de todo el año, pero los valores más elevados se detectan al final del otoño y en el invierno (Manga-González *et al.*, 1991; González-Lanza *et al.*, 1993). En estas épocas la supervivencia de los huevos de *D. dendriticum* en la provincia de León es muy elevada, debido a las bajas temperaturas (Alunda y Rojo-Vázquez, 1983), por lo que la contaminación de los pastos con huevos viables es muy grande en la primavera, cuando los moluscos son muy abundantes y están activos. Además, las hormigas hibernan generalmente entre noviembre y marzo (Manga-González *et al.*, 2001), por lo que en este periodo no se produce reinfección en el ganado.

A pesar de que se dispone de varios compuestos quimioterapéuticos para el tratamiento de la dicroceliosis (Meana y Gómez-Bautista, 1995), sin embargo, y a diferencia de lo que ocurre con *Fasciola hepatica*, no existen antihelmínticos eficaces contra fases juveniles e inmaduras de *D. dendriticum*, o si alguno tiene eficacia, como es el caso de la diafenetida, es a una dosis alta (240 mg/kg eficacia del 93-95 %), a la que aparecen efectos secundarios graves después de su administración (Stratan, 1986).

Son escasos los trabajos realizados sobre el control de la dicroceliosis y, en su mayoría, se trata de pruebas críticas para la evaluación de la eficacia de antihelmínticos, y no de tratamientos administrados de forma estratégica, teniendo en cuenta la epidemiología de la enfermedad.

La eficacia del albendazol* (ABZ), uno de los compuestos más ensayados contra *D. dendriticum*, ha variado en función de la dosis y la vía de administración utilizada, aunque han sido las dosis de 15 y 20 mg/kg las más recomendadas por los distintos autores, (Tharaldsen y Wethe, 1980; Himonas y Liakos, 1980; Cordero del Campillo *et al.*, 1982; Theodorides *et al.*, 1982; Corba y Krupicer, 1992; y Schuster y Hiepe, 1993) que ensayaron dosis desde 7.5 mg/kg hasta 42 mg/kg.

Teniendo en cuenta los datos epidemiológicos anteriormente expuestos así como la

*Valbazen marca registrada por Merck Sharp & Dohme.

información sobre la eficacia del ABZ (dosis de 20 mg/kg, vía oral) en ganado ovino infectado naturalmente con *D. dendriticum* y mantenido en pastoreo, se diseñaron 3 modelos de control quimioterapéuticos, con el fin de determinar los meses más adecuados para que la aplicación de un número mínimo de tratamientos estratégicos reduzca al máximo la eliminación de huevos por los huéspedes definitivos y, como consecuencia la contaminación de los pastos.

Material y métodos

El trabajo experimental se inició en octubre de 1993 en un rebaño de aproximadamente 600 cabezas de ganado ovino, de las razas Churra, Assaff y cruce de ambas. Los animales dedicados a la producción de leche, estaban ubicados en una finca de la localidad de Grulleros, situado a 10 km al sur de la ciudad de León (noroeste de España) Figura 1. Eran sometidos a un sistema de pastoreo diurno, en una extensión de varios kilómetros cuadrados en los alrededores de dicha finca y estabulación nocturna. La temperatura y la precipitación pluvial de León, se presentan en la Figura 2.

Al inicio del experimento se recolectaron muestras de heces del recto de 240 animales del rebaño, entre las 8 y las 12 horas en un solo día. Para realizar el recuento de huevos de *D. dendriticum* por gramo de heces (HPG) se procesaron individualmente 3 g de cada muestra, mediante la técnica de sedimentación y se contaron los huevos en cámaras McMaster, al microscopio óptico. De esta forma se detectó un 63.7 % de animales positivos a *D. dendriticum* (rango de 33.3 a 1249; media de 108.3 ± 12.3 a 121.3 ± 15.1), 102 de los cuales se eligieron para conformar 3 grupos (G) de manera aleatoria, de 39 animales el G1, de 32 el G2 y de 31 el G3, que fueron utilizadas en este trabajo. Dichos grupos eran homogéneos, en cuanto a la cantidad de HPG, pues entre ellos no se detectaron diferencias estadísticamente significativas, al realizar la prueba de Kruskal-Wallis (Daniel, 1984).

Los tratamientos dicrocelicidas se llevaron a cabo mediante la aplicación a los animales del (ABZ) a dosis de 20 mg/kg de peso corporal, por vía oral. Se establecieron 3 modelos de control quimioterapéutico: el modelo 1 con tratamiento en noviembre de

1993 y abril de 1994, se aplicó a los animales del G1; el modelo 2, con tratamiento únicamente en enero de 1994, se aplicó a los del G2; y el modelo 3, con tratamiento en abril de 1994, se aplicó al G3, que fue considerado como grupo testigo por no haber sido tratado durante el otoño y el invierno, épocas en las que se produce la mayor eliminación de huevos de *D. dendriticum* por el ganado ovino en la provincia de León (Manga-Gonzalez *et al.*, 1991).

Entre noviembre de 1993 y noviembre de 1994, se efectuó el recuento de HPG en las muestras de todos los animales de los 3 grupos, recolectadas en 10 muestreos efectuados entre 35 y 45 días (intervalo ligeramente inferior al periodo de prepatencia) y procesadas por los mismo métodos descritos con anterioridad. Dichos muestreos (M) se realizaron en noviembre de 1993 (M1), enero de 1994 (M2), y en los siguientes meses del mismo año, febrero (M3), abril (M4), mayo (M5), julio (M6), agosto (M7), septiembre (M8), octubre (M9) y noviembre de 1994 (M10).

Los datos obtenidos en los exámenes coprológicos permitieron seguir el proceso de eliminación de HPG de cada animal y calcular en cada grupo y para cada muestreo, los siguientes parámetros, considerando las muestras positivas y negativas conjuntamente: 1/ Porcentaje de muestras positivas a huevos de *D. dendriticum*; 2/ Media de HPG \pm error estándar (e.e.); 3/ Rango de mínima y máxima cantidad de HPG; 4/ Coeficiente de variación; 5/ Porcentaje de reducción de tasa de la media de HPG de los diferentes muestreos vs el M1 (%RTvsM1); 6/ Porcentaje de reducción de tasa de la media de HPG de los diferentes muestreos por pares vs la media de cada muestreo del grupo testigo (%RTvsT); 7/ Porcentaje de reducción de tasa global de HPG de grupo vs el grupo testigo, al que se le asignó 0 reducción (%RTGvsT), se consideró el porcentaje de muestras positivas por una parte y la media de HPG por otra. Estos parámetros permiten saber cuál de los grupos tuvo el mejor comportamiento en la reducción de eliminación de huevos durante todo el estudio. Los cálculos de los porcentajes de reducción de tasa se hicieron empleando la fórmula señalada por Greenberg *et al.* (1998) (las fórmulas se describen en la página 39). Además considerando únicamente el conjunto de las muestras positivas de cada grupo se calcularon los parámetros 2, 3, 4 y 5.

Por otra parte, se evaluó la eficacia del dicrocelicida en el muestreo siguiente a aquél en que se aplicó el tratamiento, así: en el G1, los tratamientos administrados en noviembre (M1) y abril se evaluaron en enero y mayo, respectivamente; en el G2, el aplicado en enero se evaluó en febrero; y en el G3, el administrado en abril se evaluó en mayo. La eficacia se midió a través del efecto extensión (E.E.) y el efecto intensidad (E.I.), calculados siguiendo la fórmula utilizada por Eckert *et al.* (1984), pero considerando como testigo el propio grupo el día en que se aplicó el tratamiento (Las fórmulas se señalan en la página 40). El efecto extensión y el efecto intensidad, expresados en porcentaje, miden la eficacia del dicrocelicida en la reducción del número de muestras positivas y de la cantidad de HPG eliminados, respectivamente.

Con los resultados de HPG se compararon los valores obtenidos en los diferentes muestreos realizados en el mismo grupo, empleando la prueba de Friedman (Daniel, 1984), esta prueba también se utilizó para comparar en cada grupo la cantidad de HPG obtenidos en el muestreo en que se aplicó el tratamiento y en el siguiente al mismo (efecto intensidad). El efecto de los tres tratamientos en los tres grupos se comparó mediante la prueba de Kruskal-Wallis (Daniel, 1984) y cuando la hubo, se aplicó la prueba de Nemenyi (Zar, 1996) entre los valores de HPG obtenidos en el mismo muestreo, entre los grupos de animales. Los análisis se realizaron utilizando el programa Statistical Analysis System (SAS) (Ronald y Jeff, 1991).

Resultados

Los valores observados en el proceso de eliminación de huevos de *D. dendriticum* en ganado ovino tratado con ABZ en noviembre y abril (G1) se notan en el Cuadro 1. El porcentaje de muestras positivas en el primer muestreo fue de 100 %, en los siguientes muestreos osciló de 33.3 % en julio, M6, a 96.2 % en noviembre, M10. En el conjunto de muestras positivas y negativas la media de HPG en enero, M2, fue de 121.3 ± 15.1 , posteriormente cambió de 23.0 ± 5.7 en septiembre M7 a 143.1 ± 24.1 en noviembre, M10, con diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) entre los distintos muestreos. El rango osciló de 0 a 500 HPG. El coeficiente de variación fluctuó de 78.1 en enero, M1 a 184.5 en octubre, M9. El porcentaje de reducción de tasa de la media de HPG vs el M1, osciló de 83.3 % en julio, M6 a -17.9 % en noviembre, M10.

En el mismo Cuadro 1, los valores del conjunto de muestras únicamente positivas, denotan que la media de HPG al inicio (M1) fue de 121.3 ± 15.1 , posteriormente osciló de 55.3 ± 8.1 en mayo, M5, a 148.6 ± 24.4 en noviembre, M10. El rango fue 33 a 500 HPG. El coeficiente de variación fluctuó de 39.5 en septiembre, M8, a 117.5 en abril M4. El porcentaje de reducción de tasa de la media de HPG vs M1 fluctuó de 54.3 % en mayo, M5, a -22.5 % en noviembre, M10.

En lo que se refiere al G2, el porcentaje de muestras positivas en el primer muestreo fue de 100 %, posteriormente varió de 36.0 en mayo, M5, a 82.7 % en enero, M2. En el conjunto de muestras positivas y negativas la media de HPG en noviembre, M1, fue de 108.3 ± 12.3 , subsecuentemente varió de 19.6 ± 7.2 en agosto, M7, a 135.0 ± 25.2 en noviembre, M10, con diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$). El rango fue de 0 a 400 HPG. Sin embargo el coeficiente de variación osciló de 64.5 en noviembre, M1 a 215.6 en mayo M5. El porcentaje de reducción de tasa de la media de HPG vs el M1 varió de 81.8 % en agosto, M7, a -24.6 % en noviembre, M10 (Cuadro 2).

En el mismo Cuadro 2 se ve el conjunto de valores de muestras positivas. La media de HPG en el primer muestreo fue de 108.3 ± 12.3 , subsecuentemente fluctuó de 49.8 ± 13.4 en octubre, M9, a 168.7 ± 25.1 en noviembre, M10. No se hizo análisis estadístico porque se redujo demasiado el número de muestras positivas debido a los tratamientos con ABZ, por lo que se presenta únicamente un análisis descriptivo. El rango varió de 33 a 400 HPG. El coeficiente de variación cambió de 54.2 en enero, M2 a 104.3 en mayo, M5. El porcentaje de reducción de tasa de la media de HPG vs M1, varió de 54.0 % en octubre, M9, a -55.8 % en noviembre, M10.

En el G3 (testigo) el porcentaje de muestras positivas en noviembre, M1, fue de 100 %, posteriormente fluctuó de 37.5 % en octubre M9 a 100 % en noviembre, M10. No obstante, en el conjunto de muestras positivas y negativas la media de HPG en el primer muestreo fue de 110.1 ± 12.4 , subsecuentemente fluctuó de 22.7 ± 7.2 en mayo, M5, a 216.3 ± 55.8 en enero, M2, con diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$). El rango fue de 0 a 1249 HPG. El coeficiente de variación cambió de 62.8 en noviembre,

M1, a 171.4 en agosto, M7, mientras el porcentaje de reducción de tasa de la media de HPG vs el M1, osciló de 79.3 % en mayo, M5, a -96.3 % en enero, M2 (Cuadro 3).

Los cálculos de los valores del conjunto de muestras únicamente positivas, se observan en el mismo Cuadro 3. La media de HPG en el primer muestreo de noviembre, fue de 110.1 ± 12.4 , luego cambió de 51.8 ± 5.9 en julio M6 a 247.2 ± 60.0 en enero, M2. El rango fue de 33 a 1249 HPG. El coeficiente de variación osciló de 34.5 en julio, M6, a 111.8 en agosto, M7. El porcentaje de reducción de tasa de la media de HPG vs M1, fluctuó de 59.8 % en mayo, M5, a -124.3 % en enero, M2.

El porcentaje de reducción de tasa de la media de HPG de los diferentes muestreos de cada grupo vs el testigo (G3) se aprecia en el Cuadro 4. El valor de dicho porcentaje en las muestras positivas y negativas del G1 fue de -10.0, en el primer muestreo (noviembre), y en los muestreos siguientes osciló entre 63.3 %, en enero, M2, a -21.5 % en el de mayo, M5. Sin embargo, en el G2 el citado porcentaje fue de 1.7 % en el primer muestreo, y posteriormente fluctuó entre 73.6 %, en el de febrero M3, y -5.7 % en el de julio, M6. Por otra parte, el valor de dicho porcentaje de reducción de tasa, vs el grupo testigo (G3), en las muestras únicamente positivas del G1 fue de -10.1 % en el primer muestreo, mientras que en los siguientes varió de 60.4 %, en el de enero M2, a -232.1 % en el de agosto, M7. Sin embargo, en el G2 el citado porcentaje fue 1.7 % en el primer muestreo, y posteriormente osciló entre 57.9 %, en el muestreo de agosto, M7, y -17.1 % en el último realizado en noviembre, M10. En el G3 (testigo) el porcentaje de reducción fue de 0% en todos los muestreos, para ambos tipos de muestras (positivas y negativas; positivas). Se encontró que hubo diferencia estadísticamente significativa entre los tres grupos (G1, G2, y G3) en el muestreo 3, y entre el G1 y G2 en el muestreo 4 ($P < 0.01$) en el resto no hubo diferencia estadísticamente significativa.

Respecto al efecto extensión y el efecto intensidad del ABZ sobre la eliminación de huevos de *D. dendriticum* en ganado ovino (Cuadro 5), se observa que en el G1, tratado en noviembre, M1, y abril, M4, el efecto extensión fue de 81.0 % por el tratamiento de noviembre, M1, y de 20.0 % por el tratamiento de abril, M4, mientras que el efecto intensidad fue de 34.7 % y 49.3 %, respectivamente, para las mismas

fechas de tratamiento, sin que hubiera diferencia estadísticamente significativa. En el G2 el efecto extensión por el tratamiento de enero, M2, fue de 41.4 % y el efecto intensidad de 73.9 % con diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$), y en el G3 el efecto extensión del tratamiento de abril, M4, fue de 39.4% mientras que el efecto intensidad fue de 71.9 %, con diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$).

El porcentaje de reducción de tasa global de la media de HPG de todos los muestreos del grupo vs el grupo testigo fue: considerando el porcentaje de muestras positivas en el G1 de 17.8 %, en el G2 de 16.2 % y en el G3 (testigo) de 0%; este mismo parámetro, pero considerando la media de HPG, fue de 29.4% en G1; de 40.6 % en el G2, y de 0 % en el G3.

Discusión

El valor de la prevalencia de infección por *D. dendriticum* en el rebaño de Grulleros (León, España) al comienzo del presente estudio (63.7 %) fue inferior al observado en la misma provincia de León, por Del Río (1967) (100%), similar al detectado por Manga-González *et al.* (1991) y superior al señalado por Ferre *et al.* (1994) (26.7%). Por otra parte, el porcentaje observado por nosotros fue inferior al señalado también en España por García-Pérez y Juste-Jordán (1987), en el País Vasco (100%); en Italia por Ambrosi y Principato (1981) (100%); en Francia por Calamel (1976), en el distrito de los Alpes Marítimos (83.1%); en Turquía por Kalkán (1970) en Kumbale (74%) y Karacabey (64%). Sin embargo, el valor de la prevalencia obtenida por nosotros fue superior al mencionado, entre otros autores, por Calamel (1976) en el sudeste de Francia (41.9%) y por Stuhberg *et al.* (1975) en las regiones de Frankfurt y Oder (31.4%) en Alemania. Por otra parte Jithendran y Bhat (1996) encontraron 8.1 % en ovejas en la India, estos autores al realizar la necropsia hallaron el 24.1 % de positivos al trematodo, relación que sugiere que el porcentaje de positivos encontrado en este estudio sea mayor. Por otra parte Theodorides *et al.* (1999) notifican que aparte de las lesiones en hígado no encontraron evidencia de alteraciones en el estado general de salud con cargas de 37 a 8180 vermes, en nuestro estudio no se observaron alteraciones evidentes de enfermedad por este parásito en las ovejas, lo que sugiere también que las cargas parasitarias no eran altas, en parte debido a los tratamientos.

El rango de HPG obtenido en el muestreo general efectuado en el rebaño de Grulleros (33-1249 HPG), previo al establecimiento de los grupos, fue inferior al detectado por Manga-González *et al.* (1991) en la misma provincia de León (33-5340). Si tenemos en cuenta el número de HPG eliminado en cada uno de los 3 grupos al comienzo del estudio en noviembre de 1993, M1, los valores medios, que oscilaron entre 108.3 y 121.3 HPG, fueron inferiores a los obtenidos en la provincia de León por Manga-González *et al.* (1991) y por Cabanas (1995), en dicho mes (300 y 223 HPG, respectivamente). Por otra parte, aunque la tendencia observada en la eliminación de huevos en el grupo testigo (G3) desde noviembre hasta abril, mes en que se aplicó el tratamiento, fue parecida a la señalada por Manga-González *et al.* (1991), sin embargo el número de HPG obtenido en el presente trabajo fue bastante inferior en dicho periodo, ya que el valor medio más elevado en el G3, que se detectó en enero, fue 247.2 HPG, frente a la media más alta observada por dichas autoras en febrero (726.6 HPG).

Algunos autores (Cordero del Campillo *et al.*, 1982) consideran que de acuerdo con los trabajos sobre la epidemiología de la dicroceliosis realizados por Wolff (1976) y Badie (1978), el tratamiento dicrocelicida a finales del otoño es recomendable, por otra parte Meana y Gómez-Bautista (1995) señalan que el ABZ se encuentra entre los fármacos más eficaces y que la administración en la primavera permite disminuir los niveles de infección de los huéspedes intermediarios, una segunda dosis en otoño reduce la carga parasitaria de las ovejas, sin embargo, en el presente estudio el tratamiento de finales de noviembre no tuvo un buen efecto, cuando se le comparó experimentalmente con el de principio de enero. Aunque desde el punto de vista epidemiológico, parece lógico pensar que una vez que la actividad de las hormigas termina a finales del otoño, como lo señala Manga-González *et al.* (1995) ya no ocurrirán reinfecciones, y el tratamiento con ABZ tendrá un buen efecto sobre estadios adultos del trematodo. No obstante, en el presente estudio, el comportamiento parece ser diferente. Dicha situación refleja que el tratamiento de noviembre pudo haber eliminado a los parásitos adultos en un porcentaje similar al señalado por Cordero del Campillo *et al.* (1982), Himonas y Liakos (1980); Tharaldsen y Wethe (1980); sin embargo, no se ha señalado que el ABZ tenga eficacia sobre los estadios inmaduros de *D. dendriticum*, por lo que se asume que

no lo tiene y, considerando que los animales del G1 tratado en noviembre M1, en el momento en que fueron tratados tuvieran dichos estadios inmaduros en migración, que no fueron afectados por el ABZ, por lo tanto, pudieron llegar a madurar en enero, siendo éstos los responsables de la eliminación de huevos después del tratamiento, el incremento de huevos en el invierno en el grupo que no recibió tratamiento hasta abril coincide con lo señalado por Manga-González *et al.* (1995), en España.

Ambrosi *et al.* (1995) en Italia y Meana y Gómez-Bautista (1995) en España señalan que el tratamiento estratégico contra *D. dendriticum* en ovinos es una vez al año, al final del invierno o principio de la primavera, esto difiere de lo encontrado por nosotros, pues, el tratamiento de abril, (principio de la primavera) no fue el mejor cuando se comparó con el de enero, además dicho tratamiento en abril no tuvo diferencias significativas en los muestreos realizados el resto del año con el G2 que no recibió tratamiento en esa fecha, no obstante, cabe pensar también en algún grado de resistencia de este trematodo hacia el ABZ, como ha sido señalado por otros autores contra *Fasciola hepatica* (Boray, 1990; Overed y Bowen, 1995).

El efecto extensión y el efecto intensidad del ABZ, en la reducción de la eliminación de huevos variaron considerablemente. En el G1 el tratamiento de noviembre con el de abril; el G2 en enero y el G3 en abril, dicha situación sugiere que en los tres grupos la cantidad de parásitos adultos era diferente de acuerdo al rango del número de huevos. Se sabe que la cantidad de huevos que elimina una oveja guarda cierta relación con la carga de parásitos adultos, de acuerdo con Rojo-Vazquez *et al.* (1981), tiene una correlación de 0.77. Campo *et al.* (2000), en estudios realizados en 2 grupos de 12 corderos cada uno, infectados experimentalmente con 1000 y 3000 metacercarias de *D. dendriticum*, respectivamente, y sacrificados la mitad de cada grupo a los 2 y a los 6 meses p.i., encontraron que existía una correlación estadística entre el número de HPG eliminado por cada cordero, desde que se producía la primera eliminación (entre los días 49 y 79 p.i., según los casos) hasta el final del experimento (180 días p.i.), y el número de vermes recuperado en la necropsia. Como era de esperar la correlación fue más intensa cuando consideraron únicamente la eliminación de HPG de los corderos entre los días 120 y 180 p.i., período en el que se supone que todos los vermes ya están

maduros y, por tanto, todos ellos eliminan huevos. De acuerdo con la relación carga parasitaria número de huevos por gramo obtenida por dichas autoras, el número de vermes maduros albergados por los animales de los tres grupos, en el presente estudio, sería inferior a 400, ya que la media de huevos por gramo más alta fue de 247.2 HPG, en el muestreo de enero del grupo testigo (G3). La tendencia a incrementarse el número de huevos en las heces al aumentar la carga parasitaria también fue observada por Calamel y Giauffret (1976) y Rojo-Vázquez *et al.* (1981) en ovejas infectadas naturalmente.

El que no se observaran manifestaciones clínicas en los animales del presente estudio puede ser debido a que, según Rojo-Vázquez *et al.* (1981) la presencia de 1000 ejemplares de *D. dendriticum*, o menos, no tiene significación clínica, ni repercusiones económicas. De acuerdo con la clasificación dada por Calamel y Giauffret (1976) la máxima infección de los animales del presente estudio fue ligera y sin incidencias, y en la mayoría de los meses la presencia del parásito fue testimonial sin consecuencias patológicas ni económicas.

Wolff *et al.* (1984) no observaron señales clínicas en ovejas que albergaban hasta 1946 vermes, al igual que Campo *et al.* (2000) en corderos con cargas que oscilaban entre 139 y 570 vermes, incluso en uno que albergaba 2063 parásitos, y Theodorides *et al.* (1999) en animales con cargas de 37 a 8180 vermes, aunque sí observaron lesiones hepáticas. Así, en los estudios anatomopatológicos realizados en dichos animales, Wolff *et al.* (1984), Campo (1996) y Ferreras *et al.* (1997) detectaron: colangitis y colangiectasia de los conductos biliares septales y hepático; hiperplasia y aumento de la actividad secretora, así como atrofia y necrosis, en el epitelio ductal, debido a la irritación mecánica del parásito y al efecto erosivo de su ventosa; hepatitis portal de tipo granulomatosa asociada a fibrosis portal, septal y perisinusoidal y degeneración vacuolar de los hepatocitos.

El menor porcentaje de muestras positivas a *D. dendriticum* durante todo el año lo tuvo el grupo tratado con ABZ en noviembre y abril (G1), seguido muy de cerca por el tratado en enero (G2), y en último lugar por el tratado en abril (G3), que fue

considerado grupo testigo por no haber recibido tratamiento durante el otoño-invierno, periodo en el que se produce la mayor eliminación de huevos del parásito por el ganado ovino en la provincia de León (Manga-González *et al.*, 1991). Sin embargo, cuando se tuvo en cuenta la media de HPG del conjunto de muestras positivas y negativas, el valor más bajo se detectó en el G2, seguido del G1 y del G3. En la evaluación realizada de cada tratamiento, en un tiempo inferior al periodo de prepatencia, el valor más elevado del efecto extensión se obtuvo en el tratamiento de noviembre (81.%), mientras que el más alto del efecto intensidad se observó en enero.

Por tanto, si tenemos en cuenta el comportamiento de los tres grupos de animales en la eliminación de huevos durante todo el periodo, parece que el tratamiento en el mes de **enero** (G2) es el más efectivo contra *D. dendriticum*, por ser el que reduce la eliminación de los huevos en mayor grado, y, además, por hacerlo en la época en la que, debido a las bajas temperaturas, su viabilidad en el campo es más elevada (Alunda y Rojo-Vázquez, 1983). En enero, en ausencia de reinfección, la mayor parte de las metacercarias ingeridas por los animales hasta noviembre, cuando las hormigas inician su hibernación (Manga-González *et al.*, 2001), ya han podido convertirse en vermes adultos capaces de eliminar huevos, por lo que el antihelmíntico, debe ser más efectivo. El que se siguieran detectando algunos huevos en el muestreo siguiente pudo ser debido a que la eficacia del albendazol contra los vermes de *D. dendriticum* no es del 100% (Himonas y Liakos, 1980; Cordero del Campillo *et al.*, 1982; Schuster y Hiepe, 1993), y que, además, podría existir algún grado de resistencia del parásito al tratamiento con ABZ o un retardo en el periodo prepatente, tal como señalaron, para otro parásito, Boray (1990) y Overed y Bowen (1995).

De acuerdo con los resultados obtenidos, la segunda pauta de tratamiento a recomendar sería la seguida en el G1, es decir, tratar en **noviembre** cuando comienza el periodo de hibernación de las hormigas (Manga-González *et al.*, 2001), para eliminar los vermes adultos, puesto que el producto no actúa contra las fases inmaduras que puedan albergar los animales, y aplicar otro tratamiento posterior, en **abril**, para eliminar los vermes restantes que hayan madurado hasta entonces. No obstante, este

segundo tratamiento tiene el inconveniente de no reducir la eliminación durante el invierno.

El tratamiento aplicado únicamente en **abril** al G3 (testigo), fue el modelo quimioterapéutico menos adecuado, pues no redujo la eliminación de huevos en el periodo final del otoño-invierno, época en la que es más elevada (Manga-González *et al.*, 1991). Por ello, la contaminación de los pastos con huevos viables será muy elevada en la primavera, ya que las temperaturas bajas del invierno no los afectan, lo que propiciará la infección de los moluscos huéspedes intermediarios, que en esa época empiezan a estar activos y son muy abundantes (Manga-González, 1987; Manga-González *et al.*, 2001). Además, a partir de marzo la eliminación desciende de manera natural hasta que vuelve a incrementarse nuevamente en el otoño (Manga-González, *et al.*, 1991). En la primavera los animales pueden ya reinfectarse con las hormigas parasitadas que sobrevivieron al invierno (Tarry, 1969; Badie, 1978) y, posteriormente, con otras infectadas ese mismo año desde que finaliza su periodo de hibernación (Manga-González *et al.*, 2001). Asimismo hay que tener en cuenta que la viabilidad de los huevos se reduce a medida que van aumentando las temperaturas, pudiendo llegar a un 100% de mortalidad en los meses calurosos del verano (Alunda y Rojo-Vázquez, 1983). Conviene resaltar que, a partir de mayo, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos tratados en abril y el grupo tratado en enero. Por otra parte, el incremento de la eliminación de huevos en el invierno y el descenso a partir de marzo en el grupo que no recibió tratamiento hasta abril (G3) coincide con lo observado por Manga-González *et al.* (1991).

Los resultados obtenidos corroboran nuestra hipótesis de trabajo, basada en los estudios epidemiológicos realizados en León (Manga-González, 1987; Manga-González *et al.*, 1991, 2001; Cabanas, 1995) y coinciden, en cierto modo, con lo señalado por Schuster y Hiepe (1993) quienes eligieron realizar sus estudios (en Alemania) sobre la eficacia del albendazol, luxabendazol y netobimin frente a *D. dendriticum* en invierno, debido al efecto selectivo de los (pro)benzimidazoles principalmente sobre los vermes maduros. Dichos autores consiguieron reducciones en la carga de vermes de 92.9% y 94%, con dosis de 15 y 20 mg/kg de albendazol,

respectivamente. Tharaldsen y Wethe (1980) estudiaron la reducción en la eliminación de huevos de *D. dendriticum* por ganado ovino, al que aplicaron dos tratamientos de albendazol (dosis de 10 a 12 mg/kg), con un intervalo de una semana, al comienzo de la estabulación en noviembre. De acuerdo con los análisis coprológicos realizados semanalmente durante el periodo de estabulación de los animales, la reducción en la eliminación de huevos fue del 90%, cifra superior a la obtenida por nosotros en los tres tratamientos realizados en noviembre. Esto pudo ser debido a que una mayor proporción de vermes fueran ya adultos cuando se inició el periodo de estabulación en noviembre, puesto que los experimentos de Tharaldsen y Wethe (1980) se llevaron a cabo en Noruega, país más frío que España, por lo que es de suponer que la hibernación de las hormigas comenzara antes que en León.

Los resultados de nuestras investigaciones no coinciden demasiado con las recomendaciones realizadas por Cordero del Campillo *et al.* (1982) quienes, basándose en los trabajos epidemiológicos de Wolff (1976) en Alemania y Badie (1978) en Francia, consideraron que el tratamiento administrado al final de la primavera/principio del verano contribuye eficazmente a eliminar un gran número de parásitos, y que es recomendable repetirlo en otoño para eliminar la población residual.

De igual forma, nuestros resultados no confirman parte de la hipótesis expresada, en un trabajo de revisión realizado en España por Meana y Gómez-Bautista (1995), de que el tratamiento administrado en la primavera, repetido durante varios años, puede disminuir el nivel de infección de los huéspedes intermediarios, y que un segundo tratamiento aplicado a mediados del otoño tendría como objetivo reducir las cargas parasitarias y, de forma indirecta, las pérdidas económicas que ocasiona la dicroceliosis. Sin embargo, de acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio y con los datos epidemiológicos realizados previamente en la misma provincia de León, el tratamiento de la primavera es muy poco eficaz en el control de esta parasitosis.

Por otra parte, Ambrosi *et al.* (1995) señalan que un solo tratamiento estratégico (con tiofanato) administrado al final de invierno o principio de primavera, durante 5 años, produjo un control efectivo de la infección por *D. dendriticum* en 100 rebaños de

la región de Umbria en Italia. A nuestro juicio los tratamientos que aplicaron en el invierno debieron ser más efectivos que los de primavera, puesto que Ambrosi y Principato (1981) habían señalado anteriormente la existencia de un fuerte incremento en el número de huevos por gramo de *D. dendriticum* en otoño, y la máxima eliminación en invierno y comienzos de primavera. Cordero del Campillo *et al.* (1982) probaron la eficacia del ABZ en ganado ovino de la provincia de León (España) infectado naturalmente con *D. dendriticum*. No obstante, es difícil poder sacar conclusiones de los resultados obtenidos por estos autores, en cuanto a la influencia de la época del tratamiento en la reducción de los vermes de *D. dendriticum*, debido a las distintas dosis y pautas de administración utilizadas, pero aún es más difícil poder comparar sus resultados sobre la reducción en la eliminación de huevos con los obtenidos en el presente trabajo. Los autores, que realizaron experimentos al final de marzo y comienzo de noviembre del mismo año y a mediados de mayo del año siguiente, comentan que el esquema general de eliminación de huevos siguió un perfil similar en los tres ensayos, aunque la dosis de 10 mg/kg redujo más la eliminación de huevos que la de 7.5 mg/kg y el efecto de la repetición de la dosis fue más ligero en los ensayos primero y tercero, y más notable en el segundo. No obstante señalan que las importantes variaciones observadas en la eliminación de huevos de un animal respecto a otro, obligan a tener reservas sobre la estimación del antihelmíntico basada únicamente en este tipo de investigación, incluso cuando se ha trabajado con lotes importantes de animales que permiten un tratamiento estadístico de los resultados. Los autores comentan que los animales tratados tenían una proporción mayor de huevos que parecían anormales, aunque no intentaron demostrar la existencia de una acción ovicida. En cuanto a la carga parasitaria que observaron en la autopsia, la reducción más baja de los vermes (expresada en media geométrica) la obtuvieron en el grupo de animales tratados a finales de marzo, con dos dosis de 7.5 mg/kg administradas con un intervalo de 7 días (82.43%-85.54%), mientras que la más alta se observó en el grupo que recibió, a principios de noviembre, dos dosis de 10 mg/kg con un intervalo de 7 días (94.05%). De los resultados obtenidos por Cordero del Campillo *et al.* (1982) parece deducirse que la reducción de vermes fue menor cuando los tratamientos se aplicaron a finales de marzo y mediados de mayo, que cuando se hizo en noviembre, lo que coincide con los resultados hallados en el presente trabajo.

Himonas y Liakos (1980) estudiaron la reducción de vermes de *D. dendriticum* en ganado ovino infectado naturalmente, mediante la aplicación de ABZ a las dosis de 15 mg/kg (intraruminal) y 20 mg/kg (intraruminal y oral), y obtuvieron reducciones del 99.6% y 98.2%, respectivamente. Los autores comentan que realizaron los experimentos a finales de noviembre de 1978 y comienzos de junio de 1979, pero en la publicación no está claro qué experimentos hicieron en cada época, por lo que, en nuestra opinión, es imposible sacar alguna conclusión al respecto, que pueda ser comparada con los resultados obtenidos en el presente trabajo.

La información obtenida sugiere, que la pauta de tratamiento que reduce más la eliminación de huevos de *D. dendriticum*, en el periodo en que dicha eliminación es más elevada y en el que la supervivencia de los huevos es mayor, es la aplicada al G2, tratado en enero (modelo 2). La siguiente pauta más adecuado es la del G1, con tratamiento en noviembre y abril (modelo 1), mientras que la del G3, con tratamiento únicamente en abril (modelo 3), es la menos efectiva.

Agradecimientos

Estudio financiado por CICYT española, Proyecto AGF92-0588.

Año sabático en España financiado por la DGICYT Ref. SAB 94-0139.

A R. Vega, Lic. en veterinaria, a L.M. Carcedo y C. Espiniella, técnicas del laboratorio de parasitología, y H. Fidalgo, J. Fuentes, L. Pérez y A. Merino, personal de la finca experimental, todos miembros de la Estación Agrícola Experimental del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) en León, España. Asimismo a J. Soto, propietario del rebaño.

Literatura citada

Alunda, J.M. and Rojo-Vázquez, F.A., 1983. Survival and infectivity of *Dicrocoelium dendriticum* eggs under field conditions in NW Spain. *Vet. Parasitol.*, 13: 245-249.

- Ambrosi, M. & Principato, M., 1981. Dicroceliosi ovina: variazioni stagionali della positività coproscopica in animali spontaneamente parassitati. *Obiettivi e Documenti Veterinari*, 10: 55-56.
- Ambrosi, M., Grelloni, V. & Botta, G., 1995. Efficacia dei trattamenti sistematici strategici contro la dicroceliosi ovina. *Obiettivi e Documenti Veterinari*. 16: 69-71.
- Badie, A., 1978. La dicroceliose ovine: Incidence des facteurs climatiques et contribution à la mise au point d'une méthode de prévision. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 53: 373-385.
- Boray, J.C., 1990. Drug resistance of *Fasciola hepatica*. Resistance of parasites to antiparasitic drugs. Round Table Conference. VII International Congress of Parasitology. Paris, (1990) 51-60.
- Cabanas, D.M.E., 1995. Estudio del ciclo biológico de *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Loos, 1899 en condiciones naturales (tesis de Doctor en Biología), *Universidad de León*. León España.
- Calamel, M., 1976. La dicroceliose ovine et caprine dans le Sud-Est de la France. *Rev. Méd. Vét.*, 127: 1529-1536.
- Calamel, M. & Giauffret, A. 1976. Interprétation des résultats dans le diagnostic coproscopique de la dicrocoeliose. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 152: 99-104.
- Campo, R., 1996. Estudios experimentales sobre la dicroceliosis. (tesis de Doctor en Veterinaria), *Universidad de León*, España, 1996.
- Campo, R., Manga-González, M.Y. and González-Lanza, C., 2000. Relationship between egg output and parasitic burdens in lambs experimentally infected with different doses of *Dicrocoelium dendriticum* (Digenea). *Vet. Parasitol.*, 87: 139-149.
- Corba, J., Krupicer, I., 1992. Efficacy of intraruminal albendazole boluses against *Dicrocoelium dendriticum* in sheep. *Parasitol. Res.*, 78: 640-642.
- Cordero del Campillo, M., Rojo-Vázquez, F.A., Díez Baños, P. & Chaton Schaffner, M., 1982. Efficacité de l'albendazole contre une infestation naturelle à *Dicrocoelium dendriticum* chez le mouton. *Rev. Méd. Vét.*, 133: 41-49.
- Cordero del Campillo, M., Castañón-Ordóñez, L. y Reguera-Feo, A., 1994. Índice-Catálogo de Zooparásitos Ibéricos. *Secretariado de Publicaciones de la Universidad de León*, España.

- Daniel, W.W., 1984. Bioestadística. Bases para el análisis de las ciencias de la salud. *Limusa*. México pp. 377-387.
- Del Río, J., 1967. Epizootiología de la dicroceliosis en la provincia de León. *An. Fac. Vet. León*, 13: 211-253.
- Eckert, J., Schneiter, G. und Wolff, K., 1984. Fasinex (Triclabendazol) ein neues Faszioleizid. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*, 97: 349-356.
- Eckert, J. und Hertzberg, H., 1994. Parasite control in transhumant situation. *Vet. Parasitol.*, 54: 103-125.
- Ferre, I., Ortega-Mora, L.M. and Rojo-Vázquez, F.A., 1994. Prevalence of *Dicrocoelium dendriticum* infection in sheep in Leon province (NW) Spain. *Prev. Vet. Med.*, 21: 147-154.
- Ferreras, M.C., García-Iglesias, M.J., Manga-González, M.Y., Pérez, C., Campo, R., González-Lanza, C., Escudero, A. & García-Marín, J.F., 1997. Lesiones hepáticas en corderos infectados experimentalmente con *Dicrocoelium dendriticum*. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 4: 86.
- García-Pérez, A.L. y Juste-Jordán, R.A., 1987. Helmintos parásitos de la oveja en el País Vasco. *Rev. Ibér. de Parasitol.*, Vol. Ext., 105-107.
- Greenberg, R., Daniels S.R., Flanders, D.W., Elay, W.J., Boring, R.J., 1998. Epidemiología Médica. Manual Moderno 2ª edición, México, pp.122-123.
- González-Lanza, C., Manga-González, M.Y. and Del Pozo-Carnero, P., 1993. Coprological study of the *Dicrocoelium dendriticum* (Digenea) egg elimination by cattle in highland in Leon province (NW). *Parasitol. Res.*, 79: 488-491.
- Himonas, C.A. & Liakos, V., 1980. Efficacy of albendazole against *Dicrocoelium dendriticum* in sheep. *Vet. Rec.*, 115: 288-289.
- Jithendran, K.P., Bhat, T.K., 1996. Prevalence of dicrocoeliosis in sheep and goats in Himachal Pradesh, India. *Vet. Parasitol.*, 61: 265-271.
- Kalkan, A., 1970. *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Loos, 1899. Un biyolojisi; dicrocoeliasis' de epizootioloji; tedari ve profilaksi. *Etlik Veteriner Bacteriyoloji; Institüsü Dergisi.*, 3: 97-109.
- Malek, E.A., 1980. Snail-Transmitted Parasitic Diseases. *CRP. Press, Inc. Florida*, Vol. II: pp. 324.

- Manga-González, M.Y., 1987. Some aspects of the biology and helminthofauna of *Helicella (Helicella) itala* (Linnaeus, 1758) (Mollusca). Natural infection by Dicrocoeliidae (Trematoda). *Rev. Ibér. Parasitol.*, vol. Extraordinario: 131-148.
- Manga-González, M.Y., González-Lanza, C., Del Pozo-Carnero, P., 1991. Dynamics of the elimination of *Dicrocoelium dendriticum* (Trematoda, Digenea) eggs in the faeces of lambs and ewes in the Porma basin (Leon NW. Spain) *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 66: 57-61.
- Manga-González, M.Y., Ferre, Y & Luzón, M., 1995. Dicrocoeliosis: epidemiología. *Ovis*. 39: 23-33.
- Manga-González, M.Y. y Quiroz R.H., 1999. Dicrocoeliosis. En Cordero del Campillo, M., & Rojo-Vázquez, F., editores. *Parasitología Veterinaria*. McGraw-Hill. Interamericana, pp. 272-282.
- Manga-González, M.Y., González-Lanza, C., Cabanas, E., & Campo, R., 2001. Contribution to and review of dicrocoeliosis, with special reference to the intermediate hosts of *Dicrocoelium dendriticum*. *Parasitology*, 123: S91-S114.
- Meana, A. y Gómez-Bautista, M., 1995. Tratamiento, profilaxis y control de dicrocoeliosis. *Ovis*, 39: 53-58.
- Overed, L.D. and Bowen, F.L., 1995. Resistance of *Fasciola hepatica* to triclabendazole. *Aust. Vet. J.*, 72: 275-276.
- Rojo-Vazquez F.A., Cordero del Campillo M., Diez-Baños P., Chaton-Schaffner M., 1981. Relation existant entre le nombre d'oeuf dans les feces et la charge parasitaire lors des infestations naturelles a *Dicrocoelium dendriticum* chez les ovins. *Rev. Méd. vét.*, 132: 601-607.
- Ronald, P.C., Jeff, S.K., 1991. *Applied Statistic and the Proqraming Language* 3th Edition, Elsevier Science Publishing, New York, USA. 1991.
- Schuster, R. und Hiepe, Th., 1993. Bekämpfung der Dicrocoeliose beim Schaf. *Vet. Med.*, 48:657-661.
- Stuhberg, E., Nichel, S. & Hiepe, Th., 1975. *Dicrocoelium dendriticum* beim im DDR-Bezirk Frankfurt/Oder. *Angewndte Parasitologie*, 16:129-135.
- Stratan, N.M., 1986. Efficacy of acemidophen against *Dicrocoelium dendriticum* in sheep. *Byulleteb-Vsesoyuznogo Instituta Gel'mintologii-* In K.I. Skryabina, 4264-66.

- Tarry, D.W., 1969. *Dicrocoelium dendriticum*: the life cycle in Britain. *J. Helminthol.*, 43: 403-416.
- Tharaldsen, J., Wethe, J.A., 1980. A field trial with albendazole against *Dicrocoelium lanceolatum* in sheep. *Nord. Veterimed.*, 32: 308-312.
- Theodorides, Y., Sotiraki, S., Papadopoulus, E., 1999. Observations on the blood figure of sheep infected with *Dicrocoelium dendriticum*. *Bull. Hellenic Vet. Med. Soc.*, 50: 300-304.
- Wolff, K., (1976). Zur Epizootiologie der Dicroceliose des Schafes. *Berl. Münch. Tierärztl. Wsch.*, 98: 272-276.
- Zar, J.H., 1996. Bioestatistical Analysis. Englewood Cliff. New Jersey. Ed. Prectice Hall, pp. 622.

Cuadro 1

PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HPG DE *D. dendriticum* EN GANADO OVINO
TRATADO CON ALBENDAZOL EN NOVIEMBRE Y ABRIL (GRUPO1)

M	Valores de muestras positivas y negativas					Valores únicamente de muestras positivas			
	% de muestras positivas	Media \pm e.e.	Rango	C.V	% RT vs M1	Media \pm e.e.	Rango	C.V.	% RT vs M1
M1 nov.	100.0	121.3 \pm 15.1a*	33-367	78.1	0.0	121.3 \pm 15.1	33-367	78.1	0.0
M2 ene.	81.0	79.2 \pm 11.6b	0-300	89.4	34.7	97.7 \pm 12.0	33-300	67.5	19.4
M3 feb.	73.5	91.1 \pm 15.3bc	0-267	97.9	24.8	124.0 \pm 16.4	33-267	66.1	-2.8
M4 abr.	62.5	54.6 \pm 16.1cd	0-500	167.2	54.9	87.4 \pm 23.0	33-500	117.1	27.0
M5 may	50.0	27.6 \pm 6.1d	0-133	133.3	77.1	55.3 \pm 8.1	33-133	62.0	54.3
M6 jul.	33.3	20.1 \pm 5.9de	0-133	169.9	83.3	60.5 \pm 9.9	33-133	54.1	50.1
M7 ago.	61.2	60.1 \pm 15.5cd	0-433	144.0	50.4	98.1 \pm 21.2	33-433	94.3	19.1
M8 sep.	41.3	23.0 \pm 5.7de	0-100	135.1	81.0	55.5 \pm 6.3	33-100	39.5	54.2
M9 oct.	43.7	29.1 \pm 12.8c	0-200	184.5	76.0	72.1 \pm 26.4	33-200	89.7	45.1
M10 nov	96.2	143. \pm 24.1bc	0-500	87.5	-17.9	148.6 \pm 24.4	33-500	83.7	-22.5

M= muestreos.

* Valores con distinta letra denotan diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$).

C.V. = Coeficiente de variación.

%RTvsM1= Porcentaje de reducción de tasa de la media de HPG de los diferentes muestreos vs el muestreo 1.

Cuadro 2

**PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HPG DE *D. dendriticum* EN GANADO OVINO
TRATADO CON ALBENDAZOL EN ENERO (GRUPO 2)**

M	Valores de muestras positivas y negativas					Valores de muestras positivas			
	% de muestras positivas	Media \pm e.e.	Rango	C.V.	% RT vs M1	Media \pm e.e.	Rango	C.V.	% RT vs M1
M1 nov.	100.0	108.3 \pm 12.3a*	33-267	64.5	0.0	108.3 \pm 12.3	33-267	64.5	0.0
M2 ene.	82.7	113.7 \pm 15.9 ab	0-267	75.3	-4.9	137.4 \pm 15.2	33-267	54.2	-26.8
M3 feb.	48.1	29.6 \pm 7.8 cd	0-167	137.5	72.6	61.5 \pm 10.6	33-167	62.4	43.2
M4 abr.	47.8	28.9 \pm 8.7cd	0-167	144.6	73.2	60.5 \pm 12.6	33-167	69.2	44.1
M5 may	36.0	22.6 \pm 9.7 cd	0-233	215.6	79.1	62.7 \pm 21.8	33-233	104.3	42.0
M6 jul.	47.8	27.4 \pm 10.3 cd	0-233	181.6	74.6	57.3 \pm 18.0	33-233	104.2	47.0
M7 ago.	36.3	19.6 \pm 7.2 d	0-133	170.8	81.8	54.0 \pm 12.5	33-133	65.5	50.1
M8 sep.	43.4	24.5 \pm 7.1b	0-100	142.9	77.3	56.5 \pm 11.2	33-100	56.2	47.8
M9 oct.	62.5	31.1 \pm 10.3 cd	0-167	132.7	71.2	49.8 \pm 13.4	33-167	85.4	54.0
M10 nov.	80.0	135.0 \pm 25.2 d	0-400	83.8	-24.6	168.7 \pm 25.1	33- 400	59.6	-55.8

M= muestreos.

* Valores con distinta letra denotan diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$).

C.V. = Coeficiente de variación.

%RTvsM1= Porcentaje de reducción de tasa de la media de HPG de los diferentes muestreos vs el M1.

**ESTA TESIS NO SALIÓ
DE LA BIBLIOTECA**

Cuadro 3

PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HPG DE *D. dendriticum* EN GANADO OVINO
 TRATADO CON ALBENDAZOL EN ABRIL (GRUPO 3, TESTIGO)

M	Valores de muestras positivas y negativas					Valores de muestras positivas			
	% de muestras positivas	Media \pm e.e.	Rango	C.V.	% RT vs M1	Media \pm e.e.	Rango	C.V.	% RT vs M1
M1 nov.	100.0	110.1 \pm 12.4 a *	33-267	62.8	0.0	110.1 \pm 12.4	33-267	62.8	0.0
M2 ene.	87.5	216.3 \pm 55.8 a	0-1249	124.7	-96.3	247.2 \pm 60.0	33-1249	111.2	-124.3
M3 feb.	95.8	112.3 \pm 16.1 a	0-267	70.4	-1.9	117.1 \pm 6.1	33-267	65.8	-6.4
M4 abr.	69.5	81.0 \pm 22.2 a b	0-366	131.5	26.4	116.5 \pm 7.7	33-266	95.1	-5.7
M5 may.	42.1	22.7 \pm 7.2 bc	0-100	138.5	79.3	54.1 \pm 8.9	33-100	46.2	59.8
M6 jul.	50.0	25.9 \pm 6.9 bc	0-67	113.2	76.4	51.8 \pm 5.9	33- 67	34.5	52.9
M7 ago.	56.2	72.8 \pm 31.2 bc	0-467	171.4	33.8	129.5 \pm 48.3	33-467	111.8	-17.5
M8 sep.	61.1	44.2 \pm 13.1 bc	0-167	126.4	59.8	72.4 \pm 16.7	33-167	76.6	34.2
M9 oct.	37.5	51.7 \pm 28.9 c	0-233	167.5	73.5	116.5 \pm 50.4	33-233	85.9	29.5
M10 nov.	100.0	144.0 \pm 27.1 ab	33-367	72.9	-30.6	144.0 \pm 27.1	33-267	72.9	-30.6

M= muestreos.

* Valores con distinta letra denotan diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$).

C.V. = Coeficiente de variación.

%RTvsM1= Porcentaje de reducción de tasa de la media de HPG de los diferentes muestreos vs el muestreo 1.

Cuadro 4

PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DE TASA DE LA MEDIA DE HPG DE *D. dendriticum* vs G3 (TESTIGO) EN TRES GRUPOS DE GANADO OVINO TRATADO CON ALBENDAZOL EN DIFERENTES MESES

Muestreos	Valores de muestras positivas y negativas			Valores de muestras únicamente positivas		
	Grupo 1 tratado en noviembre y abril	Grupo 2 tratado en enero	Grupo 3 tratado en abril (testigo)	Grupo 1 tratado en noviembre y abril	Grupo 2 tratado en enero	Grupo 3 tratado en abril (testigo)
M1 nov.	-10.0	1.7	0	-10.1	1.7	0
M2 ene.	63.3	47.4	0	60.4	44.4	0
M3 feb.	18.8	73.6	0	-5.7	47.4	0
M4 abr.	32.6	64.3	0	24.9	48.0	0
M5 may.	-21.5	0.8	0	-2.3	-15.9	0
M6 jul.	22.2	-5.7	0	-16.69	-10.5	0
M7 ago.	17.4	73.0	0	-232.1	57.9	0
M8 sep.	51.9	44.5	0	23.2	22.0	0
M9 oct.	43.7	39.8	0	14.2	35.9	0
M10 nov.	0.57	6.2	0	-3.2	-17.1	0

Cuadro 5

EFFECTO EXTENSIÓN (E.E.) Y EFFECTO INTENSIDAD (E.I.) DEL ALBENDAZOL
 EN LA ELIMINACIÓN DE HPG DE *D. dendriticum* EN GANADO OVINO
 TRATADO EN DIFERENTES MESES

Muestreos	Grupo 1 tratado en noviembre y abril		Grupo 2 tratado en enero		Grupo 3 tratado en abril (testigo)	
	E.E.	E.I.	E.E.	E.I.	E.E.	E.I.
M1 noviembre	ABZ	ABZ				
M2 enero	81.0 %	34.7 %	ABZ	ABZ		
M3 febrero.			41.4 %	73.9 %		
M4 abril	ABZ	ABZ			ABZ	ABZ
M5 mayo	20.0 %	49.3 %			39.4 %	71.9 %

ABZ = Tratamiento con albendazol

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

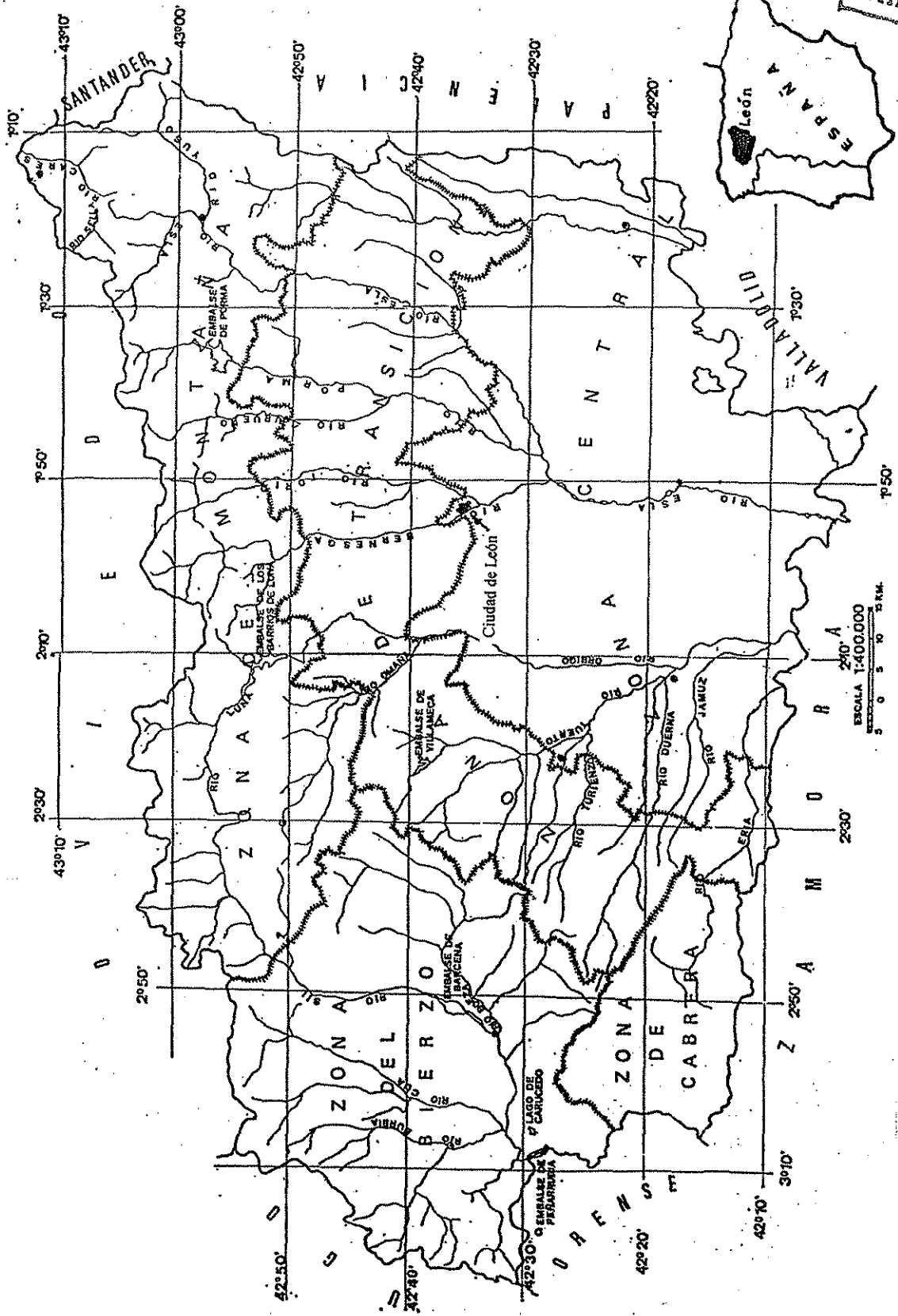


Figura 1. Mapa de España y de la Provincia de León con la localización de la Ciudad de León (Manga-González, 1983). Grulleros está situado a 10 km al sur de dicha ciudad,

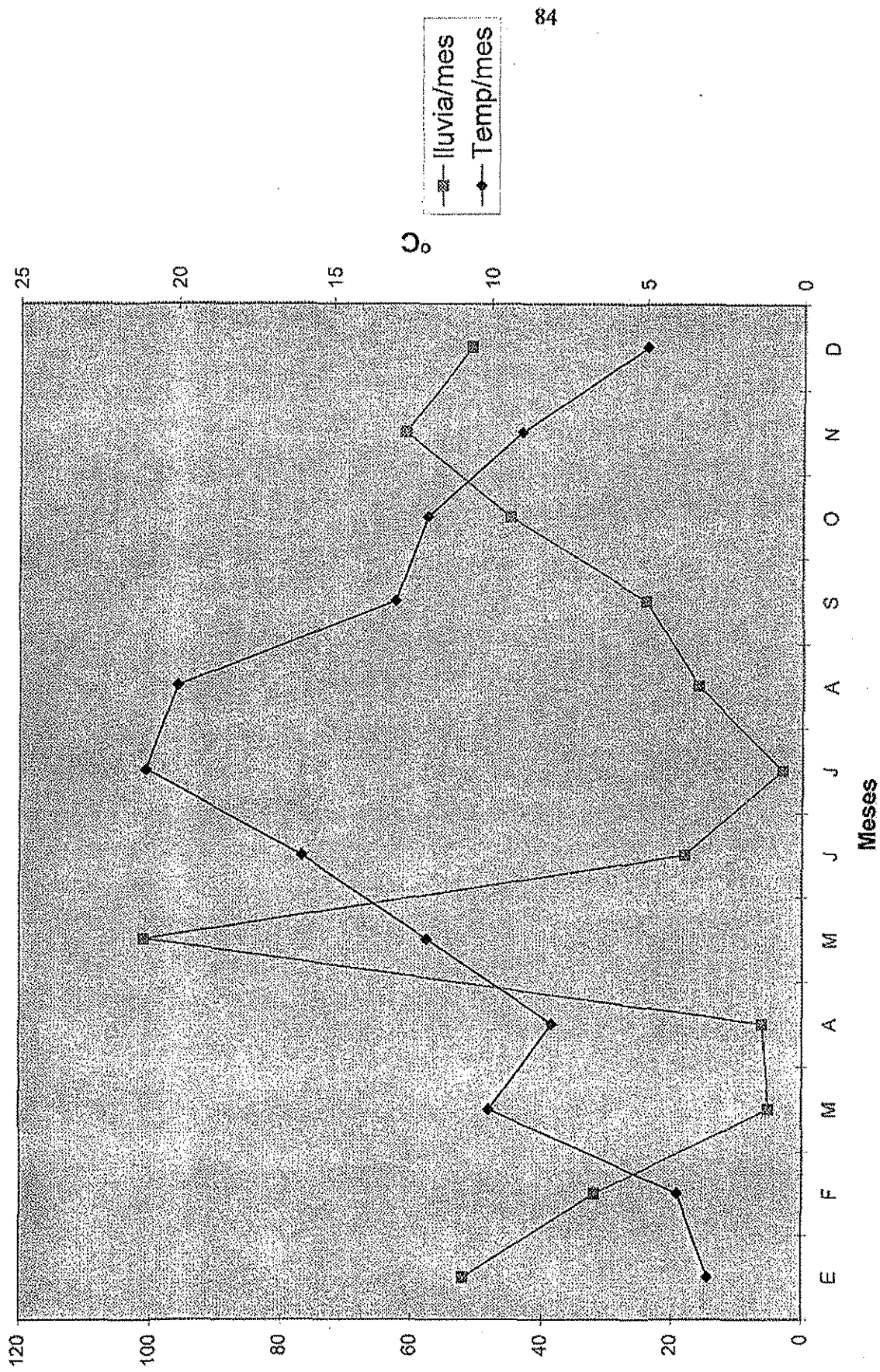


Figura 2. Precipitación pluvial y temperatura media mensuales en León, España.

3.1.2. Valoración de modelos de control estratégico contra *Dicrocoelium dendriticum* en ganado ovino

Quiroz, R.H., Manga-González, M.Y., Campo, R., y Ochoa, G.P.

* Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, 04510 México, D.F., México.

** Estación Agrícola Experimental, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Apartado 788, 24080-León, España.

Abstract

In order to evaluate the optimal months for the administration of a strategic treatment regimen with albendazole (ABZ) in sheep aimed at significantly reducing the passage *D. dendriticum* eggs onto the pasture, three models of chemotherapy control were designed and administered to three groups (G) of naturally infected sheep (G1=38, G2=39, and G3=31) located in Grulleros, Leon, Spain. G1 was treated with ABZ (dose of 20 mg/kg bodyweight administered orally) in November and January (model 1), G2 in November and February (model 2) and G3 in April (model 3, control). The first treatment was administered in November 1993. Faeces samples were collected from all animals every 35 at 45 days during 13 months. Three grams of each sample were processed by sedimentation method and McMaster chambers were used for the egg count. The treatments administered in November, January, February and April significantly reduced ($P \leq 0.05$) faecal egg output. The percentage of positive samples in G1 oscillated between 100 % and 20.0 %; in the G2 from 100 % at 30 %; and the G3 from 100 % at 37.5 %. The mean value of eggs per gram of faeces (EPG) fluctuated in G1 from 7.7 ± 3.1 to 159.2 ± 52.1 ; in the G2 from 16.6 ± 5.2 to 160.8 ± 46.4 ; and in G3 from 22.8 ± 7.2 at 216.3 ± 55.8 . Considering the mean EPG among the 3 groups the improvement percentage was 44.3 % in the G1, 33.6 % in the G2 and 0 % for the G3 (control). These results suggest what the model 1 (treated in November and January) showed the best

behaviour regarding the reduction of faecal egg output, followed by model 2 (treated in November and February, and finally by model 3 (treated in April, control).

Key words: *Dicrocoelium dendriticum*, SHEEP, CONTROL, STRATEGIC, ALBENDAZOLE, SPAIN.

Resumen

Con la finalidad de precisar los meses idóneos para aplicar el tratamiento estratégico con albendazol (ABZ) en ganado ovino, para reducir al máximo la eliminación de huevos de *D. dendriticum*, se diseñaron 3 modelos que se aplicaron a 3 grupos (G) de ovejas (G1=38 animales, G2=39 y G3=31) infectadas de manera natural localizadas en Grulleros, León, España. El G1 fue tratado con ABZ (dosis de 20 mg/kg de peso vivo, por vía oral) en noviembre y enero (modelo 1), el G2 en noviembre y febrero (modelo 2) y el G3 en abril (modelo 3 testigo). Entre 35 y 45 días se realizaron exámenes coprológicos durante 13 meses. El primer tratamiento se administró en noviembre de 1993. Se tomaron muestras de heces de todos los animales cada 35-45 días durante 13 meses. Se procesaron 3 gramos de cada muestra por sedimentación y se realizó el recuento de huevos en cámaras McMaster. Los tratamientos administrados en noviembre, enero, febrero y abril redujeron significativamente la eliminación de huevos ($P \leq 0.05$). El porcentaje de muestras positivas osciló: en el G1 de 100 % a 20.3 %; en el G2, de 100 % a 30 %; y en el G3, de 100 % a 37.5 %. En el conjunto de muestras positivas y negativas, la media de huevos por gramo (HPG) fluctuó: en el G1, de 7.7 ± 3.1 a 159.2 ± 52.1 ; en el G2, de 16.6 ± 5.2 a 160.8 ± 46.4 ; y en el G3 (testigo), de 22.8 ± 7.2 a 216.3 ± 55.8 . Considerando la media de HPG en los 3 grupos, el porcentaje de reducción de tasa vs testigo fue 44.3 % en el G1, 33.6 % en el G2, y de 0 % en el G3 (testigo). Estos resultados sugieren que el modelo 1, (tratado en noviembre y enero), mostró el mejor comportamiento en la reducción de eliminación de HPG, seguido por el modelo 2, (tratado en noviembre y febrero), y finalmente el modelo 3 (tratado en abril, testigo).

Palabras clave: *Dicrocoelium dendriticum*, OVINOS, CONTROL, ESTRATÉGICO, ALBENDAZOL, ESPAÑA.

Introduction

La dicroceliosis es una trematodosis hepática ampliamente difundida en herbívoros, particularmente rumiantes domésticos y silvestres, que causa pérdidas directas, por el decomiso de hígados afectados (Del Río, 1967; Lukin, 1980; Karanfilovski, 1983), e indirectas por los trastornos digestivos de las alteraciones hepatobiliares, tales como disminución del peso de los animales (Boray, 1985), retraso en el crecimiento (Hohorst y Lämmler, 1962) y reducción en la producción de leche (Cavani *et al.* (1982). En España el agente causal de dicha enfermedad es *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Loos, 1899 (Digenea, Dicrocoeliidae). Como es sabido este digenea utiliza en su ciclo biológico diversas especies de gasterópodos terrestres y de hormigas como primeros y segundos huéspedes intermediarios respectivamente (Rosicky y Groschaft, 1982; Manga-González *et al.*, 2001).

El ciclo biológico ocurre en la naturaleza con cierta cronología, determinada principalmente por la presencia, etología y receptividad al parásito de los huéspedes definitivos e intermediarios, las prácticas de manejo zootécnico, el clima, el tipo de suelo y la vegetación (Manga-González, 1997; Manga-González y Quiroz, 1999).

Para el control quimioterapéutico de la dicroceliosis en una zona determinada es necesario estudiar previamente su epidemiología, con el fin de conocer el proceso de la transmisión parasitaria y así poder elegir las épocas idóneas para la aplicación a los animales de antihelmínticos eficaces contra estadios adultos e inmaduros. Sin embargo, es necesario realizar el trabajo de campo y la valoración económica.

De acuerdo a las investigaciones previas realizadas sobre la transmisión parasitaria de *D. dendriticum* en la provincia de León (España), lugar donde se ha realizado el presente trabajo, la eliminación de huevos de este trematodo con las heces de los rumiantes se produce ininterrumpidamente a lo largo de todo el año, pero los valores

más elevados se detectan a finales del otoño y el invierno (Manga-González *et al.*, 1991; González-Lanza *et al.*, 1993). En dichas épocas la supervivencia de los huevos de *D. dendriticum* en la provincia de León es muy elevada, debido a las bajas temperaturas (Alunda y Rojo-Vázquez, 1983), por lo que la contaminación de los pastos con huevos viables es muy grande en la primavera, cuando los moluscos son muy abundantes y están activos. Además, las hormigas hibernan generalmente entre noviembre y marzo (Manga-González *et al.*, 2001), por lo que en este periodo no se produce reinfección en el ganado en dicho periodo.

Son escasos los trabajos realizados sobre el control de la dicroceliosis y, en su mayoría, se trata de pruebas críticas para la evaluación de la eficacia de antihelmínticos, y no de tratamientos administrados de forma estratégica, teniendo en cuenta la epidemiología de la enfermedad. Por otra parte, a pesar de que se dispone de varios compuestos quimioterapéuticos para el tratamiento de la dicroceliosis (Meana y Gómez-Bautista, 1995), sin embargo, y a diferencia de lo que ocurre con *Fasciola hepatica*, no existen antihelmínticos eficaces contra fases juveniles e inmaduras de *D. dendriticum*, o si alguno tiene eficacia, como es el caso de la dianfenetida, es a una dosis alta (240 mg/kg eficacia del 93-95 %), a la que aparecen efectos secundarios graves después de su administración (Stratan, 1986).

La eficacia del albendazol* (ABZ) uno de los compuestos más ensayados contra *D. dendriticum*, ha variado en función de la dosis y la vía de administración utilizada por los distintos autores. Así, con la dosis de 20 mg/kg Himonas y Liakos (1980), Theodoridas *et al.* (1980) y Schuster y Hiepe (1983) alcanzaron reducciones en el número de vermes del 98.2 % y 94 %, respectivamente. Himonas y Liakos (1980) señalaron, además, una eficacia del 99.6 % con la dosis de 15 mg/kg. Cordero del Campillo *et al.* (1982), quienes probaron diferentes dosis en distintas épocas, obtuvieron una reducción de vermes del 92 % con la dosis de 10 mg/kg (vía oral). Por otra parte, Tharaldsen y Wethe (1980) consiguieron una reducción del 90 % en la eliminación de

*Valbazen, marca registrada por Merck Sharp & Dohme S.A. de C.V.

huevos de *D. dendriticum* por ganado ovino tratado con dosis de 10-12 mg/kg (vía oral), administradas con un intervalo de una semana al comienzo de la estabulación en noviembre.

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto sobre la epidemiología de la dicroceliosis en la provincia de León, España, y sobre la eficacia del ABZ frente a *D. dendriticum*, se iniciaron estudios quimioterapéuticos en ganado ovino infectado naturalmente y mantenido en pastoreo, con el fin de determinar los meses más adecuados para que la aplicación de un número mínimo de tratamientos estratégicos, con albendazol (dosis 20 mg/kg, vía oral) reduzca al máximo la eliminación de huevos por los huéspedes definitivos y, en consecuencia, evite la contaminación de los pastos con huevos viables, que puedan ser ingeridos por los moluscos terrestres, primeros huéspedes intermediarios.

Material y Métodos

El trabajo experimental se inició en octubre de 1993, y se llevó a cabo en un rebaño de aproximadamente 600 cabezas de ganado ovino de las razas Churra, Assaff y cruce de ambas, dedicadas a la producción de leche. Los animales estaban ubicados en una finca en Grulleros, poblado situado en la cuenca del río Bernesga, a 10 km al sur de la ciudad de León, (noroeste de España, Figura 1), y eran sometidos a un sistema de pastoreo diurno en los alrededores, en una extensión de varios kilómetros cuadrados, y estabulación nocturna. La temperatura y la precipitación pluvial mensual de León se presentan en la Figura 2.

Al inicio del experimento se recolectaron muestras de heces del recto de 240 animales del rebaño, entre las 8 y las 12 horas en un solo día. Para realizar el recuento de huevos de *D. dendriticum* por gramo de heces (HPG) se procesaron individualmente 3 g de cada muestra, mediante la técnica de sedimentación y se contaron los huevos en cámaras de McMaster, al microscopio óptico. De esta forma se detectó un 63.7 % de animales positivos a *D. dendriticum* (rango de 33.3 a 1249 HPG; media de 110.2 ± 12.4 a 132.0 ± 17.5), 108 de las cuales se eligieron para conformar 3 grupos (G), de 38 animales el G1, de 39 el G2, y de 31 el G3, que fueron utilizadas en el presente trabajo. Dichos grupos, distribuidos de manera aleatoria eran homogéneos, en cuanto a la

cantidad de HPG, pues entre ellos no se detectaron diferencias estadísticamente significativas.

Los tratamientos dicroclicidas se llevaron a cabo mediante la administración a los animales de ABZ a la dosis de 20 mg/kg de peso corporal, por vía oral. Se establecieron 3 modelos de control quimioterapéutico que se aplicaron a tres grupos de animales de la siguiente forma: El modelo 1, con tratamiento en noviembre de 1993 y enero de 1994, al G1; el modelo 2, con tratamiento en noviembre de 1993 y febrero de 1994, al G2; y el modelo 3, con tratamiento en abril de 1994, al G3. Este último grupo fue considerado como testigo por no haber sido tratado durante el otoño y el invierno, épocas en las que se produce la mayor eliminación de huevos de *D. dendriticum* por el ganado ovino en la provincia de León (Manga-González *et al.*, 1991).

Entre noviembre de 1993 y noviembre de 1994, se efectuó el recuento de HPG en las muestras de todos los animales de los 3 grupos, recolectadas en 10 muestreos efectuados entre 35 a 45 días (intervalo ligeramente inferior al mínimo periodo de prepatencia, 49 días p.i., observado por Campo *et al.* (2000) y procesadas por los mismos métodos descritos con anterioridad. Dichos muestreos (M) se realizaron en noviembre de 1993 (M1), y en 1994: enero (M2), febrero (M3), abril (M4), mayo (M5), julio (M6), agosto (M7), septiembre (M8), octubre (M9) y noviembre de (M10).

Los datos obtenidos en los exámenes coprológicos permitieron seguir el proceso de eliminación de HPG de cada animal y calcular en cada grupo y para cada muestreo, los siguientes parámetros considerando las muestras positivas y negativas conjuntamente: 1/ Porcentaje de muestras positivas a huevos de *D. dendriticum*; 2/ Media de HPG \pm error estándar (e.e.); 3/ Rango de mínima y máxima cantidad de HPG; 4/ Coeficiente de variación; 5/ Porcentaje de reducción de tasa de la media de HPG de los diferentes muestreos vs M1 (%RTvsM1); 6/ Porcentaje de reducción de tasa de la media de HPG por pares vs la media de cada muestreo del grupo testigo, al que se le asignó 0 reducción (%RTvsT); 7/ Porcentaje de reducción de tasa global de la media de HPG de todos los muestreos del grupo vs el grupo testigo. Este parámetro permite saber cuál de los 3

grupos tuvo un mejor comportamiento en la reducción de la eliminación de huevos, considerando por una parte el porcentaje de muestras positivas y por la otra la media de HPG. Los cálculos de los porcentajes de reducción de tasa se hicieron empleando la fórmula señalada por Greenberg *et al.* (1998). Además considerando únicamente el conjunto de muestras positivas de cada grupo se calcularon los parámetros 2, 3, 4 y 5 (las fórmulas empleadas se describen en la página 39).

Por otra parte, se evaluó la eficacia del ABZ contra *D. dendriticum*, únicamente en el muestreo siguiente a aquél en que se aplicó el tratamiento, así: en el G1, los tratamientos administrados en noviembre y enero, se evaluaron en enero y febrero, respectivamente; en el G2, los aplicados en noviembre y febrero se evaluaron en enero el primero y en abril el segundo; y en el G3 (testigo), se evaluó en mayo el tratamiento administrado en abril. La eficacia se midió a través del efecto extensión (E.E.) y el efecto intensidad (E.I.) calculados siguiendo la fórmula utilizada por Eckert *et al.* (1984), pero considerando como testigo el propio grupo en el muestreo el día en que se aplicó el tratamiento (las fórmulas utilizadas se describen en la página 40). El efecto extensión y el efecto intensidad expresados en porcentaje, miden la eficacia del dicrocelicida en la reducción del número de muestras positivas y de la cantidad de HPG eliminados, respectivamente.

Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de Friedman (Daniel, 1984) para comparar por pares los valores de HPG obtenidos en los diferentes muestreos realizados en el mismo grupo y cuando hubo diferencia se empleó la prueba de Nemenyi (Zar, 1996). Dichas pruebas también se utilizaron para comparar, en cada grupo la cantidad de HPG obtenido en el muestreo en que se aplicó el tratamiento y en el siguiente al mismo (efecto intensidad). La comparación entre los valores de HPG obtenidos en el mismo muestreo, entre los grupos de animales, se llevó a cabo mediante la prueba de Kruskal-Wallis (Daniel 1984) y cuando hubo diferencia el efecto de los tres tratamientos se comparó mediante la prueba de Nemenyi (Zar, 1996). Los análisis se realizaron utilizando el programa Statistical Analysis System (SAS) (Ronald y Jeff, 1991).

Resultados

Respecto al proceso de eliminación fecal de huevos de *D. dendriticum* en ganado ovino tratado con ABZ en noviembre y enero (G1) se notan en el Cuadro 1. El porcentaje de muestras positivas en noviembre, M1, fue de 100 %, en los siguientes muestreos varió de 20 % en abril, M4, a 88.9 % en el de noviembre, M10. En el conjunto de muestras positivas y negativas la media de HPG en noviembre, M1, fue de 132.0 ± 17.5 subsecuentemente varió de 7.7 ± 3.1 en abril a 159.2 ± 52.1 en noviembre, M10, con diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$). El rango fue de 0 a 768 HPG. El coeficiente de variación osciló de 81.8 en noviembre, M1, a 249.2 en mayo, M5. El porcentaje de reducción de tasa de la media de HPG vs el M1, varió de 94.2 % en abril, M4, a -27.2 % en noviembre, M10. En el conjunto de muestras únicamente positivas, la media de HPG al inicio fue igual al conjunto anterior, posteriormente fluctuó de 128.9 ± 24.1 en enero, M2, a 38.7 ± 5.7 en abril, M4, el rango osciló de 33 a 767 HPG. El coeficiente de variación fluctuó de 35.1 en septiembre, M8, a 126.7 en noviembre, M10. El porcentaje de reducción de tasa vs M1 varió de 70.7 % en abril, M4, a -35.6 % en noviembre, M10 (Cuadro 1).

En relación al G2 el porcentaje de muestras positivas fluctuó de 100 % en noviembre, M1, a 30.0 % en mayo, M5. En el conjunto de muestras positivas y negativas, la media de HPG al principio del experimento en noviembre, M1, fue de 132.4 ± 17.2 , posteriormente cambió de 16.6 ± 5.2 en mayo, M5, a 160.8 ± 49.4 en noviembre, M10, con diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$). El rango fue de 0 a 667 HPG. El coeficiente de variación fluctuó de 81.3 en noviembre, M1, a 260.8. El porcentaje de reducción de tasa de la media de HPG vs el M1, osciló de 87.4 % en mayo, M5, a -221.8 en noviembre, M10. En el conjunto de muestra únicamente positivas del G2, la media de HPG al inicio del experimento fue igual al anterior; sin embargo, posteriormente varió de 55.5 ± 7.1 en mayo, M5, a 182.2 ± 50.2 en noviembre, M10, mientras el rango varió de 33 a 667 HPG. El coeficiente de variación osciló de 42.8 en mayo, M5, a 106.6 en noviembre, M10, no obstante, el porcentaje de reducción de tasa vs noviembre, M1, fluctuó de 58.8 % en mayo, M5 a -37.5 % en noviembre, M10 (Cuadro2).

En cuanto al tratamiento aplicado en abril al G3 (testigo), el porcentaje de muestras positivas al inicio fue de 100 %, posteriormente varió de 37.5 en octubre, M9, a 100 % en noviembre M10. En el conjunto de muestras positivas y negativas la media de HPG en el primer muestreo fue de 110.2 ± 12.4 , subsecuentemente cambió de 216.3 ± 55.1 en enero, M2, a 22.8 ± 7.2 en mayo, M5, con diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$). El rango fue de 0 a 1267 PHG, sin embargo, el coeficiente de variación osciló de 62.8 en noviembre, M1, a 171.4 en agosto, M5. El porcentaje de reducción de tasa de la media de HPG vs M1 varió de 79.3 % en mayo, M5 a -96.3 % en enero, M2. En el conjunto de muestras positivas la media de HPG al inicio fue de 110.2 ± 12.5 luego osciló de 247.2 ± 60.1 en enero, M2, a 51.9 ± 6.0 en julio, M6, mientras el rango cambió de 33 a 1267. El coeficiente de variación osciló de 34.7 en julio, M6, a 111.8 en agosto, M7, no obstante, el porcentaje de reducción de tasa vs M1 varió de 52.9 % en julio, M6, a -124.4 % en enero, M2 (Cuadro 3).

El porcentaje de reducción de tasa de la media de HPG de los diferentes muestreos por pares vs la media de cada muestreo del grupo testigo osciló, en los valores de muestras positivas y negativas en el G1 de 90.4 % en abril, M4, a -19.0 % en noviembre, M1; En el G2 de 76.2 en abril, M4, a -9.2 en julio, M6; en el G3 (testigo) los valores fueron considerados de 0. En el conjunto de muestras únicamente positivas fluctuaron: en el G1 de 69.9 % en agosto, M7, a -37.8 % en mayo, M5, mientras en el G2 de 48.5 en abril, M4 a -20.2 en noviembre, M1 (Cuadro 4).

El porcentaje de reducción de tasa global del conjunto de muestras positivas y negativas, aplicado al porcentaje de muestras positivas y a la media de HPG de 44.3 % en el G1, y de 18.4 % y 33.6 % respectivamente en el G2. Los mencionados valores en el G3 (testigo) fueron considerados de 0.

El efecto extensión del tratamiento con ABZ aplicado al G1 en noviembre fue de 64.2 %, mientras que el aplicado en enero, M2, fue de 38.8 %, el efecto intensidad en el tratamiento de noviembre, M1, fue de 37.0 % con diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$), mientras que el del aplicado en enero fue de 68.5 %. El mencionado efecto extensión en el G2 en el tratamiento de noviembre fue de 70.5 %, y

el de febrero de 50.8 %, no obstante, el efecto intensidad por el tratamiento de noviembre fue de 38.0 % y por el de febrero de 73.1 % con diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$). El citado efecto extensión en el G3 por el tratamiento de abril fue de 39.4 %, mientras que el efecto intensidad fue de 71.9 % con diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$).

Discusión

De acuerdo con los resultados de los estudios coprológicos realizados en el rebaño de ganado ovino del poblado de Grulleros (cuenca baja del río Bernesga, León, España), la prevalencia de infección por *D. dendriticum* (63.7%) al inicio del presente estudio, en octubre de 1993, fue similar a la encontrada por Manga-González (1991) (63.6%; osciló entre 51.0% y 73.7%) en rebaños de la cuenca media y alta del río Porma, en muestreos realizados consecutivamente en todos los meses del año. Sin embargo, fue inferior a la observada por Del Río (1967) en estudios prospectivos (coprológicos y de matadero) llevados a cabo en rebaños de la montaña de León (100%), y superior a la obtenida por este autor en los de la meseta de dicha provincia (20%). Por otra parte, la prevalencia de infección al comienzo del presente estudio fue más alta que la encontrada por Ferre *et al.* (1994) (26.7%) en un único muestreo realizado entre los meses de octubre y mayo, en diversos rebaños de la provincia de León. No obstante hay que señalar que estos autores, al igual que Del Río (1967), también obtuvieron una prevalencia más elevada en los rebaños de la montaña (65.2%) que en los de las tierras más bajas (13.6%-20.6%), en las que se encuentra situado el poblado de Grulleros. Ferre *et al.* (1994) atribuyen dicha diferencia posiblemente a que en la zona de montaña la temperatura es más baja, abundan los pastos naturalmente irrigados y el sistema de manejo es menos higiénico.

Por otra parte, la prevalencia observada por nosotros (63.7%) en octubre de 1993 fue inferior a la señalada en otros países por: Ambrosi y Principato (1981) en Italia (100%); Calamel (1976) en el distrito de los Alpes Marítimos franceses (83.1%); y Kalkan (1970) en Turquía (74% y 64%). Sin embargo, dicho valor fue superior al mencionado, entre otros, por Calamel (1976) en el sudeste de Francia (41.9%), por Stuhberg *et al.* (1975) en las regiones de Frankfurt y Oder (31.4%) en Alemania y por Jithendran y Bhat (1996) en la India (8.1%).

En cuanto al número de huevos por gramo obtenido en el muestreo general efectuado en el rebaño de Grulleros, previamente al establecimiento de los grupos, el rango de HPG (33-1249) fue inferior al detectado por Manga-González *et al.* (1991) (33-5340 HPG) y superior al observado por Ferre *et al.* (1994) (5-578 HPG), ambos en la misma provincia de León. Los valores medios de HPG en los 3 grupos, al comienzo del estudio en noviembre de 1993 (M1), oscilaron entre 110.1 y 132.4 HPG y fueron inferiores a los obtenidos en la provincia de León por Manga-González *et al.* (1991) y por Cabanas (1995) en dicho mes (300 y 223 HPG, respectivamente). Por otra parte, la tendencia observada en la eliminación de huevos en el grupo testigo (G3), desde noviembre hasta que se aplicó el tratamiento en abril, fue parecida a la señalada por Manga-González *et al.* (1991), aunque el número de HPG obtenido en el G3 fue inferior. En este sentido, el valor medio más elevado en las muestras positivas del G3 fue 247.2 HPG en enero, mientras que las cifras medias más alta observada por Cabanas *et al.* (1989) y por Manga-González *et al.* (1991) fueron 374.65 y 726.6 HPG, respectivamente, en febrero.

Las diferencias en los valores mencionados de la prevalencia de infección por *D. dendriticum* y del número de HPG por gramo eliminado por el ganado ovino en la provincia de León pueden ser debidas a distintos factores, tales como: hora de recolección de las muestras (Campo *et al.*, 2000 observaron una eliminación más elevada por la tarde), el número de animales estudiados y metodología utilizada en su estudio; realización de los muestreos en diferentes rebaños, zonas, años y meses; desigual manejo zootécnico, que incluye la administración o no de tratamientos antihelmínticos previos; así como la presencia imprescindible de los huéspedes intermediarios y su etología. No obstante, de lo expuesto anteriormente y de los trabajos realizados en ganado vacuno (Del Río, 1967; González-Lanza *et al.*, 1993) y en los huéspedes intermediarios (Del Río, 1967; Alunda y Manga-González, 1982; Manga-González, 1987, 1992; Manga-González *et al.*, 2001) se deduce que la dicrocefosis es una parasitosis bastante extendida en los rumiantes de la provincia de León, como también ocurre en los del resto de la Península Ibérica (Cordero del Campillo *et al.*, 1994; Manga-González, 1997) y en los de otros muchos países de Europa, Asia, América y norte de África (Malek, 1980). Las condiciones ecológicas y meteorológicas de León y de la mayor parte de España favorecen la presencia de los moluscos y de las hormigas que actúan como huéspedes intermediarios.

Teniendo en cuenta el valor de la media más elevada de HPG de *D. dendriticum* (247.2) obtenida en el presente estudio, el número de vermes maduros de dicho parásito albergado por los animales de los 3 grupos no superaría los 400, según los valores establecidos por Campo *et al.* (2000) sobre la relación carga parasitaria/número de HPG en heces, en la dicroceliosis experimental ovina. Dichas autoras encontraron una correlación estadística entre el número de HPG eliminado por cada cordero, desde que se producía la primera eliminación (entre los días 49 y 79 p.i., según los casos) hasta el final del experimento (180 días p.i.), y el número de vermes recuperado en la necropsia. Como era de esperar la correlación fue más intensa cuando consideraron únicamente la eliminación de HPG de los corderos entre los días 120 y 180 p.i., período en el que se supone que todos los vermes ya están maduros y, por tanto, todos ellos eliminan huevos. La tendencia a incrementarse el número de huevos en las heces al aumentar la carga parasitaria también fue observada por Calamel y Giauffret (1976) y Rojo-Vázquez *et al.* (1981) en ovejas infectadas naturalmente.

No se observaron manifestaciones clínicas en los animales del presente estudio. Esto pudo ser debido a que según Rojo-Vázquez *et al.* (1981) la presencia de 1000 ejemplares de *D. dendriticum*, o menos, no tiene significación clínica, ni repercusiones económicas. Por otra parte, de acuerdo con la clasificación dada por Calamel y Giauffret (1976), la máxima infección detectada en los animales de este estudio fue ligera y sin incidencias, y en la mayoría de los meses la presencia del parásito fue testimonial, sin consecuencias patológicas ni económicas. Wolff *et al.* (1984) no observaron señales clínicas en ovejas que albergaban hasta 1946 vermes, al igual que Campo *et al.* (2000) en corderos con cargas que oscilaban entre 139 y 570 vermes (incluso en uno que albergaba 2063 parásitos) y Theodorides *et al.* (1999) en animales con cargas de 37 a 8180 vermes, aunque sí observaron lesiones hepáticas.

Debido al efecto de los tratamientos con ABZ, los tres grupos de animales tuvieron un comportamiento diferente en la eliminación de huevos de *D. dendriticum* en los muestreos de enero a abril. Por otra parte, el valor más bajo tanto del porcentaje de muestras positivas como de la media de HPG, considerando los 10 muestreos realizados, se detectó en el grupo tratado en noviembre y enero (G1), seguido muy de cerca por el tratado en noviembre y febrero (G2), y en último lugar por el tratado en

abril (G3), que fue considerado grupo testigo por no haber recibido tratamiento durante el otoño-invierno, periodo en el que se produce la mayor eliminación de huevos del parásito por el ganado ovino en la provincia de León (Manga-González *et al.*, 1991). En la evaluación de la eficacia del ABZ realizada en el muestreo siguiente a cada tratamiento, el valor más elevado del efecto extensión se obtuvo en el tratamiento de noviembre (70.5%) del G2, mientras que el del efecto intensidad se observó en el de febrero (73.1%) del mismo grupo.

A la vista de los resultados obtenidos en los tres grupos de animales, en cuanto a la reducción en la eliminación de huevos durante los 10 muestreos realizados, la mejor pauta a seguir, en las condiciones de León (España), es la aplicada en el G1, es decir, tratar en **noviembre** cuando comienza el periodo de hibernación de las hormigas (Manga-González *et al.*, 2001), para eliminar los vermes adultos puesto que el producto no actúa contra fases juveniles, y repetir el tratamiento en **enero**, fecha en la que, en ausencia de reinfección, la mayor parte de las metacercarias ingeridas por los animales hasta el tratamiento de noviembre ya han podido convertirse en vermes adultos capaces de eliminar huevos, por lo que el antihelmíntico debe ser más efectivo. Dichas fechas de tratamiento son las más adecuadas para conseguir que disminuya la eliminación de huevos justo en el periodo en el que es mayor, es decir, finales de otoño e invierno (Manga-González, *et al.*, 1991). Además, no hay que olvidar que los huevos de *D. dendriticum* son más resistentes a las temperaturas bajas que a las altas. Experimentalmente se ha comprobado que los huevos de *D. dendriticum* pueden soportar temperaturas comprendidas entre los -20°C y los -50°C (Boray, 1985). En la provincia de León la viabilidad de los mismos es elevada desde septiembre a junio (Alunda y Rojo-Vázquez, 1983). Por tanto, si se reduce al máximo la contaminación de los pastos en otoño e invierno con huevos viables, se evitará la infección de los moluscos huéspedes intermediarios en la primavera, época en que empiezan a estar muy activos y son muy abundantes (Manga-González, 1987; Manga-González *et al.*, 2001).

El segundo modelo quimioterapéutico a recomendar consistiría en la aplicación de un tratamiento en **noviembre** y otro en **febrero**, tal como se hizo en el G2, puesto que la efectividad del tratamiento de febrero (E.E.: 50.8%; E.I.: 73.1%) fue incluso más elevada que la del de enero (E.E.: 38.8%; E.I.: 68.51%), debido a que en febrero todos los vermes deberían estar maduros, de acuerdo con el periodo de prepatencia (49 a 76

día) obtenido en infecciones experimentales por Campo *et al.* (2000). A pesar de esto, el tratamiento en febrero evita en menor grado la contaminación de los pastos que el de enero, pues permite que los vermes juveniles, no afectados por el tratamiento de noviembre, hayan madurado y hayan estado eliminando huevos durante un periodo más prolongado, en la época en la que la eliminación es más elevada (ver grupo G3, testigo, que no se trató hasta abril). Asimismo hay que tener en cuenta que la eficacia del albendazol contra *D. dendriticum* no es del 100% (Himonas y Liakos, 1980; Tharaldsen y Wethe, 1980; Cordero del Campillo *et al.*, 1982; Schuster y Hiepe, 1993), y que podría existir, además, algún grado de resistencia del parásito al tratamiento con ABZ o una prolongación en el periodo prepatente, tal como señalaron para *Fasciola hepatica* Boray (1990) y Overed y Bowen (1995) en el primer caso, y Buscher *et al.* (1987) en el segundo.

El tratamiento aplicado únicamente en abril al G3 (testigo), fue el modelo quimioterapéutico menos adecuado, pues permitió que se incrementara la eliminación de huevos en el periodo final del otoño-invierno, época en la que es más elevada (Manga-González *et al.*, 1991). Esto trae como consecuencia que la contaminación de los pastos con huevos viables será muy alta en la primavera, ya que las temperaturas bajas del invierno no los afectan, lo que propiciará la infección de los moluscos huéspedes intermediarios, que en esa época empiezan a estar activos y son muy abundantes en los pastos (Manga-González, 1987; Manga-González *et al.*, 2001). Además, a partir de marzo la eliminación descendió de manera natural en el G3, hecho que ya había sido observado por Manga-González, *et al.* (1991), aunque los animales pueden ya reinfectarse con las hormigas parasitadas que sobrevivieron al invierno (Tarry, 1969; Badie, 1978) y, posteriormente, con otras infectadas ese mismo año desde que finaliza su periodo de hibernación (Manga-González *et al.*, 2001). Asimismo hay que tener en cuenta que la viabilidad de los huevos se reduce a medida que van aumentando las temperaturas, pudiendo llegar a un 100% de mortalidad en los meses calurosos del verano (Alunda y Rojo-Vázquez, 1983). Por otra parte, las posibilidades de que los huevos sean ingeridos por los moluscos en dicha época también desciende, pues están menos activos, algunos incluso se aíslan de las condiciones desfavorables del medio externo formando el epifragma (estructura temporal) y otros se protegen del calor y la sequía refugiándose entre el suelo y la roca, o en plantas (musgo, cardos) y arbustos (Manga-González *et al.*, 2001).

Lo dicho anteriormente nos hace pensar que, quizá, exista una adaptación del parásito en la producción y eliminación de huevos, tanto a las condiciones externas que deben soportar los huevos, como a la abundancia y actividad de los huéspedes intermediarios, de forma que aumenta la eliminación en las épocas con temperaturas bajas, que favorecen la viabilidad de los huevos y su ingestión por los moluscos, y la reduce cuando son altas y la actividad de los moluscos ha decrecido.

Conviene resaltar que, a partir de mayo, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos de animales, y que, a pesar de los tratamientos, la eliminación de huevos volvió a incrementarse en los tres grupos en otoño, alcanzando en noviembre de 1994 (M10) tasas de infección entre 88.2%-100% y del número de HPG entre 144 y 182. El incremento en el otoño, que también había sido observado por Manga-González, *et al.* (1991), ocurre como consecuencia de que los animales han estado ingiriendo hormigas con metacercarias infectantes de *D. dendriticum* a lo largo de todo el periodo de actividad de dichas hormigas, es decir, aproximadamente, entre marzo y noviembre (Manga-González *et al.*, 2001)

El que los mejores resultados se obtuvieran con los tratamientos aplicados en noviembre y enero, y en noviembre y febrero, corrobora nuestra hipótesis de trabajo, basada en los estudios epidemiológicos realizados previamente en León, y coincide, en parte, con lo señalado por Schuster y Hiepe (1993) quienes eligieron llevar a cabo sus estudios (en Alemania) sobre la eficacia del albendazol (92.9% y 94% reducción de vermes, con dosis de 15 y 20 mg/kg, respectivamente), luxabendazol y netobimin frente a *D. dendriticum* en invierno, debido al efecto selectivo de los (pro)benzimidazoles principalmente sobre los vermes maduros. Tharaldsen y Wethe (1980) en Noruega estudiaron la reducción en la eliminación de huevos de *D. dendriticum* por ganado ovino, al que aplicaron dos tratamientos de ABZ (dosis de 10 a 12 mg/kg), con un intervalo de una semana, al comienzo de la estabulación en noviembre. De acuerdo con los análisis coprológicos realizados semanalmente durante el periodo de estabulación de los animales, la reducción en la eliminación de huevos fue del 90%, cifra superior a la obtenida por nosotros en los tres tratamientos realizados en noviembre. Esto pudo ser debido a que una mayor proporción de vermes fueran ya adultos cuando se inició el periodo de estabulación en noviembre, puesto que los

experimentos de Tharaldsen y Wethe (1980) se llevaron a cabo en Noruega, país más frío que España, por lo que es de suponer que la hibernación de las hormigas comenzara antes que en León

Los resultados de nuestras investigaciones no coinciden demasiado con las recomendaciones realizadas por Cordero del Campillo *et al.* (1982) quienes, basándose en los trabajos epidemiológicos de Wolff (1976) en Alemania y Badie (1978) en Francia, consideraron que el tratamiento administrado al final de la primavera/principio del verano contribuye eficazmente a eliminar un gran número de parásitos, y que es recomendable repetirlo en otoño para eliminar la población residual. Esta pauta de tratamientos es la seguida en la actualidad por la mayoría de los ganaderos de la zona y, a juzgar por las tasas de infección que se siguen registrando en la provincia, no parece ser demasiado efectiva.

De igual forma, los resultados obtenidos en el presente trabajo no confirman la primera parte de la hipótesis, expresada sobre este tema para España por Meana y Gómez-Bautista (1995), de que el tratamiento administrado en la primavera, repetido durante varios años, puede disminuir el nivel de infección de los huéspedes intermediarios, y que un segundo tratamiento aplicado a mediados del otoño tendría como objetivo reducir las cargas parasitarias y, de forma indirecta, las pérdidas económicas que ocasiona la dicroceliosis. Como ya se ha explicado anteriormente, el tratamiento de la primavera es muy poco eficaz para evitar la infección de los moluscos en la provincia de León y en el resto de España, puesto que la contaminación más importante de los pastos con huevos viables se produce con anterioridad, principalmente durante los últimos meses del otoño y en el invierno.

Por otra parte, Ambrosi *et al.* (1995) señalan que un solo tratamiento estratégico (con tiofanato) administrado al final de invierno o principio de primavera, durante 5 años, produjo un control efectivo de la infección por *D. dendriticum* en 100 rebaños de la región de Umbria en Italia. A nuestro juicio los tratamientos que aplicaron en el invierno debieron ser más efectivos que los de primavera, puesto que Ambrosi y Principato (1981) habían señalado anteriormente la existencia de un fuerte incremento en el número de huevos por gramo de *D. dendriticum* en otoño, y la máxima eliminación en invierno y comienzos de primavera

Cordero del Campillo *et al.* (1982) probaron la eficacia del ABZ en ganado ovino de la provincia de León (España) infectado naturalmente con *D. dendriticum*. No obstante, es difícil poder sacar conclusiones de los resultados obtenidos por estos autores, en cuanto a la influencia de la época del tratamiento en la reducción de los vermes de *D. dendriticum*, debido a las distintas dosis y pautas de administración utilizadas, pero aún es más difícil poder comparar sus resultados sobre la reducción en la eliminación de huevos con los obtenidos en el presente trabajo. Los autores, que realizaron experimentos al final de marzo y comienzo de noviembre del mismo año y a mediados de mayo del año siguiente, comentan que el esquema general de eliminación de huevos siguió un perfil similar en los tres ensayos, aunque la dosis de 10 mg/kg redujo más la eliminación de huevos que la de 7.5 mg/kg y el efecto de la repetición de la dosis fue más ligero en los ensayos primero y tercero, y más notable en el segundo. No obstante señalan que las importantes variaciones observadas en la eliminación de huevos de un animal respecto a otro, obligan a tener reservas sobre la estimación del antihelmíntico basada únicamente en este tipo de investigación, incluso cuando se ha trabajado con lotes importantes de animales que permiten un tratamiento estadístico de los resultados. Los autores comentan que los animales tratados tenían una proporción mayor de huevos que parecían anormales, aunque no intentaron demostrar la existencia de una acción ovicida. En cuanto a la carga parasitaria que observaron en la autopsia, la reducción más baja de los vermes (expresada en media geométrica) la obtuvieron en el grupo de animales tratados a finales de marzo, con dos dosis de 7.5 mg/kg administradas con un intervalo de 7 días (82.43%-85.54%), mientras que la más alta se observó en el grupo que recibió, a principios de noviembre, dos dosis de 10 mg/kg con un intervalo de 7 días (94.05%). De los resultados obtenidos por Cordero del Campillo *et al.* (1982) parece deducirse que la reducción de vermes fue menor cuando los tratamientos se aplicaron a finales de marzo y mediados de mayo, que cuando se hizo en noviembre, lo que coincide con los resultados hallados en el presente trabajo.

Himonas y Liakos (1980) estudiaron la reducción de vermes de *D. dendriticum* en ganado ovino infectado naturalmente, mediante la aplicación de ABZ a las dosis de 15 mg/kg (intraruminal) y 20 mg/kg (intraruminal y oral), y obtuvieron reducciones del 99.6% y 98.2%, respectivamente. Los autores comentan que realizaron los experimentos a finales de noviembre de 1978 y comienzos de junio de 1979, pero en la publicación

no está claro qué experimentos hicieron en cada época, por lo que, en nuestra opinión, es imposible sacar alguna conclusión al respecto, que pueda ser comparada con los resultados obtenidos en el presente trabajo.

La información obtenida en este estudio sugiere, que la pauta de tratamiento más adecuada contra *D. dendriticum* es la seguida en el G1, tratado en noviembre y enero, por ser la que redujo más la eliminación de huevos en el periodo en que es más elevada y la supervivencia de los huevos es mayor. La siguiente pauta más adecuada es la del G2, con tratamiento en noviembre y febrero, mientras que la del G3, con tratamiento únicamente en abril, es la menos efectiva. No obstante, creemos que sería conveniente en el futuro realizar un ensayo tratando los animales en octubre y enero pues, quizá, puedan ser también fechas idóneas para el tratamiento quimioterapéutico de la dicroceliosis.

No obstante, aunque se utilicen las pautas de tratamiento más adecuadas anteriormente mencionadas, hay que tener en cuenta que, debido a la duración y complejidad del ciclo biológico de *D. dendriticum*, será necesario aplicar dichos tratamientos estratégicos durante bastantes años, con el fin de eliminar la infección de los rumiantes (y así conseguir que desaparezca la contaminación de los pastos con huevos viables) y la de los moluscos y hormigas, huéspedes intermediarios. Sin embargo, somos conscientes de la dificultad que existe en la erradicación de la dicroceliosis, debido a la falta de antihelmínticos 100% eficaces frente a fases maduras e inmaduras y al mantenimiento de la infección por otros huéspedes definitivos silvestres.

Agradecimientos

Estudio financiado por CICYT española, Proyecto AGF92-0588.

Año sabático en España financiado por la DGICYT Ref. SAB 94-0139.

A. R. Vega, Lic. en veterinaria, a L.M. Carcedo y C. Espiniella, técnicas del laboratorio de parasitología, y H. Fidalgo, J. Fuentes, L. Pérez y A. Merino, personal de la finca experimental, todos miembros de la Estación Agrícola Experimental del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) en León, España. Asimismo a J. Soto, propietario del rebaño.

Literatura citada

Alunda, J.M. and Manga-González, M.Y., 1982. Susceptibility of some species of the genus *Halicella*, Ferussac, 1821 (Gastropoda, Helicidae) to the infection by *Dicrocoelium dendriticum* (Trematoda). *Malacologia*, 22: 51-54.

- Alunda, J.M. and Rojo-Vázquez, F.A., 1983. Survival and infectivity of *Dicrocoelium dendriticum* eggs under field conditions in NW Spain. *Vet. Parasitol.*, 13: 245-249.
- Ambrosi, M. & Principato, M., 1981. Dicroceliosi ovina: variazioni stagionali della positività coproscopica in animali spontaneamente parassitati. *Obiettivi e Documenti Veterinari*, 10: 55-56.
- Ambrosi, M., Grelloni, V. & Botta, G., 1995. Efficacia dei trattamenti sistematici strategici contro la dicroceliosi ovina. *Obiettivi e Documenti Veterinari*. 16: 69-71.
- Badie, A., 1978. La dicroceliose ovine: Incidence des facteurs climatiques et contribution à la mise au point d'une méthode de prévision. *Ann. Parasit. Hum. Comp.* 53: 373-385.
- Boray, J.C., 1985. Flukes of Domestic Animals. In: Gaafar, S.M., Howard, W.M. AND Marsh, R.E. (eds), Parasites, Pest and Predators. (World Animal Science. B2) Disciplinary Approach. *Elsevier Science Publisher B.V.* Amsterdam, pp. 179-218.
- Boray, J.C., 1990. Drug resistance of *Fasciola hepatica*. Resistance of parasites to antiparasitic drugs. Round Table Conference. VII International Congress of Parasitology. Paris 1990, 51-60.
- Buscher, G., Bowen, F.L., Strong, B.M., Allison, J.R. and Richards, R.J., 1987. Extension of the prepatent period of *Fasciola hepatica* in infected animals following treatment with triclabendazole. *Vet. Rec.*, 120: 460-461.
- Cabanas, M.E., Manga-González, M.Y. and González-Lanza, M.C. Eliminación mensual de huevos de *Dicrocoelium dendriticum* (Trematoda) por ovinos marcados de los montes Cántabro-Leoneses. Actas de VI Congreso Nacional y 1º Ibérico de Parasitología. Cáceres, España, 25-29 de septiembre 1989. *Sociedad de Parasitólogos Españoles*, Cáceres, España, 1989.
- Cabanas, D.M.E., 1995. Estudio del ciclo biológico de *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Loos, 1899 en condiciones naturales (tesis de Doctor en Biología), *Universidad de León*. León España.
- Calamel, M., 1976. La dicroceliose ovine et caprine dans le Sud-Est de la France. *Rev. Méd. Vét.*, 127: 1529-1536.
- Calamel, M. & Giauffret, A. 1976. Interprétation des résultats dans le diagnostic coproscopique de la dicrocoeliose. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 152: 99-104.
- Campo, R., Manga-González, M.Y. and González-Lanza, C., 2000. Relationship between egg output and parasitic burdens in lambs experimentally infected with different doses of *Dicrocoelium dendriticum* (Digenea). *Vet. Parasitol.*, 87: 139-149.

- Cavani, C., Losi, G., Manfredini, M., Pavonvelli, R.M., Pietrobelli, M. & Restani, R., 1982. Ricerche sull'influenza della dicroceliase sulle caratteristiche cuantitative e qualitative della produzione di latte in pecore. *Obiettivi e Documenti Veterinari*, 3: 59-63.
- Corba, J., Krupicer, I., 1992. Efficacy of intraruminal albendazole boluses against *Dicrocoelium dendriticum* in sheep. *Parasitol. Res.*, 78: 640-642.
- Cordero del Campillo, M., Rojo-Vázquez, F.A., Díez Baños, P. & Chaton Schaffner, M., 1982. Efficacité de l'albendazole contre une infestation naturelle à *Dicrocoelium dendriticum* chez le mouton. *Rev. Méd., Vét.* 133: 41-49.
- Cordero del Campillo, M., Castañón-Ordóñez, L. y Reguera-Feo, A., 1994. Índice-Catálogo de Zooparásitos Ibéricos. *Secretariado de Publicaciones de la Universidad de León, España*.
- Daniel, W.W., 1984. Bioestadística. Bases para el análisis de las ciencias de la salud. *Limusa*. México pp. 377-387.
- Del Río, J., 1967. Epizootiología de la dicroceliosis en la provincia de León. *An. Fac. Vet. León*, 13: 211-253.
- Eckert, J., Schneider, G. und Wolff, K., 1984. Fasinex (Triclabendazol) ein neues faszioleizid. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*, 97: 349-356.
- Eckert, J. und Hertzberg, H., 1994. Parasite control in transhumant situation. *Vet. Parasitol.*, 54: 103-125.
- Ferre, I., Ortega-Mora, L.M. and Rojo-Vázquez, F.A., 1994. Prevalence of *Dicrocoelium dendriticum* infection in sheep in Leon province (NW) Spain. *Prev. Vet. Med.*, 21: 147-154.
- Greenberg, R., Daniels S.R., Flanders, D.W., Elay, W.J., Boring, R.J., 1998. Epidemiología Médica. Manual Moderno 2ª edición, México. pp.122-123.
- González-Lanza, C., Manga-González, M.Y. and Del Pozo-Carnero, P., 1993. Coprological study of the *Dicrocoelium dendriticum* (Digenea) egg elimination by cattle in highland in Leon province (NW). *Parasitol. Res.*, 79: 488-491.
- Himonas, C.A. & Liakos, V., 1980. Efficacy of albendazole against *Dicrocoelium dendriticum* in sheep. *Vet. Rec.*, 115: 288-289.
- Hohorst, W. Und Lämmeler, G., 1962. Experimentelle dicrocoeliose studien. *Zeitschrift für Tropenmedizin und Parasitologie*, 13: 337-349.
- Jithendran, K.P., Bhat, T.K., 1996. Prevalence of dicrocoeliosis in sheep and goats in Himachal Pradesh, India. *Vet. Parasitol.*, 61: 265-271.

- Kalkan, A., 1970. *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Loos, 1899. Un biyolojisi; dicrocoeliasis' de epizootioloji; tedari ve profilaksi. *Etlik Veteriner Bacteriyoloji; Institüsü Dergisi.*, 3: 97-109.
- Karanfilovski, G., 1983. Economic losses caused by fascioliasis and dicrocoeliasis to livestock production in Pijevlja and surrounding area. *Veterinaria Yugoslavia*, 32: 253-260.
- Lukin, A.K., 1980. The prevalence and economic loss due to dicrocoeliasis in ruminants. *Trudy Saratovski Nauchno-Issledovatel'skoi veterinamoi Stantsii*, 14: 76-79.
- Malek, E.A., 1980. Snail-Transmitted Parasitic Diseases. *CRP. Press*, Inc. Florida, Vol. II: pp. 324.
- Manga-González, M.Y., 1987. Some aspects of the biology and helminthofauna of *Helicella (Helicella) itala* (Linnaeus, 1758) (Mollusca). Natural infection by *Dicrocoeliidae* (Trematoda). *Rev. Ibér. Parasitol.*, vol. Extraordinario: 131-148.
- Manga-González, M.Y., González-Lanza, C., Del Pozo-Carnero, P., 1991. Dynamics of the elimination of *Dicrocoelium dendriticum* (Trematoda, Digenea) eggs in the faeces of lambs and ewes in the Porma basin (Leon NW. Spain) *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 66: 57-61.
- Manga-González, M.Y. Some land mollusc species involved in the life cycle of *Dicrocoelium dendriticum* (Trematoda) in the wild the province of Leon (NW Spain) In: Abstract of the 11th International Malacological Congress; 1992, Siena, Italy. *International Malacological Society*, 1992: 248-249.
- Manga-González, M.Y. 1997. Biología de *Dicrocoelium dendriticum* y epidemiología de la dicroceliosis. En Mejía G.P., Díaz, G.P.R., editores. Enfermedades Helmínticas de Importancia Sanitaria y Económica. México: *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*, UNAM., pp. 99-113.
- Manga-González, M.Y. y Quiroz R.H., 1999. Dicroceliosis. En Cordero del Campillo, M., & Rojo-Vázquez, F., editores. *Parasitología Veterinaria*. McGraw-Hill. Interamericana, pp 272-282.
- Manga-González, M.Y., González-Lanza, C., Cabanas, E., & Campo, R., 2001. Contribution to and review of dicrocoeliosis, with special reference to the intermediate hosts of *Dicrocoelium dendriticum*. *Parasitology*, 123: S91-S114.

- Meana, A. y Gómez-Bautista, M., 1995. Tratamiento, profilaxis y control de dicroceliosis. *Ovis*, 39: 53-58.
- Overed, L.D. and Bowen, F.L., 1995. Resistance of *Fasciola hepatica* to triclabendazole. *Aust. Vet. J.*, 72: 275-276.
- Rojo-Vazquez F.A., Cordero del Campillo M., Diez-Baños P., Chaton-Schaffner M., 1981. Relation existant entre le nombre d'oeuf dans les feces et la charge parasitaire lors des infestations naturelles a *Dicrocoelium dendriticum* chez les ovins. *Rev. Méd. vét.*, 132: 601-607.
- Ronald, P.C., Jeff, S.K., 1991. Applied Statistic and the Programing Language 3th Edition, Elsevier Science Publishing, New York, USA. 1991.
- Rosicky, B. and Groschaft, J. 1982. Dicrocoeliosis. In *CRC Handbook Series in Zoonoses. Section C: Parasitic Zoonoses. Volume III*. Boca Ratón, Florida, USA, CRC Press, Inc. Pp. 33-52.
- Schuster, R. und Hiepe, Th., 1993. Bekämpfung der Dicroceliose beim Schaf. *Vet. Med.*, 48:657-661.
- Stuhberg, E., Nichel, S. & Hiepe, Th., 1975. *Dicrocoelium dendriticum* beim im DDR-Bezirk Frankfurt/Oder. *Angewandte Parasitologie*, 16:129-135.
- Stratan, N.M., 1986. Efficacy of acemidophen against *Dicrocoelium dendriticum* in sheep. *Byulleteb-Vsesoyuznogo Instituta Gel'mintologii- In K.I. Skryabina*, 4264-66.
- Tarry, D.W., 1969. *Dicrocoelium dendriticum*: the life cycle in Britain. *J. Helminthol.* 43: 403-416.
- Tharaldsen, J., Wethe, J.A., 1980. A field trial with albendazole against *Dicrocoelium lanceolatum* in sheep. *Nord. Veterimed.*, 32: 308-312.
- Theodorides, Y., Sotiraki, S., Papadopoulus, E., 1999. Observations on the blood figure of sheep infected with *Dicrocoelium dendriticum*. *Bull. Hellenic Vet. Med. Soc.* 50: 300-304.
- Wolff, K. (1976). Zur Epizootiologie der Dicroceliose des Schafes. *Berl. Münch. Tierärztl. Wsch.* 98: 272-276.
- Wolff, K., Hauser, B. und Wild, P., 1984. Dicroseliose des Schafes: Untersuchungen zur Pathogenese und zur regeneration der Leber nach Therapie. *Berl. Münch. Tierärztl. Wsch.* 93. 378-387.
- Zar, J.H., 1996. Bioestatistical Analysis. Englewood Cliff. New Jersey. Ed. Prectice Hall, pp. 622.

Cuadro 1

PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HPG DE *D. dendriticum* EN GANADO OVINO
TRATADO CON ALBENDAZOL EN NOVIEMBRE Y ENERO (GRUPO 1)

M	Valores en muestras positivas y negativas					Valores en muestras positivas			
	% de M +	Media \pm e. e.	Rango	C. V.	% RT vs M1	Media \pm e. e.	Rango	C. V.	% RT vs M1
M1 nov.	100.0	132.0 \pm 17.5 a*	33-500	81.8	0.0	132.0 \pm 17.5	33-500	81.8	0.0
M2 ene.	64.3	83.2 \pm 19.1 b	0-367	127.7	37.0	128.9 \pm 24.1	33-367	83.5	2.3
M3 feb.	39.3	26.1 \pm 8.8 c	0-167	178.4	80.2	66.5 \pm 16.3	33-167	81.1	49.6
M4 abr.	20.0	7.7 \pm 3.1 c	0-67	216.6	94.2	38.7 \pm 5.7	33-67	35.8	70.7
M5 may.	20.7	15.4 \pm 7.1 c	0-167	249.2	88.3	74.7 \pm 22.4	33-167	73.2	43.3
M6 jul.	37.1	22.1 \pm 8.7 c	0-200	204.6	83.3	59.7 \pm 18.5	33-200	97.9	54.7
M7 ago.	54.5	21.2 \pm 4.6 c	0-67	103.6	83.9	38.9 \pm 3.8	33-67	33.7	70.5
M8 sep.	42.3	16.6 \pm 4.2 c	0-67	130.1	87.5	39.2 \pm 4.2	33-67	35.1	70.3
M9 oct.	64,3	38.1 \pm 12.1 c	0-167	118.6	71.2	59.2 \pm 14.5	33-167	73.6	55.1
M10 nov.	88.9	159.2 \pm 52.1 bc	0-768	138.9	- 27.2	179.1 \pm 56.8	33-767	126.7	-35.6

M= muestreos. % de M+ = Porcentaje de muestras positivas. C.V = Coeficiente de variación.

* Letras distintas denotan diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.5$).

% RT vs M1= Porcentaje de reducción de tasa de la media de HPG vs muestreo 1.

Cuadro 2

PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HPG DE *D. dendriticum* EN GANADO OVINO
TRATADO CON ALBENDAZOL EN NOVIEMBRE Y FEBRERO (GRUPO 2)

M	Valores en muestras positivas y negativas					Valores en muestras positivas			
	% de M +	Media ± e. e.	Rango	C. V.	% RT vs M1	Media ± e. e.	Rango	C. V.	% RT vs M1
M1 nov.	100.0	132.4±17.2a	33-500	81.3	0.0	132.4±17.2	33-500	81.3	0.0
M2 ene.	70.5	80.7±17.1bc	0-433	123.6	39.0	114.4±20.7	33-433	88.6	13.6
M3 feb.	65.6	71.9±14.1b	0-267	111.1	45.7	109.6±16.2	33-267	68.1	17.2
M4 abr.	32.2	19.2± 6.3bc	0-133	182.4	85.4	59.8±12.0	33-133	63.4	54.8
M5 may.	30.0	16.6±5.2cd	0-100	172.5	87.4	55.5±7.1	33-100	42.8	58.8
M6 jul.	40.7	28.3±9.0d	0-200	165.2	78.5	69.6±15.2	33-200	72.6	54.9
M7 ago.	37.5	48.5±25.6d	0-567	260.8	63.3	129.5±61.7	33-567	143.0	2.2
M8 sep.	44.0	28.0±7.38d	0-100	131.8	78.8	63.6±8.4	33-100	43.7	51.9
M9 oct.	60.0	46.5±13.7d	0-133	114.0	64.8	77.5±15.7	33-133	60.7	41.4
M10 nov.	88.2	160.8±49.4d	0-667	119.1	-21.3	182.2±50.2	33-667	106.6	-37.5

M= muestreos. % de M+ = Porcentaje de muestras positivas.

Letras distintas denotan diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.5$).

C.V. Coeficiente de variación.

%RT vs M1= Porcentaje de reducción de tasa de la media de HPG vs muestreo 1.

Cuadro 3

PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HPG DE *D. dendriticum* EN GANADO OVINO
 TRATADO CON ALBENDAZOL EN ABRIL (GRUPO 3 TESTIGO)

M	Valores en muestras positivas y negativas					Valores en muestras positivas			
	% de M +	Media ± e. e.	Rango	C. V.	% RT vs MI	Media ± e. e.	Rango	C. V.	% RT vs MI
M1 nov.	100	110.2±12.4a*	33-267	62.8	0.0	110.2±12.5	33-267	62.8	0.0
M2 ene.	87.5	216.3±55.1a	0-1267	124.8	-96.3	247.2 ± 60.1	33-1267	111.2	-124.4
M3 feb.	95.8	112.4±16.1a	0-267	70.5	-2.0	117.3±16.1	33-267	65.8	-6.4
M4 abr.	69.6	81.1±22.2ab	0-367	131.6	26.4	116.6±27.7	33-267	95.1	-5.8
M5 may.	42.2	22.8±7.2bc	0-100	138.6	79.3	54.1±8.9	33-100	46.2	50.9
M6 jul.	50.0	25.9±6.9bc	0-67	113.3	76.4	51.9±6.0	33-67	34.7	52.9
M7 ago.	56.3	72.9±31.2bc	0-467	171.4	33.9	129.6±48.3	33-467	111.8	-17.6
M8 sep.	61.1	44.3±13.2bc	0-167	126.4	59.8	72.5±16.8	33-167	76.6	34.3
M9 oct.	37.5	51.8±28.9c	0-167	167.6	73.6	77.7±44.7	33-167	85.9	29.5
M10 nov.	100.0	144.0±27.1ab	0-367	72.9	-30.7	144.0±27.1	33-367	72.9	-30.7

M= muestreos. % de M + = Porcentaje de muestras positivas.

*Letras distintas denotan diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.5$).

C. V. = Coeficiente de variación.

%RT vsMI= Porcentaje de reducción de tasa de la media de HPG vs muestreo 1.

Cuadro 4

**PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DE TASA DE LA MEDIA DE HPG DE *D. dendriticum*
POR PARES VS EL GRUPO TESTIGO (G3) EN GANADO OVINO TRATADO CON
ALBENDAZOL EN DIFERENTES MESES**

M	Valores en muestras positivas y negativas			Valores en muestras positivas		
	G1 tratado en noviembre y enero	G2 tratado en noviembre y febrero	G3 tratado en abril (testigo)	G1 tratado en noviembre y enero	G2 tratado en noviembre y febrero	G3 tratado en abril (testigo)
M1 nov.	-19.0 *	20.2	0	-19.8	-20.2	0
M2 ene.	61.5	62.5	0	47.8	13.2	0
M3 feb.	76.7	18.2	0	43.2	6,4	0
M4 abr.	90.4	76.2	0	66.8	48.5	0
M5 may.	32.1	7.5	0	-37.8	-2.5	0
M6 jul.	14.6	-9.1	0	-15.2	-34.3	0
M7 ago.	70.8	32.9	0	69.9	0	0
M8 sep.	62.6	36.9	0	45.9	12.1	0
M9 oct.	26.4	11.1	0	23.7	0.1	0
M10 nov.	-10.5	11.6	0	-24.3	-26.5	0

Valores negativos denotan incremento de HPG en relación al testigo.

Cuadro 5

**EFFECTO EXTENSIÓN (E.E.) Y EFFECTO INTENSIDAD (E.I.) DEL ALBENDAZOL
 EN LA ELIMINACIÓN DE HPG DE *D. dendriticum* EN GANADO OVINO
 TRATADO EN DIFERENTES MESES**

Muestras/tratamientos con ABZ	Grupo 1 tratado en noviembre y abril		Grupo 2 tratado en enero		Grupo 3 tratado en abril (testigo)	
	E.E.	E.I.	E.E.	E.I.	E.E.	E.I.
Noviembre (M1)	*	*	*	*		
Enero (M2)	* 64.2	*37.0	70.5	38.0		
Febrero (M3)	38.8	68.5	*	*		
Abril (M4)			50.8	73.1	*	*
Mayo (M5)					39.4	71.9

* = tratamiento con albendazol

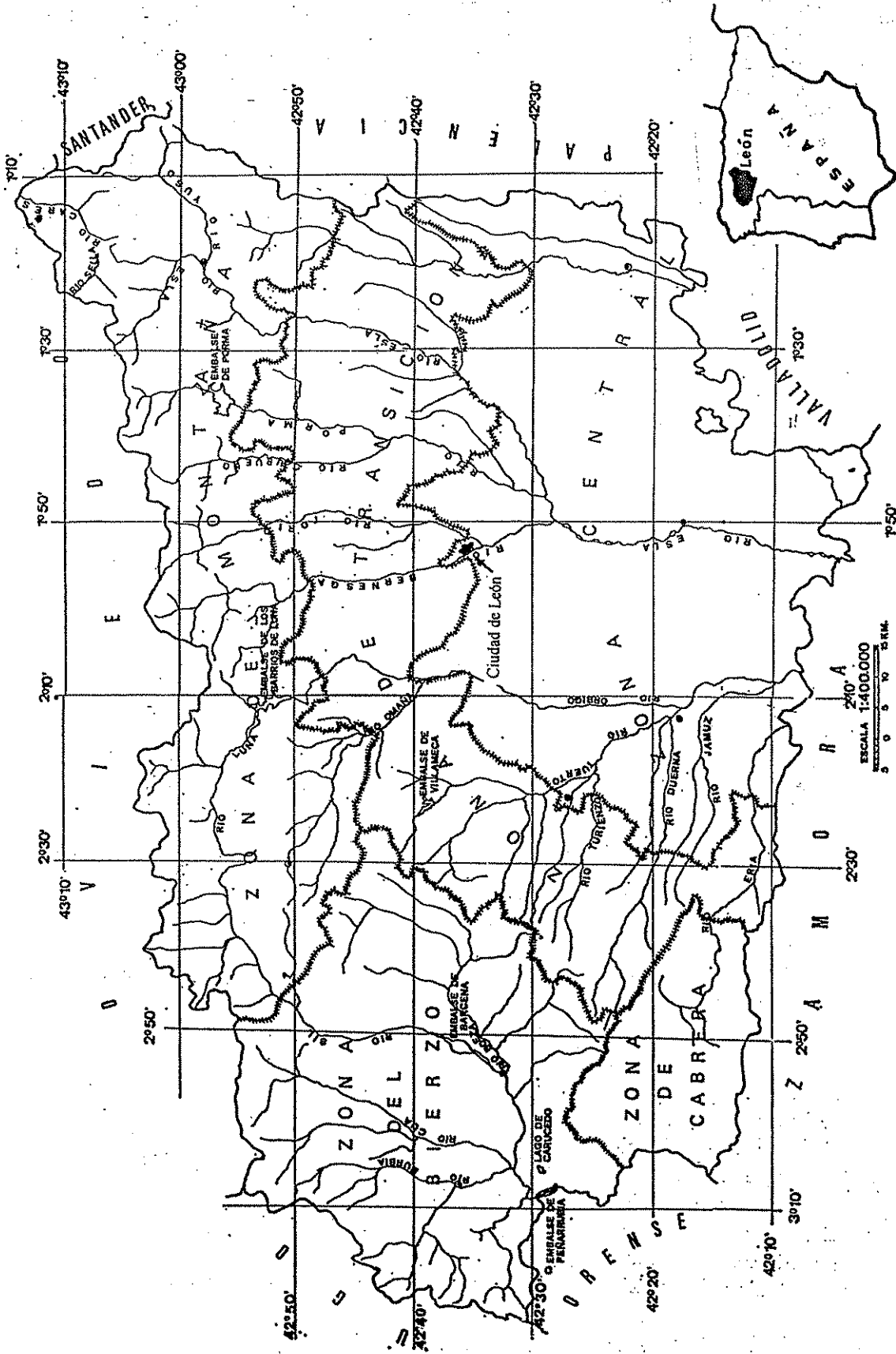


Figura 1. Mapa de España y de la Provincia de León con la localización de la Ciudad de León (Manga-González, 1983). Grulleros está situado a 10 km al sur de dicha ciudad.

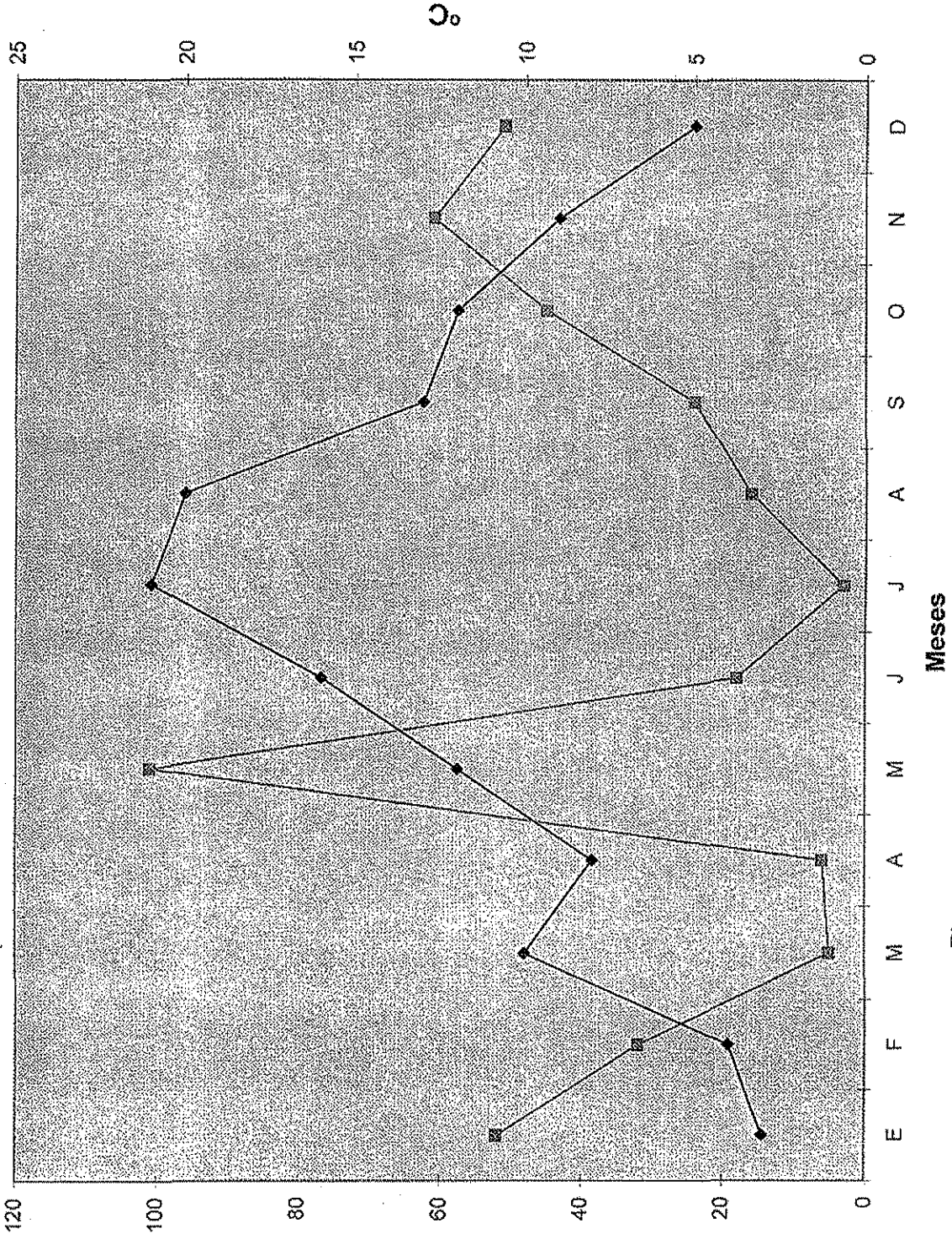
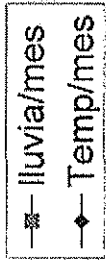


Figura 2. Precipitación pluvial y temperatura media mensuales en León, España.

FRACTA PAG

114

3.2.1. Evaluación de dos modelos quimioterapéuticos para el control de fasciolosis bovina en clima cálido-húmedo en México

Quiroz, R.H., * Ibarra, V. F., * Ochoa, G. P., * Manga-González, M.Y., **

Montenegro, C. N., * y Salcedo, E. R. *

* Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.

** Estación Agrícola Experimental. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Apartado 788, 24080- León, España.

Abstract

In order to evaluate 2 models of chemotherapy against *Fasciola hepatica* in naturally infected cattle located on a farm in the municipality of Nautla, Veracruz, Mexico, triclabendazole (TBZ) was administered once or twice in different months to reduce faecal egg output in a significantly. Furthermore, anti- *F. hepatica* antibody values as well as seric levels of gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) and aspartate amino transferase (AST) were determined. Two groups (G), of 23 animals each received 12 mg/k of TBZ. G1, the control group, was treated in January (model 1), G2 in January and May (model 2). Faeces samples were collected from all animals every 45 days on 10 occasions in order to perform, the faecal egg count per 5 gram (EP5G). At the same time, blood samples were collected from 15 cows in each group to detect anti- *F. hepatica* antibodies in the serum using the ELISA test, and to determine the GGT and AST enzymes by spectrophotometry. The improvement percentage for means EP5G was 27.6% higher in G2 than in G1; this EP5G agrees with the lower values of GGT detected in G2. AST activity did not exceed the normal limit. Antibody levels were positive and were not affected by the treatment in any of the groups.

Key words: TRICLABENDAZOLE, CATTLE, ELISA, GAMMA-GLUTAMYL TRANSPEPTIDASA, ASPARTATE AMINO TRANSFERASE.

Resumen

Con el objetivo de evaluar dos modelos de control quimioterapéutico contra *Fasciola hepatica*, en ganado bovino infectado de manera natural y localizado en una finca en el municipio de Nautla, Veracruz, México, se aplicó el triclabendazol (TBZ) en una o dos ocasiones, en diferentes meses, para reducir al máximo la eliminación de huevos. Además se determinaron los valores de anticuerpos anti-*F. hepatica* y los niveles séricos de gamma-glutamil transpeptidasa (GGT) y aspartato amino transferasa (AST). Se trataron dos grupos (G) de 23 animales cada uno, con una dosis de 12 mg/kg de TBZ, el G1, testigo en enero (modelo 1) y el G2 en enero y mayo (modelo 2). Cada 45 días, durante 10 ocasiones, se recolectaron muestras de heces de todos los animales, para realizar el recuento de huevos en 5 gramos (HP5G). Al mismo tiempo, se tomaron muestras de sangre de 15 vacas de cada grupo, con el fin de detectar en el suero, mediante ELISA, los anticuerpos anti-*F. hepatica*, así como valorar los niveles de GGT y AST por espectrofotometría. El porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G fue 27.6 % más alto en el G2 que en el G1, lo que concuerda con los valores más bajos de GGT detectados en el G2. Los valores medios de la AST no rebasaron el límite normal. Los niveles de anticuerpos fueron positivos y no parecen verse afectados por el tratamiento con TBZ en ninguno de los grupos.

Palabras clave: *FASCIOLA HEPATICA*, TRICLABENDAZOL, BOVINOS, ELISA, GAMMA-GLUTAMIL TRANSPEPTIDASA, ASPARTATO AMINO TRANSFERASA.

Introducción

El control de la fasciolosis se basa en tratamientos quimioterapéuticos para eliminar al parásito, en la reducción de huéspedes intermediarios, y en la aplicación de prácticas de manejo zootécnico (Boray, 1985) relativas al sistema de pastoreo. La aplicación de estos tres métodos no siempre es posible debido a razones sociales y económicas, sin embargo el uso de fasciolicidas es el método más empleado en el mundo por su beneficio inmediato. No obstante, debido a las diferencias epidemiológicas de la enfermedad en las distintas regiones, es necesario conocer en cada una de ellas los meses adecuados de aplicación de tratamientos fasciolicidas (Boray, 1985).

El criterio más importante para seleccionar un fasciolicida es su alta eficacia contra estadios adultos e inmaduros, ausencia de residuos en los tejidos del huésped y un precio económico. El uso corriente de antihelmínticos para el control depende de la eficacia del espectro del fasciolicida y de la frecuencia de su aplicación, integrado a sistemas de control estratégico (Boray, 1982). En nuestro país existe muy poca información sobre modelos de control de fasciolosis en ganado bovino, motivo por el cual se realiza este estudio

Boulard *et al.* (1985), notifican el uso de la técnica indirecta de ensayo inmunoenzimático (ELISA), la coprología y el examen *postmortem* en el matadero para el diagnóstico y señalan las ventajas de cada una de ellas. Varios autores (Santiago y Hillyer, 1988; Hillyer *et al.*, 1985; Sinclair y Wassall, 1988)) coinciden en la ventaja del inmunoensayo enzimático (ELISA) para detectar infecciones tempranas, así como una mayor sensibilidad con respecto a la coprología, razón por la que se empleará en este estudio.

El diagnóstico de las afecciones hepáticas se ha visto favorecido por la actividad sérica de enzimas específicas, que escapan de las células hepáticas dañadas. Desde hace

tiempo varios autores han aplicado la interpretación de los niveles de diversas enzimas como la gamma-glutamil transpeptidada (GGT) y el aspartato amino transferasa (AST) en el diagnóstico de la fasciolosis de rumiantes infectados (Rowland y Clampitt, 1979), en fasciolosis subclínica Sykes *et al.* (1980), en la proliferación celular en conductos biliares (Wensvoort y Over, 1982), en fasciolosis experimental en bovinos (Bulgin y Anderson, 1984), en el diagnóstico de becerros para cebadero (Wyckoff y Bradley, 1985), en fasciolosis naturalmente adquirida (Khan *et al.*, 1989), y en el tiempo de normalización de los niveles después de tratamiento fasciolocida (Faría *et al.*, 1996).

El presente estudio forma parte de una serie de experimentos sobre control de fasciolosis en ganado bovino en clima cálido húmedo, a fin de precisar los meses más adecuados para el tratamiento fasciolocida, y el efecto en la reducción de eliminación fecal de huevos del parásito, en este estudio se comparó dicho efecto en 2 modelos, considerando que un segundo tratamiento estratégico en mayo antes del periodo de lluvia es mejor a uno solo en enero.

El objetivo fue comparar el efecto del triclabendazol aplicados en enero (modelo 1), establecido en el rancho, contra el administrado en enero y mayo (modelo 2), en la reducción de eliminación fecal de huevos del trematodo, así como evaluar los niveles de anticuerpos anti- *F. hepatica* y los valores de GGT y AST en ganado bovino.

Material y Métodos

Los trabajos de campo se realizaron en el rancho las Gaviotas, localizado en el municipio de Nautla, Veracruz, México, Figura 1. Éste presenta un clima cálido húmedo, que se clasifica como A x' (wI (y) w²); la temperatura media anual es de 23.8° C, la precipitación pluvial anual es de 1271 mm, el mes con mayor lluvia es septiembre (258 mm) y el de menor, febrero (52 mm), Figura 2 (García, 1988).

Del hato de aproximadamente 300 vacunos, cruza de cebú (*Bos indicus*) con suizo pardo (*Bos taurus*), se emplearon 46 vacas positivas al trematodo. Dichos vacunos

estaban sometidos a pastoreo extensivo y fueron identificados con un arete de plástico en la oreja.

Diseño experimental

Se diseñaron 2 modelos de control quimioterapéutico contra *F. hepatica*, se tomó en cuenta la cantidad de huevos del trematodo en 5 g de heces (HP5G) en enero, la precipitación pluvial mensual durante el año, la transmisión del parásito, considerando que ocurre todo el año, pero varía de intensidad de acuerdo con Rangel (1995); se consideró también la eficacia del triclabendazol* en dosis de 12 mg/kg (TBZ) contra estadios inmaduros y adultos (Boray *et al.*, 1985), y el manejo de pastoreo extensivo del ganado. El modelo 1 con tratamiento en enero de 1996, (testigo), y el modelo 2, con tratamientos en enero y mayo de 1996. La variable independiente fue el efecto del tratamiento de mayo y la dependiente el efecto del tratamiento de enero, dichos modelos se aplicaron a los grupos (G) G1 y G2 de 23 vacas cada uno respectivamente. Los grupos se conformaron de acuerdo con la cantidad de HP5G eliminados en el muestreo previo al tratamiento (día -30).

Desde enero de 1996, aproximadamente cada 45 días y durante 13 meses, se recolectaron y examinaron muestras de heces de manera individual a los 2 grupos. Enero de 1996 muestreo 1 (M1), febrero (M2), marzo (M3), mayo (M4), junio (M5), agosto (M6), septiembre (M7), noviembre (M8), diciembre (M9) y diciembre (M10). Se procesaron 5 g de heces mediante la técnica de sedimentación de Benedek, modificada por Happich y Boray (1969). Con los datos obtenidos en los exámenes coprológicos del conjunto de muestras positivas y negativas se calculó: 1/ Porcentaje de muestras positivas a huevos de *F. hepatica*; 2/ Media de HP5G \pm error estándar (e.e.); 3/ Rango de máxima y mínima; 4/ Coeficiente de variación; 5/ Porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G de los diferentes muestreos contra (*vs*) el primer muestreo (%RT vs M1); 6/ Porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G de los diferentes muestreos por pares *vs* la media de HP5G de cada muestreo del grupo testigo (%RT vs T); 7/ Porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G de todos los

* Fasinex marca registrada por Novartis S.A. de C.V.

muestreos del grupo contra el grupo testigo (%RTGvsT), dichos porcentajes se calcularon de acuerdo a la fórmula señalada por Greenberg *et al.* (1998), los cálculos se hicieron para el porcentaje de muestras positivas y la media de HP5G, de acuerdo a las fórmulas descritas en las páginas 43 y 44. Dichos porcentajes expresan en qué medida mejoró el grupo menos infectado en muestras positivas y cuál eliminó menos cantidad de huevos con respecto al testigo.

Adicionalmente, los parámetros 2, 3, 4 y 5 se calcularon para cada grupo, considerando únicamente el conjunto de muestras positivas.

Por otra parte, se evaluó la eficacia del fasciolicida a través de: 1/ Efecto extensión del TBZ y 2/ Efecto intensidad del TBZ, calculados según la fórmula utilizada por otros autores (Chroustová y Willomizer, 1974; Eckert, *et al.*, 1984; Wood *et al.*, 1995), considerando como comparación, los valores del propio grupo el día en que se aplicó el tratamiento contra el muestreo siguiente al mismo. (Eckert, *et al.*, 1984; Ibarra y Vera, 1991). Las fórmulas se describen en la página 44.

Con los resultados de HP5G se compararon los valores obtenidos en los diferentes muestreos realizados en el mismo grupo, empleando la prueba de Friedman (Daniel, 1984), esta prueba también se utilizó para comparar en cada grupo la cantidad de HP5G obtenidos en el muestreo en que se aplicó el tratamiento y en el siguiente al mismo (efecto intensidad), cuando hubo diferencia entre los muestreos se aplicó la prueba de Nemenyi (Zar, 1996). El efecto de los dos tratamientos entre los dos grupos se comparó mediante la prueba de Kruskal-Wallis, (Daniel, 1984) y, cuando la hubo, se aplicó la prueba de Nemenyi (Zar, 1996) entre los valores de HP5G obtenidos en el mismo muestreo, entre los grupos de animales. Finalmente para conocer el coeficiente de correlación entre niveles de anticuerpos, HP5G, GGT y AST se aplicó la prueba de Spearman, (Daniel, 1984), utilizando el programa Statistical Analysis System (SAS) (Ronald y Jeff, 1991).

En las mismas fechas elegidas para la toma de muestras de heces, se extrajo también una muestra de sangre, de un subgrupo de 15 bovinos de cada uno de los 2 grupos. Una parte de cada muestra de suero se utilizó para el estudio inmunológico y la otra en las determinaciones enzimáticas.

La detección de anticuerpos anti- *F. hepatica* en el suero se realizó mediante la lectura de densidades ópticas, utilizando la técnica de ELISA indirecta; se empleó también un antígeno de secreciones-excreciones de dicho parásito, preparado como lo describen Boulard *et al.* (1985) Montenegro (1997) e Ibarra *et al.* (1998).

El punto de corte fue considerado positivo cuando el valor fue mayor a 0.50, y de menor a igual a 0.36; se consideraron negativos, con un rango de sospechosos, a los que tuvieron un valor de densidad óptica de 0.37 a 0.49 (Montenegro, 1997).

Los valores de GGT y AST se determinaron mediante el empleo de la prueba cinética de diagnóstico según Tietz (1982). La interpretación de los valores de GGT en ganado bovino sano tienen un rango de hasta 17 según Rowlands y Clampitt (1979). La interpretación de los resultados de AST obtenidos se hizo de acuerdo con otros autores (Rowland y Clampitt, 1979; Bulgin y Anderson, 1984; Boray *et al.*, 1985) quienes señalan como valores en bovinos sanos de 78 a 132 UI/L.

Para cada uno de los 2 grupos y durante los 10 muestreos con los valores de GGT y AST se calcularon: 1/ Porcentaje de muestras positivas; 2/ Media y error estándar (e.e.), posteriormente se compararon por pares entre los diferentes muestreos de cada grupo mediante la prueba de Friedman (Daniel, 1984). Los diferentes muestreos entre los 2 grupos se cotejaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis (Daniel, 1984). También se determinó el coeficiente de correlación de rangos entre HP5G/GGT, HP5G/AST, y GGT/AST, mediante la prueba de Spearman (Daniel, 1984), empleando el programa SAS (Ronald y Jeff, 1991).

Resultados

En el G1 (testigo), el porcentaje de muestras positivas en enero, M1, fue de 100 %; sin embargo, los siguientes muestreos variaron de 21.7 % en febrero, M2, a 100 % de septiembre M7 a enero, M10. La media de HP5G en enero, M1, fue de 13.2 ± 3.1 ; los siguientes muestreos variaron de 0.5 ± 0.2 en febrero, M2, a 21.1 ± 3.0 en diciembre, M9, con diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$). El rango, el coeficiente de variación y el porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs el M1; así como los valores de las muestras únicamente positivas, la media de HP5G, el rango, el coeficiente de variación entre los muestreos y el porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs el M1 también se presentan en el Cuadro 1.

En el G2 el porcentaje de muestras positivas fue de 100 % en enero, M1, no obstante, en los siguientes muestreos varió de 8.6 % en febrero, M2, a 95.6 % en diciembre M9. La media de HP5G en enero, M1, fue de 15.0 ± 3.6 , sin embargo en los muestreos posteriores varió de 0.1 ± 0.1 en febrero, M2, a 15.7 ± 3.0 en enero, M10, con diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0.05$). El rango, el coeficiente de variación y el porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs M1 se presentan en el Cuadro 2

Al comparar los valores de HP5G de cada muestreo entre los dos grupos, mediante la prueba de Kruskal-Wallis, se encontró que sólo hubo diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.01$), al aplicar la prueba de Nemenyi se encontró que hubo diferencia estadísticamente significativa en los muestreos de mayo, M5, noviembre, M8, y diciembre, M9 ($P < 0.05$).

En cuanto a los valores únicamente de muestras positivas, la media de HP5G en enero M1 fue de 15.0 ± 3.6 ; sin embargo, en los siguientes muestreos oscilaron de 2.0 ± 1.0 en febrero, M2, a 16.4 ± 3.1 en diciembre, M9. Debido a que el número de muestras positivas se redujo demasiado en algunos muestreos, no se hizo el análisis estadístico, por lo que se presenta solamente el análisis descriptivo de este conjunto. El rango, el coeficiente de variación y el porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs el M1 se presentan en el Cuadro 2.

El porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G de los diferentes muestreos por pares vs la media de HP5G del Grupo testigo, se notan en el Cuadro 3.

Respecto al efecto extensión y efecto intensidad de los tratamientos administrados en enero M1, en el G1 (testigo) el efecto extensión fue de 78.3 % mientras que el efecto intensidad fue de 96.2 % con diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$). No obstante, en el G2 el efecto extensión fue de 91.4 % y el efecto intensidad fue de 99.3 % con diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$). Ahora bien, el efecto extensión del tratamiento administrado en mayo, M5, en el G2 fue de 45.6 % y el efecto intensidad de 0 %.

El porcentaje de reducción de tasa global de la media de HP5G vs el testigo, en el G2, en comparación con el G1 (testigo), considerando el porcentaje de muestras positivas fue de 18.4 %, y en la media de HP5G de 27.6 %.

La media de valores de anticuerpos anti *F. hepatica* en los dos grupos y en todos los muestreos fue positiva (Figura 3).

En el G1 el coeficiente de correlación entre el promedio de HP5G y los niveles de anticuerpos fue negativo en 5 muestreos (febrero, M2, marzo, M3, septiembre, M7, noviembre, M8 y enero, M10), los restantes fueron positivos, sin embargo solamente junio tuvo 0.87, en el resto, los valores fueron menores. En el G2 dicho coeficiente fue negativo en 3 muestreos (febrero, M2, junio, M5 y agosto, M6), el resto fue positivo, no obstante entre los positivos el mayor fue enero, M1, con 0.42.

La media de GGT del G1 fue mas elevada que en el G2 en los muestreos de junio, M5, y agosto, M6 (Figura 4).

En cuanto al coeficiente de correlación entre HP5G, GGT, fue baja en el G1; la máxima fue de 0.55 en mayo. En el G2, el valor máximo del mencionado coeficiente fue

de 0.47 en enero, M10. En virtud de que los niveles de AST no rebasaron los valores normales, el coeficiente de correlación no se consideró.

Discusión

En el diseño experimental, los dos grupos fueron tratados en enero, debido a que ya se sabe que si no se desparasitan contra el trematodo, hay muertes, por lo que el G1 fue el testigo o grupo de comparación, contra el G2, con un tratamiento en mayo. Para saber en qué medida cambiarían los parámetros coprológicos, inmunológicos y enzimáticos, se consideró la variable independiente el tratamiento de mayo.

La reducción observada en la eliminación de huevos de *F. hepatica*, a través del porcentaje de muestras positivas y de la media de HP5G, en los 2 grupos fue similar en enero, situación que concuerda con lo señalado por otros autores (Boray *et al.*, 1985; Eckert *et al.*, 1984; Rapic *et al.*, 1988). En los siguientes muestreos de febrero, M2, y marzo, M3, no hubo diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) entre los grupos, sin embargo en el muestreo de mayo, M4, ésta situación se interpreta como variación biológica asociada a la receptividad del huésped y la cantidad de parásitos. El incremento en la eliminación de huevos en ambos grupos, en el 2º, 3º y 4º muestreos sugiere reinfección y maduración de estadios inmaduros del trematodo; sin embargo, el incremento en el grupo testigo (G1) en el 5º muestreo, en más de 3 veces y en relación con el G2, se interpreta como efecto del tratamiento de mayo, M4. El G1 (testigo) alcanzó, a partir del muestreo de septiembre, M7, el 100 % de muestras positivas, la media de HP5G en los muestreos de junio, M5, noviembre, M8, diciembre, M9, y enero, M10, superó a los valores iniciales, situación que sugiere que la reinfección fue mayor ese año, debido, en parte, a las condiciones climáticas y a la concentración de ganado en las partes bajas del rancho, con mayores posibilidades de infección.

En el porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G de cada muestreo del G1 vs M1, se aprecian 4 valores negativos; es decir, no hubo reducción, sino incremento. No obstante, en el G2 el porcentaje de muestras positivas, así como la media de HP5G no alcanzaron los niveles iniciales, y solamente hubo un valor negativo

en el porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G de cada muestreo del G1 vs M1, situación que pudo deberse al tratamiento administrado en mayo, M4.

En el conjunto con valores de muestras únicamente positivas, éstos se hacen más evidentes como se aprecia en el Cuadro 1, en los muestreos: M5, M8, M9 y M10, debido, quizá, a la reinfección, susceptibilidad del huésped y ausencia de un segundo tratamiento.

En 8 muestreos, el G2 (tratado en mayo) tuvo valores de HP5G menores al G1 testigo, sin embargo solamente los muestreos: M5, M8 y M9 fueron diferentes estadísticamente, lo que sugiere el efecto del tratamiento de mayo. Aunque los valores de los muestreos: M6, M7 y M10 fueron menores en el G2, la variación fue tan grande que la diferencia estadística no se manifestó.

El efecto extensión y el efecto intensidad, expresados en porcentaje, miden la eficacia del fasciolicida en la reducción del número de muestras positivas y la cantidad de HP5G eliminados, respectivamente (Eckert *et al.*, 1984; Rapic *et al.*, 1988). Sin embargo, la eliminación de huevos en el G2 no se redujo como se esperaba después del tratamiento de mayo. Esta situación sugiere que en mayo, M4, posiblemente la cantidad de estadios inmaduros tempranos del parásito era elevada, y el fasciolicida no los eliminó de manera significativa, como lo describe Boray *et al.* (1985). También cabe la posibilidad de estar frente a una población con algún grado de resistencia, como lo señalan algunos autores en ganado ovino en Australia (Overed y Bowen, 1995; Boray, 1990) y ganado bovino en Holanda (Lammert *et al.*, 2000).

La disminución de eliminación de huevos del parásito en los 2 grupos fue significativa en algunos muestreos y coincide parcialmente con lo señalado por Echevarría *et al.* (1992) en Brasil, aunque ellos trataron con TBZ al ganado vacuno en mayo y septiembre, posiblemente debido a diferencias de clima en ese país del hemisferio sur, mientras que los tratamientos en el presente estudio fueron en enero y mayo.

Al analizar el porcentaje de muestras positivas del G1 (testigo), se aprecia que tuvo un mayor número de este porcentaje al compararlo con el G2, situación que sugiere el efecto del segundo tratamiento, sin embargo, se considera que es necesario aplicar un mayor número de tratamientos en épocas adecuadas, como puede ser de junio a diciembre. Sin embargo, serán motivo de otros estudios complementarios, para llegar a tener los modelos adecuados.

El porcentaje de reducción de tasa contra el grupo testigo (G1), cuando se consideraron todos los muestreos, permitió cuantificar la mejoría obtenida, en la reducción de muestras positivas y la media de HP5G en el G2 con 2 tratamientos, interpretándose que la mejoría obtenida de 18.4 % en el porcentaje de muestras y 27.6 % en la media de HP5G fue por el segundo tratamiento.

Al aplicar el segundo tratamiento en mayo al G2, la reducción de muestras positivas, como de la media de HP5G no tuvieron un comportamiento similar al tratamiento de enero, debido al supuesto grado de infección por estadios inmaduros en el momento del tratamiento (mayo). La diferencia estadística solamente fue en los muestreos: M5, M8 y M9; esta situación fundamenta la necesidad de realizar otros experimentos con tratamientos adicionales en los meses de junio a diciembre, aunado a mejores sistemas de manejo zootécnico.

Los niveles de anticuerpos anti-*F. hepatica* al inicio del experimento confirmaron la utilidad y ventaja como medio diagnóstico (Boulard *et al.*, 1985); posteriormente, con ciertas fluctuaciones, se mantuvieron positivos, lo cual se interpretó que han estado expuestos y posiblemente a un estado de constante reinfección por ser zona endémica tropical, con transmisión todo el año (Rangel, 1995). Por otra parte, dichos niveles de anticuerpos no guardaron una relación con el efecto de los tratamientos, ya que éstos no manifiestan de manera inmediata el acontecimiento quimioterapéutico.

El coeficiente de correlación entre HP5G y niveles de anticuerpos fue bajo e irregular, debido, en parte, al efecto de los tratamientos fasciolicidas, a la variación biológica de eliminación de huevos, interpretando ésta como la variación por diferente cantidad de parásitos, edad de los mismos, excreción de bilis, tipo de alimentación, etc., y por otra, a la permanencia de los anticuerpos por varios meses. Se interpreta que, bajo las condiciones de campo en que se trabajó, hay efectos confundidos entre los niveles de anticuerpos, la eliminación del parásito por el tratamiento, y las reinfecciones, aparentemente durante todo el año.

Los niveles de GGT en el G1 estuvieron arriba de lo normal todo el año; sin embargo entre marzo y diciembre se observan los valores más altos, sugiriendo un incremento de las reinfecciones y su consecuente lesión hepática, situación que coincide con lo que señala Rangel (1995) sobre la transmisión todo el año, pero con diferente grado de intensidad, que en este caso parece incrementarse de junio a diciembre. Dicha situación obedece a las condiciones del clima, la temperatura superior a 10 ° C (Boray, 1985), durante todo el año permite el desarrollo de los moluscos transmisores, la lluvia, aunque varía, en los meses de menor precipitación (febrero marzo) la humedad se conserva en los agujeros y partes bajas de los potreros, permitiendo el desarrollo de los caracoles. También se nota que los promedios de GGT fueron más bajos en el G2 en junio y agosto, en comparación con el testigo, debido al efecto del tratamiento fasciolicida de mayo; sin embargo, se aprecia una gran variación de dichos niveles, que sugiere lesión en algunos individuos con mayor grado de susceptibilidad.

Los valores (medios) séricos de AST en ambos grupos no sobrepasaron el rango normal de acuerdo con Bulgin y Anderson (1984); sin embargo en los muestreos de agosto y septiembre, se aprecia en el G2, niveles individuales que indican que estuvieron arriba de lo normal, interpretado como reinfección y lesión en esos individuos, aunque la media del grupo fue normal.

En conclusión, el G2, que fue tratado en enero y mayo (modelo 2), tuvo un mejor comportamiento en la reducción de muestras positivas y media de HP5G,

respectivamente, en relación con el G1 (modelo 1, testigo). El efecto extensión y el efecto intensidad del tratamiento con TBZ aplicado en mayo fue menor, al aplicado en enero, sin embargo los niveles de anticuerpos se mantuvieron positivos durante el estudio y los valores medios de AST no rebasaron los niveles normales, no obstante, los valores más altos de GGT fueron detectados en el grupo testigo.

Agradecimientos

Proyecto financiado parcialmente por la Dirección General de Apoyo al Personal Académico de la UNAM. PAPIIT IN-218996.

A Novartis Salud Animal S.A. de C.V. México, por la donación de Fasinx.

Al Sr. Orlando Irizón Capitaine propietario del rancho Las Gaviotas por todas las facilidades dadas para la realización del trabajo de campo.

Literatura citada

Boray, J.C., 1982. Fascioliasis. Handbook series in zoonoses. Vol III. Boca Ratón (Fl): CRC Press.

Boray, J.C., 1985. Flukes of domestic animals. In: Gaafar MS, editor.. Parasites, Pest and Predators. Amsterdam., Elsevier, pp. 179-218.

Boray, J.C., Jackson, R. and Strong, M.B., 1985. Chemoprophylaxis of fascioliasis with triclabendazole. *N. Z. Vet. J.*, 33: 182-185.

Boulard, C., Boury, M. et Argente, G., 1985. Comparaison de la détection des foyers de fasciolose par test ELISA sur lactosérum et par coproscopie. *Ann. Rech. Vét.*, 16: 363-368.

Boray, J.C., 1990. Drug resistance in *Fasciola hepatica*. Resistance of parasites to antiparasitic drugs. Round Table Conference, VII International Congress of Parasitology: 1990. August 19-24; Paris, France. Paris, France: World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology. 51-60.

Bulgin, B.C. and Anderson, P.H., 1984. Serum gamma-glutamyl transpeptidase activity in cattle with induced fascioliasis. *Res. Vet. Sci.*, 37: 166-169.

- Chroustova, E. and Willomizer, J., 1974. Control of *Fasciola hepatica* in cattle by means of complex methods involving molluscicide treatment of *Lymnaea truncatula* biotopes. *Acta Vet. Brno*, 3: 397-410.
- Daniel, W.W., 1984. Bioestadística, base para el análisis de las ciencias de la salud. México (D.F). Limusa pp. 377-383
- Echevarría, F.A.M., Correa., M.B.C., Werhle, R.D. and Correa, I.F., 1992. Experiments on anthelmintic control of *Fasciola hepatica* in Brazil. *Vet. Parasitol.*, 43: 211-222.
- Eckert, J., Schneiter, G. und Wolff, K., 1984. Fasinex (Triclabendazol)- ein neues Faszioizid. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*, 97:349-356.
- Faría, S.L.S., Quiroz, R.H., Ibarra, V.F., Sánchez, S.M.R. y Salcedo, E.R., 1996. Tiempo de normalización de los niveles de gamma-glutamyl transpeptidasa en ovinos con fasciolosis experimental tratados con triclabendazol. *Vet Méx.*, 27: 235-239.
- García, E., 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köeppen para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana. México (DF): Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, pp. 192.
- Greenberg, R. S., Daniels, R. F., Flanders, D.W., Eley, J.W. y Boring, R. J., 1998. Epidemiología médica. 2ª ed. México (DF); Manual Moderno pp. 122-123.
- Happich, F.A. and Boray, J.C., 1969. Quantitative diagnosis of chronic fascioliasis. *Austr. Vet. J.*, 45: 326-328
- Hillyer, V.G., Sánchez, Z. and León de D., 1985. Immunodiagnosis of bovine fascioliasis by enzyme-linked immunosorbent assay and immunoprecipitation methods. *J. Parasitol.*, 71: 449-451.
- Ibarra, V.F. and Vera, M.Y., 1991. Comparación del efecto extensivo de cinco fasciolicidas en bovinos en clima cálido. *Vet. Méx.*, 22: 159-163.
- Ibarra, F., Montenegro, N., Vera, Y., Boulard, C., Quiroz., H., Flores, J. and Ochoa, P., 1998. Comparison of three ELISA test for seroepidemiology of bovine fasciolosis. *Vet. Parasitol.*, 77: 229-236.
- Khan, A., Khan, T.M., Basra, M.A., Rabbani, A. and Chaudhry, Z.I., 1989. Effect of natural fascioliasis on total bilirubin and glutamic oxalacetic transaminase. *Pakistan. Vet. J.*, 9: 17-19.

- Lammert, M., Gaasenbeek, C.P.H., Vellema, P. and Borgsteede, F.H.M., 2000. Resistance of *Fasciola hepatica* against triclabendazole in cattle and sheep in The Netherlands. *Vet. Parasitol.*, 91: 153-158.
- Montenegro, C.N., ELISA indirecta: Estandarización como prueba diagnóstica de *Fasciola hepatica* en bovinos. (tesis de licenciatura). Cuernavaca, Morelos: Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, 1997.
- Overed, D.J. and Bowen, F.L., 1995. Resistance of *Fasciola hepatica* to triclabendazole. *Austr. Vet. J.*, 72 : 275-276.
- Rangel, R.J.L., Estudio poblacional de la fasciolosis en el estado de Tabasco (tesis doctorado). México (DF): Facultad de Ciencias. UNAM, 1995.
- Rapic, D., Dzakula, N., Sadar, D. and Richards, R.J., 1988. Comparative efficacy of triclabendazole, nitroxinil and rafoxanide against immature *Fasciola hepatica* in naturally infected cattle. *Vet. Rec.*, 22: 59-62.
- Ronald, P.C. and Jeff, S.K., 1991. Applied Statistic and Programing Leguage 3th Edition, Elsevier Sciences Publishing, New York, USA. 1991.
- Rowlands, D.T. and Clampitt, R.B., 1979. Plasma enzyme levels in ruminants infected with *Fasciola hepatica*. *Vet. Parasitol.*, 5: 155-157.
- Santiago, N. and Hillyer, G., 1988. Antibody profile by EITB and ELISA of cattle and sheep infected with *Fasciola hepatica*. *J. Parasitol.*, 74: 810-818.
- Sinclair, I. J. and Wassall D.A., 1988. Sero-diagnosis of *Fasciola hepatica* infection in cattle. *Vet. Parasitol.*, 27: 283-290.
- Sykes, A.R., Coop, R.L. and Robinson, M.G., 1980. Chronic subclinical ovine fascioliasis: plasma glutamate deshidrogenase, gamma-glutamyl transpeptidase and aspartate amino transferase and their significance as diagnostic aid. *Res. Vet. Sci.*, 28: 71-75.
- Tietz, N.W., 1982. Fundamentals of clinical chemistry. 2nd ed. Toronto (Ca): W.B. Sanders Co.
- Wensvoort, P. and Over, H.J., 1982. Cellular proliferation of the bile ductules and gamma-glutamyl transpeptidase in livers and sera of young cattle following a single infection with *Fasciola hepatica*. *Vet. Q.*, 4: 161-172.

- Wyckoff, J.H. and Bradley, R.E., 1985. Diagnosis of *Fasciola hepatica* infection in beef calves by plasma enzyme analysis. *Am. J. Vet. Res.*, 46: 1015-1019.
- Wood, I.B., Amaral, N.K., Bairden, K., Duncan, J.L., Kassai, T. and Malone, J.B., 1995. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition of guidelines for the evaluating the efficacy of anthelmintic in ruminants (bovine, ovine, caprine). *Vet. Parasitol.*, 58: 181-213.
- Zar, J.H., 1996. Bioestatistical Analysis. Englewood Cliff. New Jersey. Ed. Prectice Hall, pp. 622.

Cuadro 1

CINÉTICA DE ELIMINACIÓN DE HP5G DE *F. hepatica* EN GANADO BOVINO
TRATADO CON TRICLABENDAZOL EN ENERO (GRUPO 1 TESTIGO)

M	Valores con muestras positivas y negativas					Valores con muestras positivas			
	% de muestras positivas	Media de HP5G ± e.e.	Rango	C.V.	% RT vs M1	Media de HP5G ± e.e.	Rango	C.V.	% RT vs M1
M1 ene.	100.0	13.2±3.1 c *	2-72	113.9	0.0	13.2± 3.1	2-72	113.9	0.0
M2 feb.	21.7	0.5±0.2 a	0-5	225.2	96.2	2.6 ± 0.6	1-5	58.3	80.3
M3 mar.	26.0	0.8± 0.3 a	0-4	177.8	93.9	3.3 ± 0.3	2-4	24.4	75.0
M4 may.	47.8	0.4±1.8 ab	0-39	217.8	96.9	8.5 ± 3.4	1-39	134.6	35.6
M5 jun.	91.3	14.6±3.8 cd	0-75	126.6	-10.6	16.0 ± 4.1	2-75	117.5	-21.4
M6 ago.	78.2	8.1±1.8 bc	0-36	111.0	38.6	10.4 ± 2.1	1-36	86.4	21.2
M7 sep.	100	12.1±2.0 c	2-40	79.9	8.3	12.1 ± 2.0	2-40	79.8	8.3
M8 nov.	100	16.0±2.6 de	6-58	79.1	-21.2	16.0 ± 2.6	6-58	79.1	-21.2
M9 dic.	100	21.1±3.0 e	8-77	69.5	-59.8	21.1 ± 3.0	8-77	69.5	-59.8
M10 ene.	100	19.0±2.9 e	7-68	69.9	-43.2	19.0 ± 2.9	7-68	69.9	-43.9

M= muestreos.

* Letras distintas denotan diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$).

C.V. = Coeficiente de variación.

RTvsM1= Porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G de los diferentes muestreos vs el muestreo 1.

Cuadro 2

CINÉTICA DE ELIMINACIÓN DE HP5G DE *F. hepatica* EN GANADO BOVINO TRATADO CON TRICLABENDAZOL EN ENERO Y MAYO (GRUPO 2)

M	Valores de muestras positivas y negativas					Valores de muestras positivas			
	% de muestras positivas	Media de HP5G \pm e.e.	Rango	C.V.	% RT vs M1	Media de HP5G \pm e.e.	Rango	C.V.	%RT vs M1
M1 ene.	100	15.0 \pm 3.6 c	1-84	115.4	0.0	15.0 \pm 3.6	1-84	115.4	00.0
M2 feb.	8.6	0.1 \pm 0.1 a	0-3	373.9	99.3	2.0 \pm 1.0	1-3	70.7	86.6
M3 mar.	17.3	0.5 \pm 0.2 a	0-4	230.2	96.6	3.0 \pm 0.4	2-4	27.2	80.0
M4 may.	47.8	3.3 \pm 1.5 a	0-35	225.5	78.0	6.9 \pm 2.9	1-35	140.6	54.0
M5 jun.	26.0	3.6 \pm 2.8 ab	0-67	384.7	76.0	13.8 \pm 10.6	3-67	188.3	8.0
M6 ago.	69.5	6.3 \pm 1.2 b	0-21	96.2	58.0	9.1 \pm 1.3	2-21	57.6	39.3
M7 sep.	82.6	8.9 \pm 2.1 bc	0-48	113.8	40.6	10.7 \pm 2.3	3-48	94.7	28.6
M8 nov.	82.6	9.0 \pm 2.0 c	0-44	106.4	40.0	10.9 \pm 2.1	1-44	87.2	27.3
M9 dic.	95.6	15.7 \pm 3.0 c	0-68	93.7	-4.6	16.4 \pm 3.1	2-68	89.2	-9.3
M10 ene.	94.7	14.1 \pm 2.1 c	0-34	65.9	6.0	14.8 \pm 2.1	3-34	59.8	21.3

M= muestreos.

* Letras distintas denotan diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$).

C.V. = Coeficiente de variación.

RTvsM1= Porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G de los diferentes muestreos vs el muestreo 1.

Cuadro 3

PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DE TASA DE LA MEDIA DE HP5G DE
F. hepatica VS EL GRUPO G1 (TESTIGO)

M	Valores de muestras positivas y negativas		Valores de muestras positivas	
	G1 tratado en enero (testigo*)	G2 tratado en enero y mayo	G1 tratado en enero (testigo)	G2 tratado en enero y mayo
M1 ene.	0	-13.6**	0	-13.6
M2 feb.	0	80.0	0	23.0
M3 mar.	0	37.5	0	9.0
M4 may.	0	-7.2	0	18.8
M5 jun.	0	75.3	0	13.7
M6 ago.	0	22.2	0	12.5
M7 sep.	0	26.4	0	11.0
M8 nov.	0	43.7	0	31.8
M9 dic.	0	25.5	0	22.2
M10 ene.	0	25.7	0	22.1

*El testigo fue considerado 0 reducción.

**Valores negativos indican que no hubo reducción sino incremento de HP5G.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



Figura 1. Mapa de México y el estado de Veracruz, con la localización geográfica del poblado de Nautla.

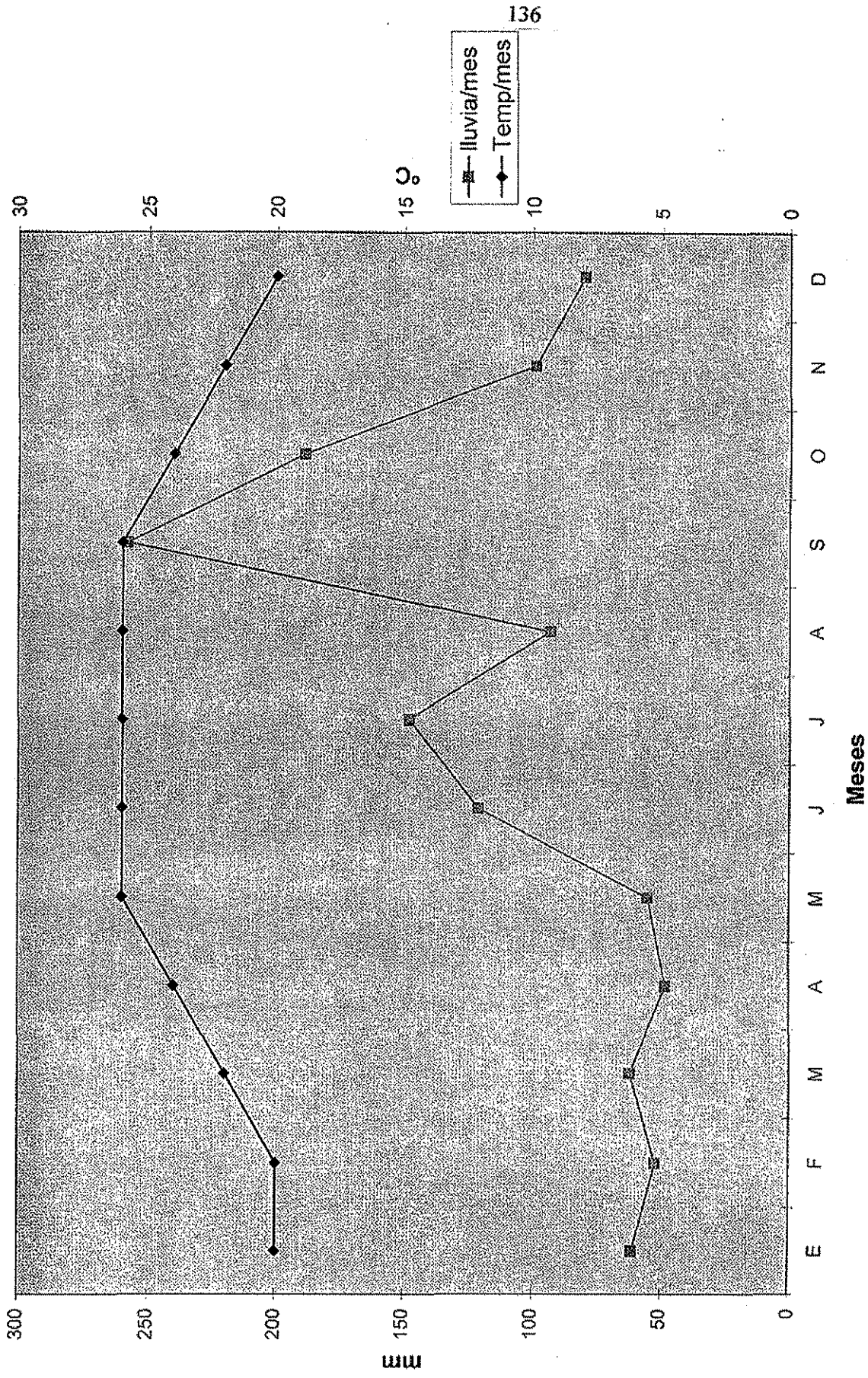
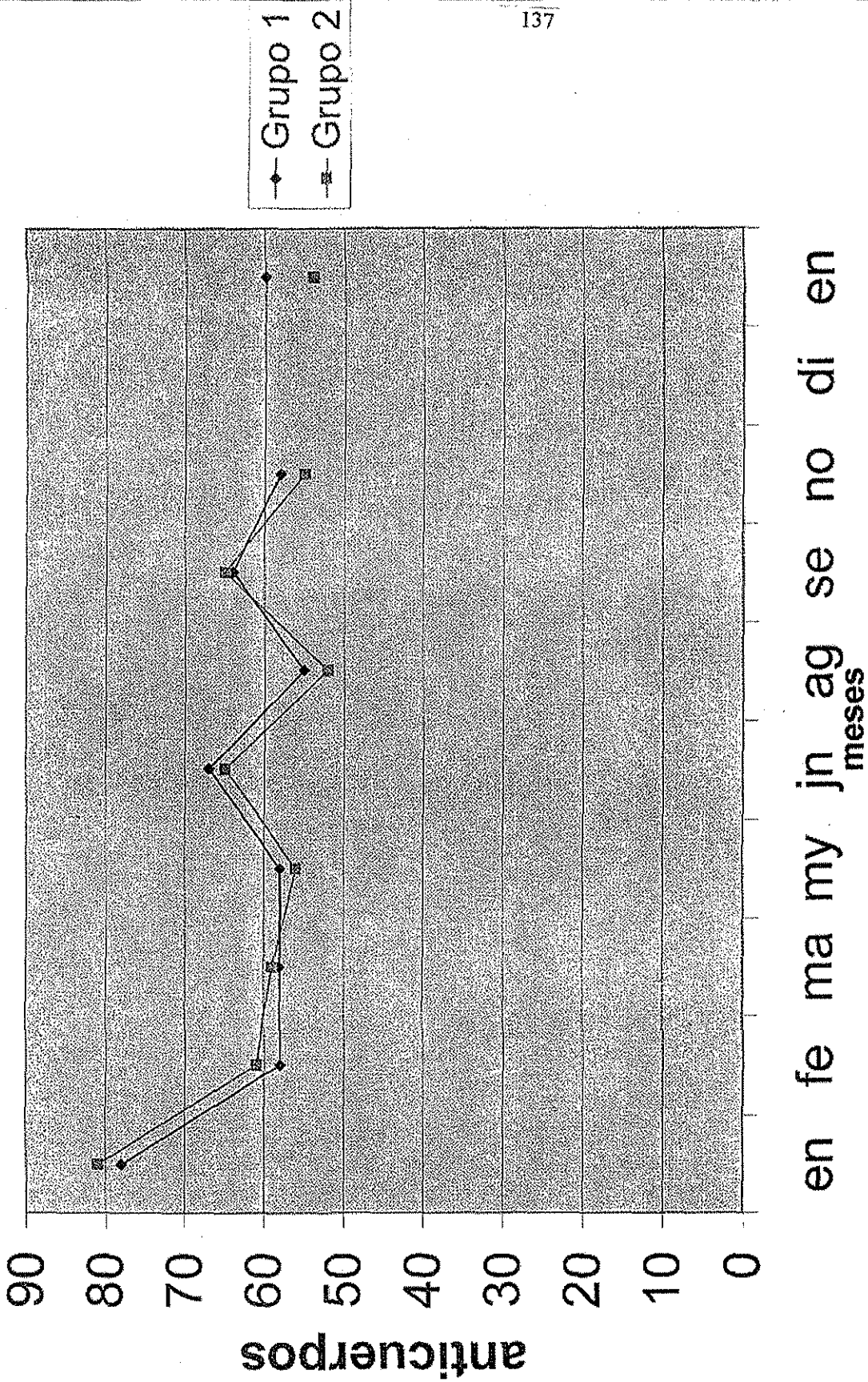


Figura 2. Precipitación pluvial y temperatura media mensuales en Nautla, Veracruz, México.



en fe ma my jn ag se no di en
meses

Figura 3. Niveles de anticuerpos anti-F. hepatica mediante ELISA en bovinos tratados con tbz.

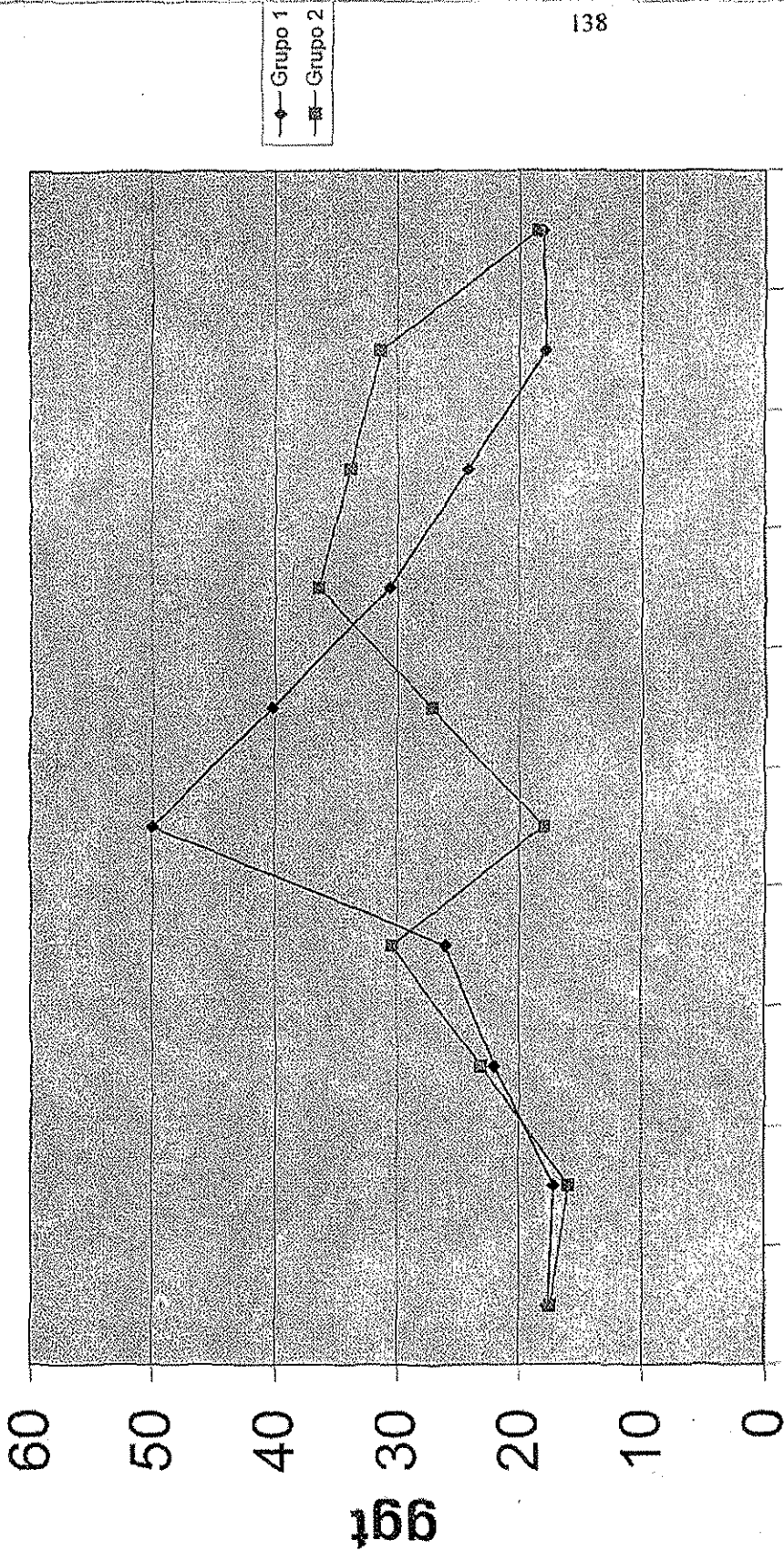


Figura 4. Niveles de GGt en bovinos tratados con trichlabendazol en enero (G1), y enero y mayo (G2).

en fe ma my jn ag se no di en
meses

3.2.2. Modelos de tratamientos estratégicos contra *Fasciola hepatica* en ganado bovino en clima cálido

Quiroz, R.H.,* Ibarra, V.F.,* Ochoa, G.P.,* Manga-González, M.Y.,** Montenegro, C.N.* y Salcedo, R.E*.

*Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

** Estación Agrícola Experimental, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Apartado postal 788, 24080 -León, España.

Abstract

In order to evaluate 3 models of chemotherapy control against *F. hepatica* in naturally infected cattle located on a farm in the municipality of Nautla, Veracruz, México, triclabendazole (TBZ) was administered once, three or four times, in different months to significantly reduce faecal egg output. Furthermore, *F. hepatica* antibody values as well as seric levels of gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) and aspartate amino transferase (AST) were determined. Three groups (G), of 23 animals each received 12 mg/kg of TBZ. G1, the control group, was treated in January (model 1); G2 in January, May and July (model 2); and G3 in January, May, August and October (model 3). Faeces samples were collected from all animals every 45 days on 10 occasions in order to performe the faecal egg count on 5 gram of faeces (EP5G). At the same time, blood samples were collected from 15 cows in each group to detect antibodies in the serum using the ELISA test anti-*F. hepatica*, and to determine the GGT and AST enzymes by means of spectrophotometry. The improvement percentage versus the control of mean of EP5G was 25.8 % for the G2 (model 2) and the 49.6 % for the G3 (model 3) both compared with G1 (model 1). AST activity did not exceded the normal limit in any of the three groups. Antibody levels were positive in all the sampling and were not affected by the treatment or reinfection. The behaviour of G3 was the best and this coincides with the greatest reduction in EP5G and GGT levels.

Key words: *Fasciola hepatica*, TRICLABENDAZOLE, CONTROL, CATTLE, ELISA, GAMMA-GLUTAMYL TRANSPEPTIDASE, ASPARTATE AMINO TRANSFERASE.

Resumen

Con el objetivo de evaluar 3 modelos de control quimioterapéutico contra *F. hepatica* en ganado vacuno, se aplicó el triclabendazol (TBZ) en 1, 3 y 4 ocasiones, en diferentes meses del año, para reducir al máximo la eliminación de huevos. Paralelamente se precisaron los niveles de anticuerpos anti-*F. hepatica* y los valores en suero de gamma-glutamil transpeptidasa (GGT) y aspartato amino transferasa (AST). Dichos modelos se aplicaron a 3 grupos (G) de 23 cabezas cada uno, los que fueron tratados con TBZ con dosis de 12 mg/kg. El G1 en enero (modelo1); el G2, en enero, mayo y julio (modelo 2); y el G3 en enero, mayo, agosto y octubre (modelo 3). Cada 45 días, durante 10 ocasiones se recolectaron muestras de heces de todos los animales para determinar la cantidad de huevos en 5 g de heces (HP5G). Simultáneamente se tomaron muestras de sangre de 15 animales de cada grupo, para detectar en el suero los anticuerpos anti- *F. hepatica* por ELISA, así como cuantificar las enzimas GGT y AST por espectrofotometría. Los niveles de anticuerpos fueron positivos en todos los muestreos y parece que no fueron alterados por el efecto del tratamiento. La AST no rebasó el límite normal en los 3 grupos. El porcentaje de reducción de tasa global vs testigo, de la media de HP5G fue 25.8 % para el G2 (modelo 2) y de 49.6 % para el G3 (modelo 3), ambos en comparación al testigo G1 (modelo1). Los valores de anticuerpos parecen no alterarse por efecto del tratamiento y la reinfección. El comportamiento del G3 fue el mejor lo que concuerda con la mayor reducción de HP5G y con los niveles de GGT.

Palabras clave: *Fasciola hepatica*, TRICLABENDAZOL, CONTROL, BOVINOS, ELISA, GAMMA-GLUTAMIL TRANSPEPTIDASA, ASPARTATO AMINO TRANSFERASA.

Introducción

La fasciolosis en rumiantes es una parasitosis con elevada prevalencia en varios estados de México (Castellanos *et al.*, 1992; Encinas *et al.*, 1989). Estudios recientes revelan que las pérdidas en la ganancia de peso en ganado vacuno son del orden de 50 a 100 kg. (Malone y Craig, 1990). En los países desarrollados el control de la fasciolosis se basa principalmente en la aplicación de tratamientos estratégicos y tácticos, los que

en su mayor parte están basados en el conocimiento del ciclo biológico del parásito y de su huésped intermediario (Roberts y Suhardono, 1996). Además es necesario tener información epidemiológica regional del trematodo para precisar las épocas idóneas de tratamiento, mediante la aplicación de modelos geográficos en el control de la fasciolosis (Malone y Zukovski, 1992).

En los países con clima cálido es poca la información sobre control de *F. hepatica*, sin embargo Echevarría *et al.* (1992) señalan sus experiencias sobre control del trematodo en Brasil. Ibarra y Vera (1991) en ganado vacuno en Veracruz, México sobre el efecto extensión de fasciolicidas. Rangel (1995) señala información epidemiológica sobre fasciolosis en el estado de Tabasco, México, indicando que la transmisión ocurre todo el año, aunque varía de intensidad.

En el estado de Veracruz, la fasciolosis en ganado bovino tiene una alta prevalencia, uno de los primeros estudios en ganado sacrificado en el matadero del Puerto de Veracruz, Mazzotti *et al.* (1956), señalaron 19.8 % de hígados decomisados por *F. hepatica*, posteriormente en el mismo estado, en el municipio de Nautla, Álvarez (1978) por medio de exámenes coprológicos determinó en 500 cabezas de ganado bovino en diferentes ranchos el 53 % de prevalencia.

La técnica ELISA para el diagnóstico de la fasciolosis en ganado bovino ha sido señalada por varios autores (Boulard *et al.*, 1985; Santiago y Hillyer, 1988; Sinclair y Wassal, 1988; Ibarra, *et al.*, 1997; 1998), quienes indican alta sensibilidad, razón por la cual se empleó en el presente estudio.

La actividad de las enzimas gamma-glutamyl transpeptidasa (GGT) y aspartato amino transferasa (AST), que escapan de las células hepáticas dañadas se ha empleado para el diagnóstico de la fasciolosis, permitiendo interpretar el daño a través de los niveles séricos (Rowlands y Clampitt, 1979; Sykes *et al.*, 1980; Vensvoort y Over, 1982; Bulgin y Anderson, 1984; Faría *et al.*, 1996).

Considerando que para el adecuado control de la fasciolosis se requieren experiencias regionales, se diseñaron modelos de control quimioterapéutico para aplicarlos en la zona centro del Estado de Veracruz.

El objetivo fue determinar en tres modelos de control quimioterapéutico, a través de tratamientos fasciolicidas aplicados de manera estratégica o táctica en diferentes meses, para reducir al máximo la eliminación de huevos del trematodo, así como relacionar los niveles de anticuerpos anti- *F. hepatica*, los valores séricos de las enzimas GGT y AST con la cantidad de huevos en 5 gramos de heces (HP5G) para seleccionar el idóneo en la zona.

Material y Métodos

Se empleó un lote de ganado bovino del rancho las Gaviotas, localizado en el municipio de Nautla, estado de Veracruz, México. Dicho municipio se encuentra situado en la costa del Golfo de México Figura 1, tiene lluvia casi todo el año, con precipitación pluvial anual de 1,271 mm, el mes con mayor lluvia es septiembre (258 mm) y el menor febrero (52 mm), la temperatura media anual es de 23.8 ° C (García, 1988) Figura 2. El suelo del citado rancho tiene mal drenaje, la cubierta vegetal estaba compuesta de pasto Estrella de África (*Cynodon plectostachyus*) y gramas nativas (*Axonopus* spp, *Paspalum* spp). El mencionado rancho tenía una superficie de 115 hs dividido en tres potreros en donde pastaba el ganado sin un programa establecido.

El hato, compuesto de aproximadamente 300 vacunos, cruza de cebú (*Bos indicus*) con suizo pardo (*Bos taurus*), con antecedentes de fasciolosis, se examinaron coprologicamente 180 cabezas y se seleccionaron 69 vacas positivas a huevos del trematodo. Las mencionadas vacas con edades de 3 a 10 años, estaban sometidas a pastoreo extensivo, sin suplemento y ordeño con estabulación. Cada animal se identificó con un arete de plástico.

Se diseñaron 3 modelos de control quimioterapéutico contra *F. hepatica*, se tomó el cuenta la prevalencia del hato en el muestreo previo al inicio de la prueba (76.6

%) y la cantidad de huevos en 5 g de heces (HP5G), con rango de 2 a 82 y promedio por grupo de 13 a 14.8 de HP5G del parásito en enero, la distribución de la precipitación pluvial mensual durante el año (Figura 2) y los posibles meses de transmisión, el manejo zootécnico del ganado en pastoreo extensivo durante todo el año, con aguajes y zonas inundables con biotopos para el desarrollo de caracoles como posibles fuentes de infección, así como la eficacia del TBZ que actúa contra estadios inmaduros tempranos, tardíos y adultos del trematodo (Boray *et al.*, 1985). Cada modelo de tratamientos se aplicó a un grupo de 23 vacas cada uno. El modelo 1 (testigo) con tratamiento en enero (G1), tratamiento táctico porque todos los grupos eran positivos al parásito y tenían cargas promedio superiores a 10 HP5G, que indica impacto económico (Malone y Craig, 1990). El modelo 2 en enero, mayo y julio (G2), por considerar que hay baja reinfección durante el periodo de menor precipitación pluvial. El modelo 3 con tratamiento en enero, mayo, agosto y octubre (G3), por considerar alta reinfección entre agosto y octubre (Rangel, 1995), periodo de elevada precipitación pluvial. Dichos grupos se integraron de manera aleatoria, sin que tuvieran diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$). El G1 con tratamiento en enero fue considerado el testigo por ser la fecha en que el propietario trataba a sus animales, cuyos resultados representan la variable dependiente ya que se aplicó a todos los grupos. El efecto de los tratamientos de mayo, julio, agosto y octubre, representan las variables independientes. Aunque el propietario administraba albendazol se decidió aplicar el triclabendazol (TBZ) en todos los tratamientos para que las comparaciones de los otros meses de administración fueran válidas.

El fasciolicida empleado fue el triclabendazol (TBZ) ó 6 cloro-5(2,3-diclorofenoxi)-2 metiltio-bencimidazol,* aplicado por vía oral en dosis de 12 mg/kg, Según la literatura revisada este compuesto fue seleccionado entre varios fasciolicidas, por tener una alta eficacia contra estadios adultos e inmaduros del trematodo (Boray *et al.*, 1985).

Desde enero de 1996 se realizaron muestreos, aproximadamente cada 45 días y durante 13 meses, se recolectaron muestras de heces directamente del recto, de cada uno

* Fasinex, marca registrada por Novartis Salud Animal S.A.de C.V.

de los animales de los 3 grupos. Dichas muestras contenidas en bolsas de polietileno fueron transportadas al laboratorio en refrigeración a 4 ° C y mantenidas en él a dicha temperatura hasta su examen, que se realizaron entre 3 y 20 días después. Los muestreos se realizaron en enero de 1996 (M1), febrero (M2), marzo (M3), mayo (M4), junio (M5), agosto (M6), septiembre (M7), noviembre (M8), diciembre (M9) y enero de 1997 (M10).

De cada una de las muestras así obtenidas se procesaron 5 gramos de heces mediante la técnica de sedimentación de Benedek, modificada por Happich y Boray (1969) se realizó el recuento de HP5G de *F. hepatica* en todo el sedimento. Con los resultados de los exámenes coprológicos se calculó: 1/ Porcentaje de muestras positivas a huevos de *F. hepatica*; 2/ media de HP5G \pm error estándar (e.e.); 3/ Rango HP5G; 4/ Coeficiente de variación; 5/ Porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G de los diferentes muestreos vs el M1 (%RTvsM1); 6/ Porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G por pares vs el testigo (%RTvsT); 7/ Porcentaje de reducción de tasa global de HP5G del grupo vs el testigo (%RTGvsT), considerando porcentaje de muestras positivas por una parte y media de HP5G por otra, estos parámetros permiten saber cuál de los grupos tuvo el mejor comportamiento en la reducción de la eliminación de huevos durante el estudio. Los cálculos se hicieron empleando la fórmula señalada por Greenberg *et al.* (1998), como se señala en las páginas 43 y 44. Además del conjunto, considerando únicamente las muestras positivas se calcularon los parámetros 2, 3, 4 y 5.

Por otra parte, se evaluó la eficacia del TBZ en la reducción de eliminación de huevos de *F. hepatica*, únicamente en el muestreo siguiente a aquél en que se aplicó el tratamiento (febrero en el G1, febrero, junio y agosto en el G2, y febrero, junio, septiembre y noviembre en el G3, a través del efecto extensión (E.E.) y el efecto intensidad (E.I.) de acuerdo con Chroustova y Willomitzer (1974). Estos efectos fueron calculados aplicando la fórmula utilizada por Eckert *et al.* (1984); Ibarra y Vera (1991), como se indica en la página 44 de la tesis. Estos efectos de extensión e intensidad, expresados en porcentaje, miden la eficacia del fasciolicida en la reducción del número de muestras positivas y el número de HP5G eliminados respectivamente.

Para determinar las diferencias estadísticas, entre muestreos del mismo grupo, se empleó la prueba de Friedman. (Daniel, 1984), esta prueba también se utilizó para precisar la diferencia en la eficacia del TBZ en el efecto intensidad. Para determinar las diferencias entre los muestreos de los 3 grupos se empleó la prueba de Kruskall-Wallis (Daniel, 1984) y cuando la hubo se aplicó la prueba de Nemenyi (Zar, 1996) utilizada para la comparación múltiple de grupos. Para dichas pruebas se empleó el programa Statistical Analysis System (SAS) Ronald y Jeff (1991).

En las mismas fechas elegidas para la toma de muestras de heces, se extrajo también una muestra de sangre de la vena o arteria coccígea, mediante el equipo *vacutainer* de un subgrupo de 15 bovinos de cada uno de los 3 grupos. Seguidamente se separaron los sueros por centrifugación y se colocaron en viales de plástico y se refrigeraron a 4 ° C. Al día siguiente se congelaron a -20 ° C hasta su posterior procesado. Una parte de cada muestra de los sueros se utilizaron en el estudio inmunológico y la otra en las determinaciones enzimáticas.

La detección en el suero de anticuerpos anti- *F. hepatica*, se realizó mediante la lectura de densidades ópticas, utilizando la técnica ELISA indirecta, se empleó un antígeno de secreciones-excreciones de dicho parásito preparado como lo describe Boulard *et al.* (1985).

La concentración de antígeno empleado fue de 1.25 µg/ml. La dilución óptima del conjugado fue de 1:1600 en donde se observa duplicado el valor de densidades ópticas del positivo con respecto al negativo. La dilución empleada en los sueros fue de 1:100 y la determinación del tiempo de lectura fue de 10 minutos. El punto de corte fue considerado de positivo cuando el valor fue mayor a 0.50, (tres desviaciones estándar del promedio de negativos) y de menor a igual a 0.36, se le consideró negativo, manifestándose un rango de sospechosos a aquellos en que el valor de su densidad óptica fue de 0.37 a 0.49 de acuerdo con Montenegro (1997). La lectura se realizó en un lector ELISA*

Con los datos obtenidos de densidades ópticas de anticuerpos anti- *F. hepatica* en cada uno de los 10 muestreos de cada grupo, se calculó la media. Para conocer el coeficiente de correlación, entre la media de HP5G y los niveles de anticuerpos, se aplicó la prueba de Spearman (Daniel, 1984), utilizando el programa SAS (Ronald y Jeff (1991).

Los valores de las enzimas GGT y AST fueron determinados mediante el empleo de la prueba cinética de diagnóstico, con un espectrofotómetro** y con reactivos comerciales *** como lo indica Tietz (1982). Los valores de GGT en ganado bovino sano tienen un rango de 2 a 17 unidades internacionales por litro (U.I./L.) según Rowland y Clampitt (1979). La interpretación de los valores de AST obtenidos se hizo de acuerdo a Bulgin y Anderson (1984), quienes señalan como valores en ganado bovino sano de 78 a 132 U.I./L.

Para cada uno de los 3 grupos con los valores de GGT, AST y HP5G y durante los 10 muestreos se calculó: el porcentaje de muestras arriba de lo normal, la media y error estándar; se compararon por pares entre los diferentes muestreos de cada grupo mediante la prueba de Friedman (Daniel, 1984). Además se cotejaron los diferentes muestreos entre los grupos para determinar diferencias estadísticas mediante la prueba de Kruskal-Wallis (Daniel, 1984). También se determinó el coeficiente de correlación de rangos entre HP5G/GGT, así como HP5G/AST, y con GGT/AST, mediante la prueba de Spearman (Daniel, 1984), empleando el programa SAS, (Ronald y Jeff, 1991).

Resultados

El porcentaje de muestras positivas en enero, M1, fue de 100 %, posteriormente varió de 21.7 % en febrero, M2, a 100 % de septiembre, M7, a enero M10, no obstante la media de HP5G y el error estándar fue de 13.2 ± 3.1 en el primer muestreo, subsecuentemente fluctuó de 0.5 ± 0.2 en febrero, M2, a 21.1 ± 3.0 en diciembre, M9, con diferencia estadística entre los muestreos ($P \leq 0.05$). El rango fluctuó de 0 a 77, sin

* Multiskan plus Pversion 2.03 utilizando un filtro de 405 nanómetros.

** Ciba Corning, modelo Micro Chen 565

*** Ciba Corning

embargo el coeficiente de variación cambió de 69.5 en diciembre, M9, a 225.2 en febrero, M2, mientras el porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs M1 varió de 96.2 % en febrero M2 a -59.8 % en diciembre, M9, Cuadro 1. En el mismo Cuadro 1 se ven los valores en muestras únicamente positivas, la media al inicio fue de 13.3 ± 3.1 , posteriormente osciló de 2.6 ± 0.6 en febrero, M2, a 21.1 ± 3.0 en diciembre, M9; el rango fue de 1 a 77, mientras el coeficiente de variación osciló de 24.4 en marzo, M3, a 134.6 en mayo, M4, no obstante el porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs M1 fue de 80.3 % en febrero, M2, a -59.9 % en diciembre, M9.

En el G2 el porcentaje de muestras positivas osciló de 15.7 % en febrero, M2, a 100 % en enero, M1, diciembre M9, y enero, M10, la media de HP5G fue de 14 ± 3.6 en enero, M1, posteriormente cambió de 0.2 ± 0.1 en febrero, M2, a 17.5 ± 3.6 enero, M10, con diferencia estadística ($P \leq 0.05$). El rango cambió de 0 a 82, no obstante el coeficiente de variación osciló de 92.3 en enero, M10, a 336.2 en mayo, M4, mientras el porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs M1 cambió de 98.5 % en febrero, M2, a -25.0 % en enero, M10. Dicha cinética de eliminación de huevos, pero considerando únicamente los valores de muestras positivas fue, la media de 14.0 ± 3.6 en enero, M1, y subsecuentemente fluctuó de 1.3 ± 0.3 en febrero, M2, a 17.5 ± 3.6 en enero, M10. El rango fue de 1 a 82, mientras el coeficiente de variación osciló de 43.3 en febrero, M2, a 179.9 en mayo, M4. El porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs M1 fue de 90.5 % en febrero, M2, a -25.0 % en enero, M10 (Cuadro 2).

Respecto a la eliminación de HP5G de *F. hepatica* en el G3, el porcentaje de muestras positivas varió de 100 % en enero, M1, a 9.0 % en febrero, M2, mientras que la media y el error estándar al inicio fue de 14.8 ± 2.7 posteriormente fluctuó de 0.1 ± 0.0 en febrero, M2, a 12.8 ± 5.5 en septiembre. El rango fluctuó de 0 a 88, sin embargo, el coeficiente de variación cambió de 120 en enero, M10, a 342.8 en febrero, M2, mientras el porcentaje de reducción de tasa vs M1 osciló de 99.2 % en febrero, M2, a 13.5 % en septiembre, M7. La mencionada cinética de eliminación de HP5G pero considerando únicamente los valores del conjunto de muestras positivas indican que la

media y el error estándar fueron en enero, M1, de 14.8 ± 2.7 , posteriormente cambiaron de 1.5 ± 0.5 en febrero, M2, a 31.7 ± 15.1 en junio, M6,. El rango fue de 1 a 88, mientras el coeficiente de variación fluctuó de 0.0 en noviembre, M9, a 137.3 en mayo, M4. El porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs M1 fue en el primer muestreo de 0 %, luego varió de 98.4 % en junio, M2, a -257.5 % en marzo, M3 (Cuadro 3).

El porcentaje de reducción de tasa vs el testigo se nota en el Cuadro 4, el porcentaje de muestras positivas en el G2 osciló de 0 a 67.1 % y la media de HP5G de 7.9 a -1100 , mientras en el G3 el porcentaje de muestras positivas varió de 0 a 75.6 a -13 y la media de HP5G osciló de 99.9 a -1410 .

En cuanto a los niveles séricos de anticuerpos anti- *F. hepatica* la media de cada uno de los muestreos en los tres grupos fue positiva.

Según el coeficiente de correlación entre la media de HP5G y los niveles séricos de anticuerpos anti- *F. hepatica*. En el G1 dicho coeficiente fue positivo en 5 muestreos, con una variación de 0.03 en mayo, M4, a 0.87 en junio M5; asimismo en el G2, la mencionada correlación fue positiva en 5 y osciló de 0.06 en enero, M10, a 0.29 en mayo, M4, no obstante en el G3, dicho coeficiente fluctuó de 0.08 en junio M5 a 0.70 en septiembre, M7.

Los niveles séricos de GGT, el porcentaje de muestras con valores arriba de lo normal, el G1 varió de 60 % en mayo, M4, a 100 % en agosto, M6, sin embargo en el G2 dicho porcentaje fluctuó de 8.3 % en febrero, M2, a 66.6 % en mayo, M4, mientras en el G3 osciló de 18.1 % a en febrero, M2, a 81.8 % en diciembre, M9, y enero, M10. La media en el G1 fluctuó de 17.1 ± 2.0 en febrero, M2, a 50.0 ± 11.4 en junio, M5, sin embargo en el G2 dicha media cambió de 13.8 ± 0.9 en febrero, M2, a 25.4 ± 5.5 en mayo, M4, asimismo en el G3 la mencionada media varió de 15.4 ± 1.4 en febrero M2 a 24.0 ± 3.7 en mayo, M4.

Los valores medios en suero del AST correspondientes a los 3 grupos no rebasaron los niveles considerados normales en ninguno de los 10 muestreos.

El coeficiente de correlación entre HP5G y GGT en el G1 fue negativo en enero, M1, sin embargo el resto fue positivo y varió de 0.02 en febrero, M2, a 0.55 en mayo, M4, no obstante, en el G2 fue negativo en 6 muestreos, los demás fueron positivos y varió de 0.05 en enero M1 a 0.63 en agosto M6, asimismo en el G3 hubo 4 coeficientes negativos, el resto fueron positivos y varió de 0.52 a 0.72.

El efecto extensión en el G1 fue de 78.3 % en febrero, M2, sin embargo en el G2 fue de 25 % en febrero, M2, y de 0 % en junio, M5, y septiembre, M7, no obstante en el G3 fue de 90.3 % en febrero, M2, 54.4 % en junio, M5, 0 % en septiembre, M7, y 67.9 % en noviembre, M8.

El efecto intensidad en el G1 fue de 95.7 % en febrero, M2, sin embargo en el G2 fue de 98.5 % en febrero, M2, con diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$), y 0 % en junio, M5, y septiembre, M7, no obstante en el G3 dicho efecto de intensidad fue de 99.1 % en febrero M2, y 0 % en junio, M5 y septiembre, M7 y 97.8 % en noviembre, M8, con diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$).

El porcentaje de reducción de tasa global de muestras positivas de todos los muestreos de cada grupo contra el grupo testigo, el porcentaje de muestras positivas a huevos en el G1(testigo) fue considerado de 0 %, en el G2 fue de 18.5 % y en el G3 de 32.8 %. Por otra parte el porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G en el G1 (testigo) fue de 0 %, mientras en el G2 dicho porcentaje fue de 25.8; y en el G3 de 49.6 %.

Discusión

El porcentaje de muestras positivas y la media de HP5G son parámetros indirectos del grado de parasitación, al interpretar el efecto de la administración de 1, 3 y 4 tratamientos sobre la reducción de eliminación de huevos, sugiere que el efecto del

tratamiento de enero M1 tuvo una alta eficacia lo que concuerda con lo señalado por, Boray *et al.* (1985); Rapic *et al.* (1988); Ibarra y Vera (1991); sin embargo, el efecto de los tratamientos aplicados en mayo, M4, y en julio, la reducción de eliminación de huevos no fue la esperada, de acuerdo a lo notificado por Boray *et al.* (1985); Rapic *et al.* (1988), esta situación hace suponer que en esos meses la cantidad de estadios inmaduros de *F. hepatica* en migración, era elevado y el fasciolicida no los afectó en el 100 %, siendo los responsables al haber madurado de la mayor eliminación de huevos en el siguiente muestreo. Esta situación se interpreta de acuerdo con Rangel (1995) quien señala que hay transmisión del parásito todo el año, aunque varía de intensidad en la costa del Golfo de México, acontecimiento que puede suceder en la zona en estudio y que explicaría la diferencia de estadios inmaduros en migración y el efecto del fasciolicida. Sin embargo también cabe la posibilidad de estar frente a una población de parásitos con algún grado de resistencia como lo señalan algunos autores (Boray 1990; Overed y Bowen, 1995; Lammert *et al.*, 2000), no obstante, el tratamiento de octubre tuvo una mejor eficacia que los señalados anteriormente, situación que sugiere que la proporción de parásitos adultos era mayor y fueron eliminados en un porcentaje más elevado que las formas inmaduras de acuerdo con Boray *et al.* (1985), aunado a la experiencia de Rangel (1995), quien señala que la transmisión ocurre todo el año pero varía de intensidad, provocando en los meses, diferente carga parasitaria con distintas edades del trematodo, lo que sugiere que el efecto de los tratamientos varía cuando se aplican en diferentes meses.

El porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs el M1, en el G1 se obtuvieron valores negativos en 4 muestreos y en el G2 en 2 interpretándose que no hubo reducción en la eliminación de huevos, sino incremento en esos muestreos, esta situación sugiere que los animales estuvieron expuestos a reinfecciones, posiblemente debido a las condiciones de menor lluvia ese año y que el ganado tuvo que beber agua en las partes bajas del potrero posiblemente con mayor grado de contaminación de metacercarias. El efecto de los 4 tratamientos en el G3 hizo posible que todos los muestreos, las cuentas de HP5G siempre mostraran reducción en la eliminación.

Los niveles de anticuerpos anti- *F. hepatica* al inicio del experimento confirmaron la utilidad y ventaja como medio de diagnóstico (Boulard *et al*, 1985), sin embargo, cuando se interpretan los resultados a través del porcentaje de muestras positivas, se nota que solamente en 2 muestreos en los 3 grupos el 100 % fueron positivos, no obstante al interpretar a través de la media de los niveles de anticuerpos el 100 % fue positivo o sospechoso, sugiriendo que los niveles de anticuerpos no manifiestan el efecto de los tratamientos a corto plazo y se confunden con reinfecciones, que parece ocurrir todo el año con diferente grado de intensidad debido al manejo zootécnico. Al interpretar la prueba de correlación entre la cantidad de huevos y los niveles de anticuerpos anti- *F. hepatica* se nota que la mayoría son bajos excepto en el G1 en junio y octubre en el G3, se interpreta que mientras los niveles de anticuerpos se mantuvieron positivos a lo largo del estudio, el efecto de los tratamientos fasciolicidas hacía variar considerablemente la eliminación de huevos.

Los niveles séricos de GGT interpretados a través del porcentaje de muestras con niveles arriba de lo normal y de la media, sugieren que hubo alteración de la función hepática de acuerdo con Rowland y Clampitt (1979) y Bulgin y Anderson (1984) aunque con menor intensidad en los G2 y G3 que recibieron mayor número de tratamientos.

El tratamiento de enero, M1, se consideró táctico al inicio ya que el 100 % de los animales estaban parásitados y con elevadas cantidades de HP5G, dado el clima de la zona, los pastos estaban en malas condiciones y los animales también, razones más que suficientes para aplicar el tratamiento, sin embargo, al comparar el efecto en la reducción fecal de huevos en los siguientes meses, también se le puede considerar estratégico. Los meses de tratamientos en los otros modelos se consideraron estratégicos, con la información generada se tiene una interpretación cuantitativa de cada uno de ellos que permite seleccionar el que tuvo el mejor comportamiento, sin embargo, se considera necesario hacer repeticiones para comparar el comportamiento en diferentes años, con cambios climáticos, que permitan hacer interpretaciones más cercanas a la verdad epidemiológica para el control .

El rango medio y máximo de HP5G en las muestras de los 3 grupos al inicio del experimento fue alto y sugiere de acuerdo con Malone y Craig (1990) que tiene un impacto económico medio y alto.

Bajo las condiciones en que se realizó el presente estudio, los 3 modelos de control quimioterapéutico aplicados a ganado bovino, tuvieron un efecto sobre la reducción de eliminación de huevos de *F. hepatica*, en el G1 en 5 muestreos la media de HP5G fue menor a la inicial, en el G2 en 6 y en el G3 en los 10, lo que concuerda con los niveles de GGT, mientras los valores de anticuerpos no mostraron relación con los acontecimientos quimioterapéuticos, además los niveles medios de AST no rebasaron los niveles normales. El modelo 3 con tratamiento en enero mayo agosto y octubre (G3) fue el que tuvo el mejor comportamiento, le siguió el modelo 2 con tratamiento fasciolicida en enero, mayo y julio (G2), y finalmente el modelo 1 con tratamiento en enero (G1).

Agradecimientos

Proyecto financiado parcialmente por la DGAPA., Universidad Nacional Autónoma de México, PAPIIT IN 218996.

A Novartis Salud Animal S.A. de C.V., por la donación del fasinex.

Al Sr. Orlando Irizón Capitaine propietario del rancho las Gaviotas.

Referencias

- Álvarez, L.F. Prevalencia de fasciolosis en el municipio de Nautla, Veracruz. (tesis licenciatura) Fac. Med. Vet. y Zoot. Univ. Veracruzana, 1978.
- Boray, J.C., Jackson, R. and Strong, M.B., 1985. Chemoprophylaxis of fascioliasis with triclabendazole. *N.Z. vet. J.*, 33: 182-185.
- Boray, J.C., 1990. Drug resistance in *Fasciola hepatica*. Resistance of parasites to antiparasitic drugs. Round Table Conference, VII International Congress of Parasitology, Paris, 1990, pp. 51-60.

- Boulard, C., Boury, M. et Argente, G., 1985. Comparaison de la detection de foyers de fasciolose par test ELISA sur lactosérum et par coproscopie. *Ann. Rech. Vét.*, 16: 363-368.
- Bulgin, B.C. and Anderson, P.H., 1984. Serum gamma-glutamyl transpeptidase activity in cattle with induced fascioliasis. *Res. Vet. Sci.*, 37: 166-169.
- Castellanos, H.A.A., Escutia, S.I. y Quiroz R.H., 1992. Frecuencia de fasciolosis hepática en bovinos sacrificados en las plantas tipo inspección federal en México de los años 1979-1989. *Vet. Méx.*, 23: 339-342
- Chroustova, E. and Willomitzer, J., 1974. Control of *Fasciola hepatica* in cattle by means of complex methods involving molluscicide treatment of *Lymnaea truncatula* biotopes. *Acta Vet. Brno*, 43: 397-410.
- Daniel, W.W., 1984. Bioestadística, base para el análisis de las ciencias de la salud, 1ª ed. *Limusa*, México, D.F., pp. 383-387.
- Echevarría, F.A.M., Correa, R.D., Wehrle, D.R. and Correa, I.F., 1992. Experiments on anthelmintic control of *Fasciola hepatica* in Brazil. *Vet. Parasitol.*, 43: 211-222.
- Eckert, J., Schneider, G. und Wolff, K., 1984. Fasinex (Triclabendazol) ein neues Faszioizid. *Berl. Tierärztl. Wschr.*, 97: 349-356.
- Encinas, G.R., Quiroz, R.H., Guerrero, M. C. y Ochoa, G.P., 1989. Frecuencia de fasciolosis hepática e impacto económico en bovinos sacrificados en Ferrería, México, D.F. *Vet. Méx.*, 20: 423-426.
- Faría, S.L.S., Quiroz, R.H., Ibarra, V.F y Salcedo, E.R., 1996. Tiempo de normalización de los niveles de gamma-glutamyl transpeptidasa en ovinos con fasciolosis experimental tratados con triclabendazol. *Vet. Méx.*, 27: 235-239.
- García, E., 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köeppen para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., pp.192.
- Greenberg, R., Daniels, S.R., Flanders, D.W., Elay, W. J. y Boring, R.J., 1998. Epidemiología Médica. Manual Moderno, 2a edición, México, D.F., pp.122-123.
- Happich, F.A. and Boray, J.C., 1969. Quantitative diagnosis of chronic fascioliasis. 2 Comparative studies on quantitative faecal examination for chronic *Fasciola hepatica* infection in sheep. *Aust. Vet. J.*, 45: 326-328.

- Ibarra, V.F. y Vera, M.Y., 1991. Comparación del efecto extensivo de cinco fasciolicidas en bovinos en clima cálido. *Vet. Méx.*, 22: 159-163.
- Ibarra, V.F., Montenegro, C.N., Vera, M.Y., Boulard, C., Quiroz, R.H., Bautista, G.C.R. y Vázquez, P.C., 1997. DIG- ELISA: Estandarización y evaluación serodiagnóstica en fasciolosis bovina experimental y natural. *Vet. Méx.*, 28: 8-11.
- Ibarra, V.F., Montenegro, C.N., Vera, Y., Boulard, C., Quiroz, H., Flores, J., Ochoa, P., 1998. Comparison of three ELISA test for seroepidemiology of bovine fascioliasis, *Vet. Parasitol.*, 77: 229-236.
- Lammert, M., Gaasenbeek, C.P.H., Vellena, P. and Borgsteede, F.H.M., 2000. Resistance of *Fasciola hepatica* against triclabendazole in cattle and sheep in The Netherlands. *Vet. Parasitol.*, 91: 153-158.
- Malone, B.J. and Craig, M.T., 1990. Cattle liver flukes: Risk assessment and control. *Beff production management*, 12 :747-754.
- Malone, B.J. and Zukowski, S.H., 1992. Geographic models and control of cattle liver flukes in the southern USA. *Parasitol. Today*, 8: 266-270.
- Mazzotti, L., Ruiz, S.R, y Ramírez, J., 1956. Estudios sobre *Fasciola hepatica* e incidencia de animales sacrificados en varias regiones. *Rev. Inst. Salub. Enf. Trop.*, 16: 27-29.
- Montenegro, C.N. ELISA indirecta: Estandarización como prueba diagnóstica de *Fasciola hepatica* en bovinos. (tesis de licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de Morelos, 1997.
- Overed, D.L. and Bowen, F.L., 1995. Resistance of *Fasciola hepatica* to triclabendazole. *Aust. Vet. J.*, 72: 275-276.
- Rangel, R.J.L. Estudio poblacional de la fasciolosis en el Estado de Tabasco. (tesis Doctor en Ciencias).Facultad de Ciencias, UNAM. 1995.
- Rapic, D., Dzakula, N., Sadar, D. and Richard, R.J., 1988. Comparative efficacy of triclabendazole, nitroxinil and radoxanide against immature *Fasciola hepatica* in naturally infected cattle. *Vet. Parasitol.*, 22: 59-62.
- Roberts, A.J. and Suhardono, H., 1996. Approaches to the control of fasciolosis in ruminants. *Inter. J. Parasitol.*, 26: 971-981.
- Ronald, P.C. and Jeff, S.K., 1991. Applied Statistic and Programing Leguage 3th edition, Elsevier Sciences Publishing, New York, USA.

- Rowlands, D.T. and Clampitt, R.B., 1979. Plasma enzyme levels in ruminants infected with *Fasciola hepatica*. *Vet. Parasitol.*, 5: 155-157.
- Santiago, N. and Hillyer, G., 1988. Antibody profil by EITB and ELISA of cattle and sheep infected with *Fasciola hepatica*. *J. Parasitol.*, 74: 810-818.
- Sinclair, I.J. and Wassal, D.A., 1988. Sero-diagnosis of *Fasciola hepatica* infection in cattle. *Vet. Parasitol.*, 27: 283-290.
- Sykes, A.R., Coop, R.L. and Robinson, M.G., 1980. Chronic subclinical ovine fascioliasis: plasma glutamate deshidrogenase, gamma-glutamyl transpeptidase and aspartate amino transferase and their significance aid. *Res. Vet. Sci.*, 28: 71-75.
- Tietz, N.W., 1982. Fundamental of clinical chemistry. 2nd. Edition. Toronto, Ca. W. Sanders Co.
- Vensvoort, P. and Over, H. J., 1982. Cellular proliferation on the bile ductules and gamma-glutamyl transpeptidase in liver and sera of young cattle following a single infection with *Fasciola hepatica*. *Vet. Quaterly*, 4: 161-172.
- Zar, H.J., 1996. Biostatistical Analysis 3th. Edition. Prentice Hall New Jersey, USA., pp. 226, 271.

Cuadro 1

PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HP5G DE *F. hepatica* EN GANADO BOVINO
TRATADO CON TRICLABENDAZOL EN ENERO (GRUPO 1)

M	Valores en muestras positivas y negativas					Valores en muestras positivas			
	% de muestras positivas	Media de HP5G \pm e.e	Rango	C.V	% RT vs M1	Media de HP5G \pm e.e	Rango	C.V.	% RT vs M1
M1 ene.	100.0	13.2 \pm 3.1 c *	2-72	113.9	0.0	13.2 \pm 3.1	2-72	113.9	00.0
M2 feb.	21.7	0.5 \pm 0.2 a	0-5	225.2	96.2	2.6 \pm 0.6	1-5	58.3	80.3
M3 mar.	26.0	0.8 \pm 0.3 a	0-4	117.8	93.1	3.3 \pm 0.3	2-4	24.4	74.8
M4 may	47.8	0.4 \pm 1.8 ab	0-39	217.8	96.9	8.5 \pm 3.4	1-39	134.6	35.3
M5 jun.	91.3	14.6 \pm 3.8 cd	0-75	126.6	10.6	16.0 \pm 4.1	2-75	117.5	-21.4
M6 ago.	78.2	8.1 \pm 1.8 bc	0-36	111.0	38.6	10.4 \pm 2.1	1-36	86.4	20.9
M7 sep.	100	12.1 \pm 2.0 c	2-40	79.8	8.3	12.1 \pm 2.0	2-40	79.8	8.1
M8 nov.	100	16.0 \pm 2.6 de	6-58	79.1	-21.2	16.0 \pm 2.6	6-58	79.1	-21.7
M9 dic.	100	21.1 \pm 3.0 e	8-77	69.5	-59.8	21.1 \pm 3.0	8-77	69.5	-59.9
M10 ene	100	19.0 \pm 2.9 e	7-68	69.9	-43.2	19.0 \pm 2.9	7-68	69.9	-44.2

M= muestreos

*Letras distintas denotan diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$).

C.V. = Coeficiente de variación.

%RT vs T = Porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs testigo.

Cuadro 2

PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HP5G DE *F. hepatica* EN GANADO BOVINO
 TRATADO CON TRICLABENDAZOL EN ENERO, MAYO Y JULIO
 (GRUPO 2)

M	Valores en muestras positivas y negativas					Valores en muestras positivas			
	% de muestras positivas	Media de HP5G ± e.e	Rango	C.V.	% RT vs M1	Media de HP5G ± e.e	Rango	C.V.	% RT vs M1
M1 ene.	100	14.0±3.6 b *	1-82	120.8	0.0	14.0 ± 3.6	1-82	120.8	00.0
M2 feb.	15.7	0.2±0.1 a	0-02	254.2	98.5	1.3 ± 0.3	1-2	43.3	90.5
M3 mar.	27.7	1.6±0.9 a	0-15	237.2	88.5	5.8 ± 2.5	1-5	97.0	58.5
M4 may	31.5	4.8±3.7 a	0-72	336.2	65.0	15.5 ± 11.3	1-72	179.9	-10.7
M5 jun.	30.0	2.2±1.1 a	0-21	223.7	83.9	7.5 ± 2.8	1-21	93.4	46.4
M6 ago.	63.1	4.2±0.9 a	0-12	101.2	69.5	6.7 ± 1.0	2-12	51.7	51.7
M7 sep.	65.0	8.9±3.5 a	0-72	180.5	36.4	13.6 ± 5.0	2-72	134.1	2.2
M8 nov.	81.8	11.7±3.0 ab	0-68	11.7	15.9	14.3 ± 3.3	4-68	99.8	-2.7
M9 dic.	100.0	16.8±3.3 b	0-81	92.7	-20.4	16.8 ± 3.3	2-81	92.7	-20.4
M10 ene	100.0	17.5±3.6 b	0-77	92.3	-25.0	17.5 ± 3.6	1-77	92.3	-25.0

M= muestreos

*Letras distintas denotan diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$).

C.V. = Coeficiente de variación.

%RT vs T = Porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs testigo.

Cuadro 3

PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HP5G DE *F. hepatica* EN GANADO BOVINO
 TRATADO CON TRICLABENDAZOL EN ENERO, MAYO, AGOSTO Y
 OCTUBRE (GRUPO 3)

M	Valores con muestras positivas y negativas					Valores con muestras positivas			
	% de muestras positivas	Media de HPG ± e.e	Rango	C.V	% RT vs M1	Media de HPG ± e.e	Rango	C.V.	% RT vs M1
M1 ene.	100.0	14.8±2.7 b	2-53	88.4	0.0	14.8±2.7	2-53	88.4	00.0
M2 feb.	9.0	0.1±0.0 a	0-2	342.8	99.2	1.5 ±0.5	1-2	47.1	89.1
M3 mar.	29.4	3.4±1.5 a	0-22	180.5	77.0	11.8± 2.6	7-22	49.5	20.6
M4 may	52.1	6.0±2.6 a	0-56	210.3	59.4	11.5 ± 4.5	1-56	137.3	22.0
M5 jun.	22.2	7.0±4.3 ab	0 67	263.8	52.7	31.7±15.1	5-67	95.4	31.7
M6 ago.	84.2	9.2±2.5 b	0-45	121.5	37.8	11.0 ±2.8	2-45	104.3	32.7
M7 sep.	86.6	12.8±5.5 b	0-88	167.5	13.5	14.7± 6.2	2-88	152.1	00.6
M8 nov.	27.7	0.2±0.1 a	0-1	165.9	98.6	1.0± 0.0	1-1	0.0	93.2
M9 dic.	36.8	0.5±0.2 a	0-3	155.7	96.6	1.5± 0.2	1-3	50.0	89.4
M10 ene	59.0	0.8±0.2 a	0-4	120.0	94.5	1.4± 0.2	1-4	66.1	90.1

M = muestreos.

* Letras distintas denotan diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$).

C.V. = Coeficiente de variación.

%RTvs T = Porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs testigo.

Cuadro 4

PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DE TASA DE LA MEDIA DE HP5G DE *F. hepatica* VS GRUPO TESTIGO EN GANADO BOVINO TRATADO CON TRICLABENDAZOL EN DIFERENTES MESES

Muestreo	G1, testigo tratado con TBZ en enero.		G2, tratado con TBZ en enero, mayo y julio.		G3, tratado con TBZ en enero, mayo, agosto y octubre.	
	% de muestras positivas a HP5G	Media de HP5G	% de muestras positivas a HP5G	Media de HP5G	% de muestras positivas a HP5G	Media de HP5G
M1 ene.	0 *	0.0 *	0.0	-6.0 **	0.0	-12.5
M2 feb.	0	0.0	24.4	60.0	58.5	74.0
M3 mar.	0	0.0	6.5	-100	-13.0	-335
M4 may.	0	0.0	34.1	-1100	-8.9	-1410
M5 jun.	0	0.0	67.1	84.4	75.6	52.0
M6 ago.	0	0.0	19.3	48.1	-7.6	98.8
M7 sep.	0	0.0	35.0	26.4	13.4	98.9
M8 nov.	0	0.0	18.2	26.8	72.3	99.9
M9 dic.	0	0.0	0.0	20.3	63.2	99.9
M10 ene.	0	0.0	0.0	7.9	41.0	99.9

* El cero en el G1 (testigo), se asignó para obtener el porcentaje de reducción de tasa vs el G2 y el G3.

** Los valores negativos indican que no hubo reducción sino incremento en la eliminación de huevos.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

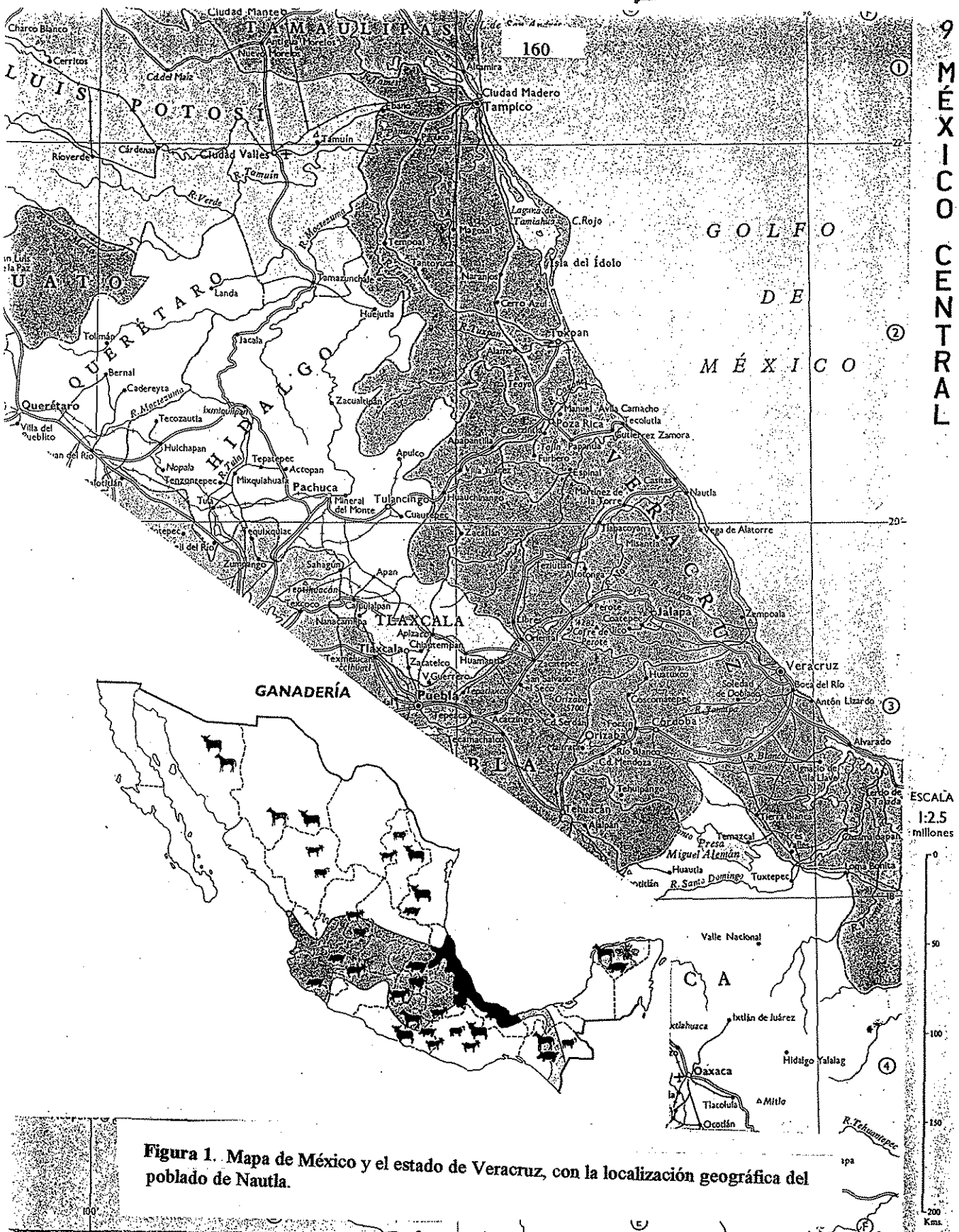
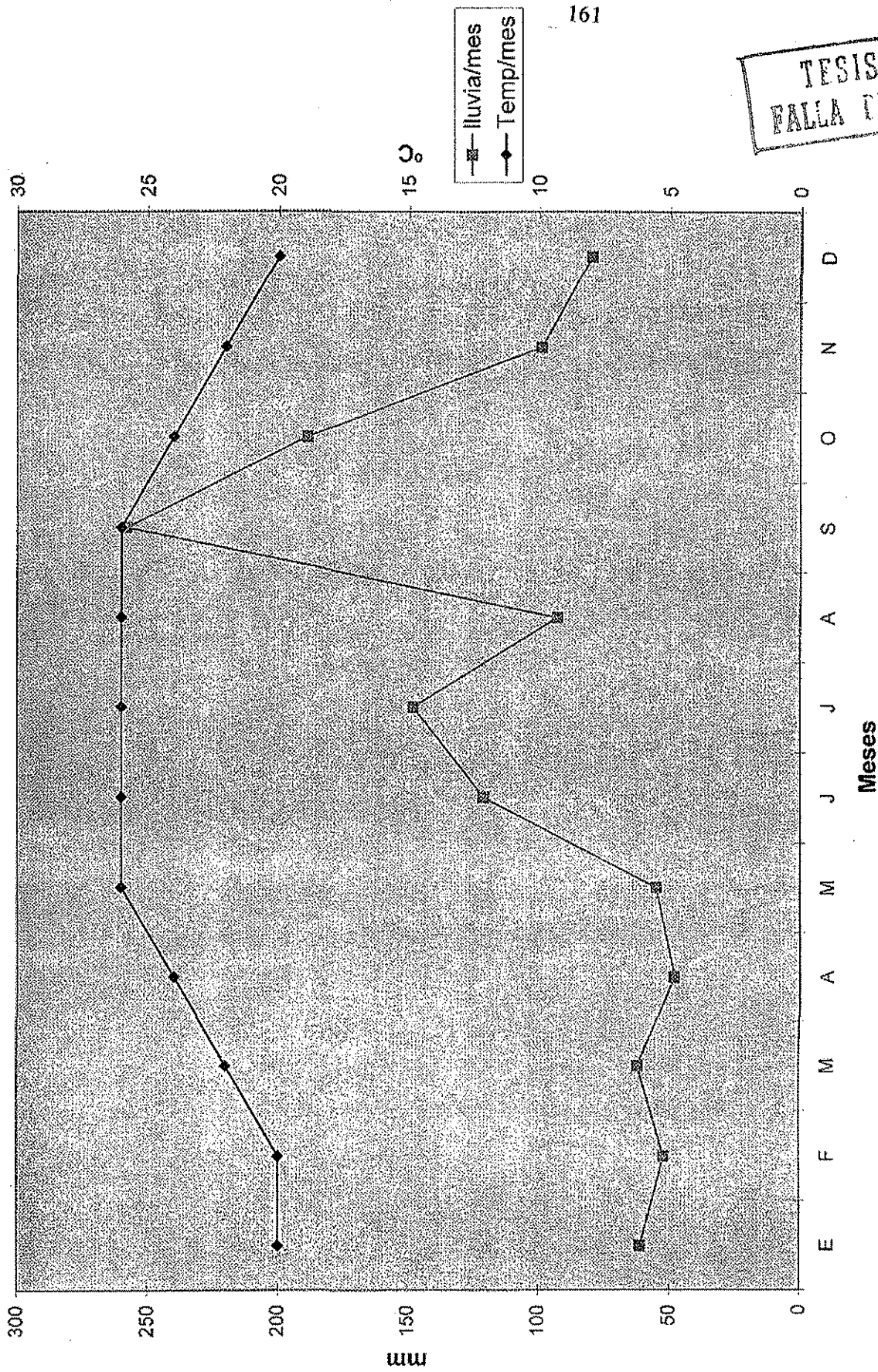


Figura 1. Mapa de México y el estado de Veracruz, con la localización geográfica del poblado de Nautla.



TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Figura 2. Precipitación pluvial y temperatura media mensuales en Nautla, Veracruz, México.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

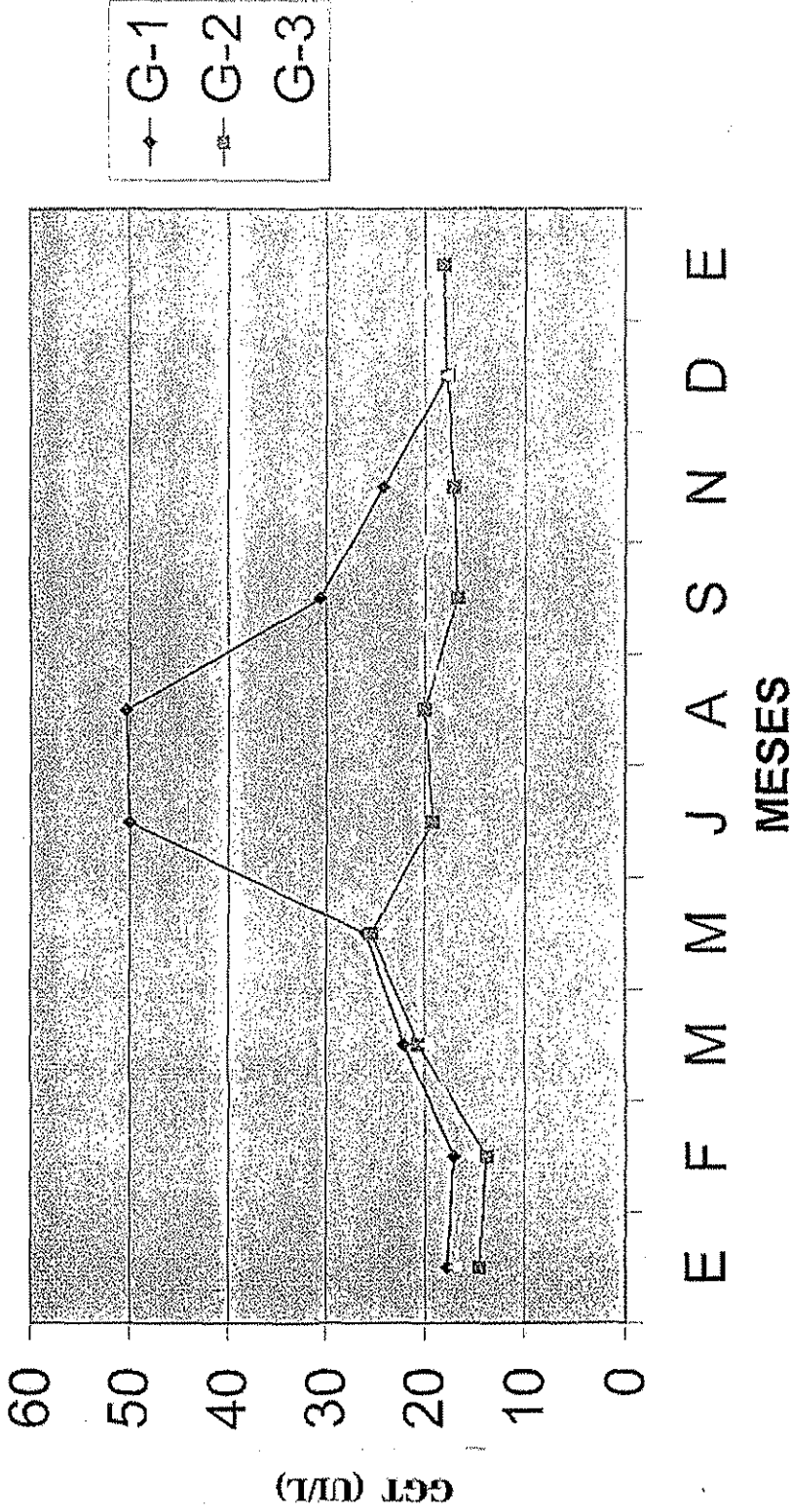


Figura 3. Valores de GGT en bovinos tratados con triclabendazol en enero (G1), enero, mayo y julio (G2), enero, mayo, agosto y octubre (G3).

3.2.3. Comparación de tres modelos quimioterapéuticos contra *Fasciola hepatica* en ganado bovino en clima cálido-húmedo en México

Quiroz, R.H.,* Ibarra, V.F.,* Manga-González, M.Y.,** Montenegro, C.N.,* Ochoa, G.P.,* Salcedo, E.R.*

* Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, cp 04510, México, D.F., México.

** Estación Agrícola Experimental, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) Apdo. 788, 24080-León, España.

Abstract

In order to evaluate 3 models of chemotherapy against *Fasciola hepatica* in naturally infected cattle located in a farm in the municipality of Nautla in the State of Veracruz, Mexico, triclabendazole (TBZ) was administered once, twice and three times in different months to reduce faecal egg to maximum extent. Furthermore anti- *F. hepatica* antibody values as well as seric levels of gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) and aspartate amino transferase (AST) were also determined. Three groups (G) of 23 cows each received 12 mg/kg of TBZ. G1, the control group, was treated in January (model 1), G2 in January and June (model 2), and G3 in January, June and October (model 3). Samples collected ten times from all animals approximately every 45 days in order to performe the faecal egg count on 5 gram of faeces (EP5G). At the same time, blood samples were collected from 15 cows in each group to detect anti-*F. hepatica* antibodies in the serum by the ELISA test, and to determine the GGT and AST enzymes by spectrophotometry. The improvement percentage for mean EP5G was 7.7 % higher in G2 and the 59.2 % higher in G3 than in G1; this EP5G agrees with the lower values of GGT determined in G2 and G3 activity; AST activity did not exceeded the normal limit. Antibody levels were positive and were not affected by the TBZ treatment in any of the groups. The best result was for the model 3 treated in January, June and October (G3) and the worst for that treated in January model 1 (G1, control).

Key words: *Fasciola hepatica*, TRICLABENDAZOLE, ELISA, GAMMA-GLUTAMYL TRANSPEPTIDASE, ASPARTATE AMINOTRANFERASE, CATTLE.

Resumen

Con el objetivo de evaluar tres modelos de control quimioterapéutico contra *F. hepatica* en ganado bovino infectado de manera natural y localizado en un rancho en el municipio de Nautla estado de Veracruz, México, se aplicó el triclabendazol (TBZ) en una dos y tres ocasiones, en diferentes meses, para reducir al máximo la eliminación de huevos. Además se determinaron los valores de anticuerpos anti-*F. hepatica* y los niveles séricos de gamma-glutamyl transpeptidasa (GGT) y aspartato amino transferasa (AST). Los modelos se aplicaron a tres grupos (G) de 23 vacas cada uno, con una dosis de 12 mg/kg de TBZ, el G1 en enero (modelo 1), el G2 en enero y junio (modelo 2) y el G3 en enero junio y octubre (modelo 3). Cada 45 días aproximadamente, durante 10 ocasiones, se recolectaron muestras de heces de todos los animales para realizar el recuento de huevos en 5 gramos de heces (HP5G). Al mismo tiempo, se tomaron muestras de sangre de 15 vacas de cada grupo, con el fin de detectar en el suero, mediante ELISA, los anticuerpos anti-*F. hepatica*, así como valorar los niveles de GGT y AST por espectrofotometría. El porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs el grupo testigo (G1) fue 7.7 % en el G2 y 59.2 % en el G3, lo que concuerda con los niveles más bajos de GGT detectados en el G2 y en el G3. Los valores medios de AST no rebasaron el límite normal. Los niveles de anticuerpos fueron positivos y no parecen verse afectados por el tratamiento con TBZ en ninguno de los grupos. El modelo 3 que recibió tratamientos en enero, junio y octubre (G3) fue el mejor, y el último el tratado en enero (G3 testigo).

Palabras clave: *Fasciola hepatica*, TRICLABENDAZOL, ELISA, GAMMA-GLUTAMYL TRANSPEPTIDASA, ASPARTATO AMINOTRANFERASA, BOVINOS.



Introducción

La fasciolosis causada por *Fasciola hepatica* es la más importante infección hepática en ganado vacuno en el mundo (Boray, 1985). En México, la frecuencia de decomisos de hígados de bovino entre 1979-87 fue de 7.3 % (Castellanos *et al.*, 1992). En Nautla, zona centro del estado de Veracruz, en donde se realizó el presente estudio, la prevalencia, registrada por Álvarez (1978), mediante coprología fue de 53 % en 500 vacunos.

El control de *F. hepatica* mediante la administración de triclabendazol (TBZ), en ganado bovino ha sido señalado por Echevarría *et al.* (1992) en Brasil, quienes lograron reducir el decomiso de hígados de manera significativa. En México, Nuñez y Quiroz (1994) en un estudio realizado en ganado vacuno mediante tratamientos con nitroxinil cada 75 días durante 6 meses, señalan que la prevalencia se redujo de 68 % a 5 %. Por otra parte, Ballesteros *et al.* (1995) notifican que mediante tratamientos sistemáticos con TBZ cada 85 días durante 14 meses en ganado bovino, se disminuyó el porcentaje de muestras de heces positivas de 100 % a 3.5 %.

El triclabendazol (TBZ) es uno de los mejores fasciolicidas disponibles (Boray *et al.*, 1985), dicho compuesto fue seleccionado entre varios por tener un mayor efecto contra estadios adultos e inmaduros (Boray *et al.*, 1983) comparado con otros fasciolicidas y una alta eficacia en ganado vacuno (Craig y Huey, 1984).

El diagnóstico de la fasciolosis mediante exámenes coprológicos tiene sus limitaciones debido a la variabilidad de eliminación de huevos (Herrera y Quiroz, 1971); sin embargo, es muy específica (Boulard *et al.*, 1985). El diagnóstico inmunológico mediante la técnica de inmunoensayo enzimático (ELISA) tiene ventajas, como lo señalan Boulard *et al.* (1985) al comparar las técnicas ELISA, la coprológica y el examen posmortem en el matadero, señalando las ventajas de cada una de ellas. En nuestro país, al comparar tres pruebas inmunológicas: DOT-ELISA, DIG-ELISA y *Fasinex, marca registrada por Novartis S. A. de C.V., México.

ELISA indirecta Ibarra *et al.* (1998), indican que todas fueron altamente sensibles y específicas en bovinos con fasciolosis.

Por otra parte, los niveles de enzimas específicas que escapan de las células hepáticas dañadas como la gamma-glutamil transpeptidasa (GGT) y aspartato amino transferasa (AST) han sido señaladas como indicadores de alteración de la función hepática y permiten inferir el daño causado por *F. hepatica* (Rowlands y Clampitt, 1979; Sykes *et al.*, 1980; Bulgin y Anderson, 1984).

Por el momento, no se dispone de información sobre modelos de control quimioterapéutico de la fasciolosis en ganado bovino en la región donde se realizó el estudio; además, debido a la alta prevalencia de *F. hepatica* en la zona de Nautla, centro del estado de Veracruz (Álvarez, 1978), se consideró conveniente generar información sobre modelos de control quimioterapéutico de la fasciolosis en ganado bovino, que se puedan aplicar en la zona en estudio y otras similares.

El objetivo fue evaluar tres modelos de control con tratamientos con TBZ, aplicado en diferentes meses, la evaluación se realizó a través del proceso de eliminación de huevos de *F. hepatica*, los títulos de anticuerpos y niveles séricos de GGT y AST en ganado bovino, para seleccionar el idóneo.

Material y métodos

El trabajo de campo se realizó en un rancho ganadero en el municipio de Nautla, estado de Veracruz, México, desde enero de 1996 a enero de 1997. Dicho rancho está situado en la costa del Golfo de México, a 2 km al oeste del poblado de Nautla (Figura 1), en terrenos con drenaje deficiente. El clima es cálido húmedo, con lluvias casi todo el año, con precipitación pluvial anual de 1271 mm, el mes con mayor precipitación es septiembre (258 mm), y el menor, febrero (52 mm). La temperatura media anual es de 23.8 °C (Figura 2) (García, 1988).

De un hato de aproximadamente 300 cabezas de ganado vacuno, cruce de Cebú X Suizo pardo (*Bos indicus X Bos taurus*), se emplearon 69 vacas (de 3 a 9 años de edad aproximadamente) infectadas de manera natural con *F. hepatica*, sometidas a estabulación para el ordeño y pastoreo extensivo durante todo el año, en aproximadamente 150 ha. Cada animal fue identificado con un arete de plástico en la oreja.

Diseño experimental. Se esbozaron tres modelos de control quimioterapéutico contra *F. hepatica* con tratamientos fasciolicidas con TBZ, aplicados a tres grupos, se consideró la prevalencia en enero del hato (74 %), la precipitación pluvial mensual (Figura 2), las condiciones ecológicas favorables para la transmisión todo el año y los antecedentes de la enfermedad en el rancho, quedando de la siguiente manera. El modelo 1 con tratamiento en enero (G1 testigo), el modelo 2 con tratamiento en enero y junio (G2) y el modelo 3 con tratamiento en enero, junio y octubre (G3). Cada esquema se aplicó a un grupo (G) de 23 cabezas de ganado bovino. El día -20 (enero de 1996) se realizó el primer muestreo (M1) de heces, con los resultados de los exámenes coprológicos positivos se conformaron de manera aleatoria 3 grupos, sin que hubiera diferencia estadística.

El TBZ fue administrado por vía oral a dosis de 12 mg/kg en pie (Boray *et al.*, 1985).

Se aplicó la técnica coprológica de sedimentación de Benedek, modificada por Happich y Boray (1969), para cuantificar la cantidad de huevos en el sedimento de 5 gramos de heces (HP5G). Cada 45 días se recolectaron muestras de heces directamente del recto de cada uno de los animales de los 3 grupos entre las 10 y las 15 h. Los muestreos (M) de heces se realizaron durante 13 meses a partir de enero de 1996 (M1), febrero (M2), marzo (M3), mayo (M4), junio (M5), agosto (M6), septiembre (M7), noviembre (M8), diciembre (M9) y enero de 1997 (M10). Las muestras de heces, contenidas en bolsas de polietileno se transportaron al laboratorio en hieleras, luego se conservaron en refrigeración a 4 ° C hasta su examen entre 3 y 20 días después.

Con los datos obtenidos de los exámenes coprológicos y considerando muestras positivas y negativas se calculó: 1/ Porcentaje de muestras positivas, 2/ Media de HP5G \pm error estándar (e.e), 3/ Rango de HP5G, 4/ Coeficiente de variación de la media de HP5G, 5/ Porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs muestreo 1 (%RTvsM1), 6/ Porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs el testigo (%RTvsT), 7/ Porcentaje de reducción de tasa global de grupo vs testigo (%RTGvsT), considerando porcentaje de muestras positivas por una parte y media de HP5G por otra, estos parámetros permiten saber cuál de los grupos tuvo el mejor comportamiento en la reducción de eliminación de huevos durante todo el estudio. Además del conjunto, considerando únicamente las muestras positivas se calcularon los parámetros 2, 3, 4 y 5. Los porcentajes de reducción de tasa se calcularon de acuerdo a la fórmula señalada por Greensberg *et al.* (1998), dichas fórmulas se describen en las páginas 43 y 44.

Por otra parte, en el muestreo siguiente a aquél en que se aplicó el tratamiento, se evaluó la eficacia del TBZ contra *F. hepatica*, a través de: 1/ Efecto extensión de la eficacia del triclabendazol (E.E.) y 2/ Efecto intensidad de la eficacia del triclabendazol (E.I.), calculados según la fórmula señalada por Eckert *et al.* (1984), pero considerando como testigo los valores del propio grupo el día en que se aplicó el tratamiento. Las fórmulas desglosadas se describen en la página 44. El efecto extensión y el efecto intensidad, expresados en porcentaje, miden la eficacia del fasciolicida en la reducción del número de muestras positivas y la cantidad de huevos (HP5G) eliminados, respectivamente (Ibarra y Vera, 1991).

En las mismas fechas elegidas para la toma de muestras fecales, se extrajo también una muestra de sangre de la vena o arteria occígea, con equipo *vacutainer*, de un subgrupo de aproximadamente 15 animales tomado de cada uno de los 3 grupos. Seguidamente, se separaron los sueros por centrifugación a 3000 gravedades y se colocaron en viales de plástico en refrigeración a 4 ° C; al día siguiente se congelaron a -20 ° C hasta antes de ser procesados. Una parte de cada muestra de suero se utilizó en el estudio inmunológico y la otra en las determinaciones enzimáticas.

Mediante la técnica ELISA indirecta se determinaron los niveles de anticuerpos anti- *F. hepatica* expresados en densidades ópticas, calculando la media y el error estándar. Se empleó un antígeno de secreciones excreciones de dicho parásito (Boulard *et al.*, 1985). La estandarización de la prueba indirecta ELISA empleada para el diagnóstico se hizo como la describe Montenegro (1997).

Los valores de GGT y AST fueron determinados mediante el empleo de la prueba cinética de diagnóstico según Tietz (1982), con un espectrofotómetro* y con reactivos**. La interpretación de los valores de GGT en ganado vacuno sano es de 10 a 17.5 según Rowlands y Clampitt (1979) y del AST se hizo de acuerdo con Bulgin y Anderson (1984) quienes señalan como valores normales en animales sanos de 78 a 132 U/L

Para la comparación por pares entre los 10 muestreos de cada grupo se empleó la prueba de Friedman (Daniel, 1984). Dicha prueba también se utilizó para comparar, en cada grupo el número de HP5G obtenido en el muestreo en que se aplicó el tratamiento y en el siguiente al mismo (efecto intensidad). La comparación entre los valores de HP5G obtenidos en el mismo muestreo, entre los grupos de animales, se llevó a cabo mediante la prueba Kruskal-Wallis (Daniel, 1984), y cuando hubo diferencia entre los muestreos de los grupos se empleó la prueba Nemenyi (Zar, 1996). Los datos fueron procesados utilizando el programa Statistic Analysis System (Ronald y Jeff, 1991).

Con los valores de GGT, AST y HP5G y anticuerpos se aplicó la prueba de correlación de Spearman (Daniel, 1984). Los datos fueron procesados mediante el programa SAS (Ronald y Jeff, 1991).

3. Resultados

Según la eliminación de HP5G del G1 (testigo) para el conjunto de muestras

* Ciba Corning modelo Micro Chen 565.

** Ciba Corning.

positivas y negativas, el porcentaje de muestras positivas en enero, M1, fue de 100 %, en los muestreos posteriores osciló de 21.7 % en febrero, M2, a 100 % de septiembre, M7, a enero, M10. La media de HP5G en el muestreo de enero, M1, fue de 13.2 ± 3.1 , posteriormente varió de 0.5 ± 0.2 en febrero, M2, a 21.1 ± 3.0 en diciembre, M9. El rango cambió de 0 a 77 HP5G. El coeficiente de variación osciló de 225.2 de febrero, M2, a 69.5 en diciembre, M9. El porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs el M1, en enero, M1, fue de 0 %, posteriormente fluctuó de 96.2 % en febrero, M2, a -59.8 % en diciembre, M9. En el conjunto de muestras positivas, la media de HP5G en enero, M1, fue de 13.2 ± 3.1 , sin embargo, luego varió de 2.6 ± 0.6 en febrero, M2, a 21.1 ± 3.0 en diciembre, M9, debido a que en algunos muestreos se redujo demasiado el número de muestras positivas, no se hizo análisis estadístico, sólo se consideran los cálculos descriptivos. El rango fue de 1 a 77 HP5G, mientras el coeficiente de variación fue de 24.4 en marzo, M3, a 134.6 en mayo, M4. El porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs el M1 fue de 80.3 % en febrero, M2, a -59.8 % en diciembre, M9 (Cuadro 1).

Respecto a la eliminación de huevos de *F. hepatica* del grupo tratado en enero, M1, y junio, M5 (G2), el porcentaje de muestras positivas al inicio fue de 100 %, luego varió de 4.3 % en febrero, M2, a 100 % en el último enero, M10. La media de HP5G en enero, M1, fue de 15.0 ± 3.1 , posteriormente osciló en febrero, M2, de 0.3 ± 0.3 a 14.9 ± 2.9 en enero, M10. El rango osciló de 0 a 120 HP5G. El coeficiente de variación cambió de 479.5 en febrero, M2, a 92.7 en enero, M10. El porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs el M1, osciló de 98.0 % en febrero, M2 a -11.1 % en junio. Considerando únicamente las muestras positivas la media de HP5G en el primer muestreo fue de 15.0 ± 3.1 luego fluctuó de 7.0 ± 0.0 a 14.9 ± 2.9 , debido a que en algunos muestreos se redujo demasiado el número de muestras no se hizo análisis estadístico, únicamente se consideran los cálculos descriptivos. El rango varió de 1 a 120 HP5G. El coeficiente de variación fluctuó de 0 en febrero, M2, a 202.7 en mayo, M4. El porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs M1 fluctuó de 53.3 % en febrero, M2, a -30.5 (incremento de HP5G) en junio, M5 (Cuadro 2).

En relación al G3, del conjunto de muestras positivas y negativas, el porcentaje de muestras positivas al inicio (M1) fue de 100 %, subsecuentemente osciló de 15.7 % en noviembre, M8, a 94.4 % en septiembre, M7. La media de HP5G en enero, M1, fue de 13.1 ± 2.2 , posteriormente cambió de 0.2 ± 0.1 en febrero, M2, a 11.5 ± 4.5 en septiembre, M7. El rango fue de 0 a 87 HP5G. El coeficiente de variación osciló de 76.3 en junio, M4, a 330.4 en noviembre, M8. El porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs M1 fue de 97.9 % en febrero, M2, a 12.2 % en septiembre, M7. En relación con el conjunto de muestras únicamente positivas, la media de HP5G al inicio M1 fue de 13.1 ± 2.2 luego cambió de 1.5 ± 0.2 en febrero, M2, a 12.2 ± 4.7 en septiembre, M7. El rango fluctuó de 1 a 87, mientras el coeficiente de variación cambió de 38.4 en febrero, M2, a 148.6 en diciembre, M9. El porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs M1 cambió de 88.5 % en febrero, M1, a 6.8 % en septiembre, M7 (Cuadro 3).

El porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G por pares vs el testigo se nota en el Cuadro 4.

El efecto extensión y el efecto intensidad del TBZ en el G1 en febrero, M2, fueron de 78.3 % y 96.5 % respectivamente, mientras que en el G2, en febrero, M2, fueron de 95.7 % y 98.0 %; sin embargo, en agosto M6 en ambos efectos fue de de 0 %. En el G3 los mencionados efectos en febrero, M2, fueron de 81.9 % y 98.4 % respectivamente, no obstante, en agosto, M6, fueron de 0 %, mientras que dichos efectos en noviembre, M8, fueron de 0 % y 38.8 % respectivamente.

El porcentaje de reducción de tasa global del grupo vs el testigo (%RTGvsT), el porcentaje de muestras positivas fue 4.1 % en el G2 y de 7.7 % en el G3, mientras en la media de HP5G, fue de 30.6 % y 59.2 % en el mismo orden.

Al comparar los muestreos del mismo grupo se encontraron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.05$). Posteriormente se compararon los muestreos de los tres grupos mediante la prueba de Kruskal-Wallis, en los cuales se encontró diferencia, por lo que se

aplicó la prueba de Nemenyi, que registró una diferencia altamente significativa en los muestreos de septiembre, M7 ($P \leq 0.02$), noviembre, M8, diciembre, M9 y enero, M10 ($P \leq 0.001$).

En los tres grupos, la media de los niveles de anticuerpos anti *F. hepatica* fue positiva en todos los muestreos.

El coeficiente de correlación entre HP5G los niveles de anticuerpos anti-*F. hepatica* (ELISA) en los diversos muestreos fue, en el G1 de -0.17 en marzo, M3 a 0.87 en junio M5, sin embargo, en el G2 osciló de -0.36 en marzo, M3, a 0.40 en junio, M5, mientras en el G3 varió de -0.37 en mayo, M4, a 0.58 en septiembre, M7.

En el G1 la media de GGT en el muestreo de enero, M1, fue de 17.7 ± 2.0 , posteriormente osciló de 17.1 ± 2.0 en febrero, M2, a 50.0 ± 11.4 en junio, M5. El rango fue de 6.4 a 135 . En el G2 dicha media en el muestreo de enero, M1, fue de 17.2 ± 1.2 , luego cambió de 19.2 ± 1.8 en febrero, M2, a 64.2 ± 12.5 en junio, M5; no obstante, el rango fue de 8.0 a 130.0 . En el G3 la mencionada media en el muestreo de enero, M1, fue de 19.2 ± 2.3 subsecuentemente fluctuó de 13.9 ± 1.2 en enero, M10, a 46.5 ± 7.9 en junio, mientras el rango fue de 3.6 a 96.0 (Figura 3).

Los valores medios de AST no rebasaron los niveles considerados normales.

El coeficiente de correlación entre HP5G y GGT en los diferentes muestreos, en el G1 osciló de 0.02 en febrero, M2, a 0.55 en mayo, M4, sin embargo, en el G2 dicha correlación fluctuó de -0.11 en mayo, M4, a 0.59 en junio, M5, mientras en el G3 varió de -0.38 en enero, M1, a 0.43 en junio, M5.

Discusión

El porcentaje de muestras positivas y la media de HP5G son parámetros indirectos del grado de parasitación. El efecto en los tres ensayos, sugiere que el

tratamiento aplicado en enero, M1, tuvo una alta eficacia en la reducción de huevos de arriba del 90 %, lo que concuerda con Boray *et al.* (1985), Rapic *et al.* (1988), Ibarra y Vera (1991); sin embargo, dicha eficacia en los tratamientos aplicados a los grupos 2 y 3 en junio, M5, no fue la esperada, (42 y 66.8 % respectivamente) lo que hace suponer que en ese mes la cantidad de estadios inmaduros de *F. hepatica* en migración era elevada, que el fasciolicida no los afectó en el 100 %, o la posible reinfección dado el periodo prepatente de 61 días (Malek, 1980) que provocan un efecto confundido. Es de suponer que dichos estadios inmaduros al haber madurado, por el tiempo transcurrido (aproximadamente 60 días), fueron los responsables de la mayor eliminación de huevos en el siguiente muestreo realizado en agosto. Esta situación también refleja que hay transmisión del parásito todo el año, aunque varía de intensidad, lo que concuerda con Rangel (1995), en una región al sureste de México; lo que explicaría, en parte, la presencia de estadios inmaduros en migración y la diferencia del efecto del fasciolicida en los diferentes meses. No obstante, también cabe la posibilidad de estar frente a una población con algún grado de resistencia como lo señalan en años recientes algunos trabajos (Boray, 1990; Overed y Bowen, 1995). Al interpretar el efecto del tratamiento de octubre que tuvo una mejor eficacia que los señalados anteriormente, se confirma la experiencia de Rangel (1995), quien señala que la transmisión ocurre todo el año, pero varía de intensidad, y provoca en los diferentes meses, diversas cargas parasitarias con distintas edades del parásito, razón que hace variar el efecto de los tratamientos cuando se aplican en diferentes meses.

Según el porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs el M1, el G1 obtuvo valores negativos en cuatro muestreos, mientras el G2 en uno (M5), y en el G3 en ninguno. De acuerdo con Greenberg *et al.* (1998), si el porcentaje de reducción de tasa es igual a cero, no hay reducción de dicha tasa de incidencia atribuible al nuevo tratamiento, en este caso, los valores negativos indican que hubo incremento. Los mismos autores mencionan que mientras más alejado del cero se encuentra el porcentaje de reducción de tasa, mayor es la diferencia entre los dos grupos. En el presente estudio el comportamiento del G3 fue mejor en relación con el G2, y ambos en relación con el G1.

El porcentaje de reducción de tasa vs testigo de la media de HP5G (G1), refleja que el G3 y el G2, tuvieron un menor porcentaje de muestras positivas, y de la media de HPG; sin embargo, al comparar dichos parámetros con los señalados por Nuñez y Quiroz (1994) y Ballesteros *et al.* (1995), ambos realizados en México; pero en regiones con diferente clima, se observa que en la zona en estudio con clima cálido húmedo, la reinfección, tiene un grado mayor de intensidad, lo que sugiere que es necesario administrar más tratamientos al año en esta zona.

Los niveles de anticuerpos anti *F. hepatica* al inicio del experimento confirmaron la utilidad y la ventaja como medio de diagnóstico (Boulard *et al.*, 1985), sin embargo, cuando se interpretan los resultados a través de la media de los anticuerpos, se nota que todos los muestreos, los valores medios fueron positivos; debido a la presencia de parásitos o cuando estos son eliminados por el tratamiento los anticuerpos continúan circulando por varios meses, sin embargo, en el rango se aprecian valores sospechosos y en algunos casos negativos (G2 muestreos 2, 5, 8 y 10, en el G3 muestreos 3 y 5), interpretando que los niveles de anticuerpos no manifiestan a corto plazo el efecto de los tratamientos con TBZ, además dichos niveles de anticuerpos pueden confundirse por el efecto de reinfecciones, que según parece ocurren todo el año en esta región.

El rango medio y máximo de eliminación de HP5G en las muestras de los tres grupos, de acuerdo con Malone y Craig (1990), tiene impacto económico de tipo medio a alto, razón para generar esquemas de tratamiento aplicables al ganado de la zona.

Al interpretar los niveles séricos de GGT de acuerdo con Rowland y Clampitt (1979); Bulgin y Anderson (1984), en los tres grupos se nota que la media fue positiva en la mayoría de los muestreos, lo que sugiere la presencia del trematodo, excepto en el G3 en los muestreos 2, 9 y 10 se interpretó como un grado menor de lesiones causadas por el parásito, debido, en parte, al mayor número de tratamientos aplicados a ese grupo. Sin embargo, al analizar el rango, se nota en los tres grupos que los valores mínimos

fueron negativo en la gran mayoría, por lo que las cargas parasitarias y las lesiones varían significativamente entre los individuos del mismo grupo.

El tratamiento con TBZ de enero, M1, se consideró táctico o curativo, ya que, por una parte, el 100 % de los animales eran positivos al trematodo y, por otra, se consideró conveniente desparasitar a todos los animales para prevenir la muerte de algunos. Los tratamientos de junio y octubre se consideraron estratégicos, en parte debido a los incremento de la reinfección en junio, M5, por el manejo zootécnico establecido, dada la necesidad del ganado de pastar en las partes bajas del rancho, lo que favoreció la infección en el periodo de "sequía" y luego el periodo de lluvias con inundaciones en algunas zonas del rancho.

La media de los niveles de AST por muestreo no rebasaron los valores considerados normales, dicha situación sugiere que posiblemente la lesión no fue suficiente para liberar niveles detectables de enzimas, aunque en algunos animales hubo muestras positivas.

El coeficiente de correlación entre HP5G y ELISA en los diversos muestreos fue baja excepto en el G1 en donde hubo una correlación alta en el muestreo de junio, M5. Se interpreta que el efecto de los tratamientos fasciolicidas redujo en varias ocasiones la cantidad de huevos, no así los títulos de anticuerpos.

Se puede considerar que el coeficiente de correlación entre HP5G y GGT en los diferentes muestreos fue baja, la mayor fue en el G1 con 0.55 en mayo, M4, se interpreta que dicha correlación fue baja debido al efecto de los tratamientos, que por una parte redujeron la eliminación de huevos y, por otra, al eliminar al parásito disminuyeron las lesiones.

En las condiciones en que se realizó el presente estudio, los tres esquemas de control quimioterapéutico aplicados a ganado bovino en pastoreo extensivo, tuvieron un efecto sobre el porcentaje de reducción de muestras positivas en la eliminación de huevos

de *F. hepatica*, en el G1 en 5 muestreos, en el G2 en 8 y en el G3 en 9, lo que concuerda parcialmente con la media de HP5G y los niveles de GGT, mientras que los niveles de AST no rebasaron los niveles normales. Los valores de anticuerpos en general, no mostraron relación con los acontecimientos quimioterapéuticos. Se concluye que el modelo 3 (G3) con tratamiento fasciolicida con TBZ en enero, junio y octubre tuvo el mejor comportamiento en la reducción de eliminación de huevos de *F. hepatica*, por lo que se puede recomendar para aplicarlo en la zona, seguido del modelo 2 con tratamientos en enero y junio (G2) y en tercer lugar el modelo 1 (G1 testigo) solamente con tratamiento en enero.

Agradecimientos

A Novartis Salud Animal S.A de C.V., México, por la donación del Fasinx.

Estudio financiado parcialmente por PAPIIT, DGAPA IN218996 UNAM.

Al Sr. Orlando Irizon Capitaine propietario del rancho Las Gaviotas.

Literatura citada

- Álvarez, L.F. Prevalencia de fasciolosis en el municipio de Nautla, Veracruz. (tesis de licenciatura) México, D.F. México: *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Univ. Veracruzana*, 1978.
- Ballesteros, R.G., Guerrero, M.C.M., Vega, A.N. y Quiroz, R.H., 1995. Valoración del control de *Fasciola hepatica* en vacas tratadas con triclabendazol. Memoria XIX Congreso Nacional de Buiatría. 1995 agosto 24-26; Torreón (Coahuila) México. México (DF) Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, pp. 150.
- Boray, J. C., Crowfoot, P.D., Strong, M.B., Allison, J.R., Schellenbaum, M., Von Orelli, M. and Sarasin, G., 1983. Treatment of immature and mature *Fasciola hepatica* infections in sheep with triclabendazole. *Vet. Rec.*, 113: 315-317.
- Boray, J.C., 1985. Flukes of Domestic Animals. In: Parasites, Pest and Predators. Gaafar M.S. Elsevier, pp.179-455.

- Boray, J.C., Jackson, R. and Strong, M.B., 1985. Chemoprophylaxis of fascioliasis with triclabendazole. *N. Z. vet. J.*, 33: 182-185.
- Boray, J.C., 1990. Drug resistance in *Fasciola hepatica*. Resistance of Parasites to Antiparasitic Drugs. Round Table Conference, VII International Congress of Parasitology, Paris 1990. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, pp. 51-60.
- Boulard, C., Boury, M., et Argente, G., 1985. Comparaison de la détection des foyers de fasciolose par test ELISA sur lactosérum et par coproscopie. *Ann. Rech. Vét.*, 16:363-368.
- Bulgin, B.C. and Anderson, P.H., 1984. Serum gamma-glutamyl transpeptidase activity in cattle with induced fascioliasis. *Res. Vet. Sci.*, 37:166-169.
- Castellanos, H.A.A., Escutia, S.I. y Quiroz, R.H., 1992. Frecuencia de fascioliasis hepática en bovinos sacrificados en las plantas Tipo Inspección Federal en México de los años 1979-1987. *Vet. Méx.*, 23: 339-342.
- Craig, T.M. and Huey, R.L., 1984. Efficacy of triclabendazole against *Fasciola hepatica* and *Fascioloides magna* in naturally infected calves. *Am. J. Vet. Res.*, 45:1944-1945.
- Daniel, W.W., 1984. Bioestadística, base para el análisis de las ciencias de la salud. 1a ed., México: Ed.Limusa, pp. 383-387.
- Echevarría, F.A.M., Correa, M.B.C., Werhle, R.D. and Corrêa, F.I., 1992. Experiments on anthelmintic control of *Fasciola hepatica* in Brazil. *Vet. Parasitol.*, 43: 211-222
- Eckert, J., Schneiter, G. und Wolff, K., 1984. Fasinex (triclabendazol) ein neues fasziozid. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*, 97:349-356.
- García, E., 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köeppen para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., pp. 217.
- Greenberg, R.S., Daniels, R.F., Flanders, D.W., Eley, J.W. and Boring, R.J., 1998. Epidemiología Médica. 2a edición., México: Manual Moderno, pp. 233.
- Happich, F.A. and Boray, J.C., 1969. Quantitative diagnosis of chronic fascioliasis. *Aust. Vet. J.*, 45: 326-328.

- Herrera, R.D. y Quiroz, R.H., 1971. Comparación de la prueba intradérmica y el examen coproparasitológico en el diagnóstico de la fasciolosis bovina. *Tec. Pecu. Mex.*, 19: 64.
- Ibarra, V.F. y Vera, M.Y., 1991. Comparación del efecto extensivo de cinco fasciolicidas en bovinos en clima cálido. *Vet. Mex.*, 22: 159-162.
- Ibarra, F., Montenegro, N., Vera, Y., Boulard, C., Quiroz, H., Flores, J. y Ochoa, P., 1998. Comparison of three ELISA test for seroepidemiology of bovine fasciolosis. *Vet. Parasitol.*, 77: 229-236.
- Malek, E.A., 1980. Snail-Transmitted Parasitic Diseases. CRC. Press, Inc Florida. Vol II: pp. 324.
- Malone J.B. and Craig T.M., 1990. Cattle liver flukes: risk assessment and control. Beef production management. *Compendium Food Anim.*, 12: 747-759.
- Montenegro, C.N. ELISA indirecta. Estandarización como prueba diagnóstica de *Fasciola hepatica* en bovinos. (tesis de licenciatura) Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México, 1997.
- Núñez, G.M.T. y Quiroz, R.H., 1994. Efecto de tratamientos sistemáticos con nitroxinil en la reducción de huevos de *Fasciola hepatica* en ganado de lidia. *Vet. Mex.*, 25: 341-343.
- Overed, D.J. and Bowen, F.L., 1995. Resistance of *Fasciola hepatica* to triclabendazole. *Aust. Vet. J.*, 72: 275-276.
- Rangel, R.J.L. Estudio poblacional de la fasciolosis en el estado de Tabasco. (tesis Doctor en Ciencias) Universidad Nacional Autónoma de México, 1995.
- Rapic, D., Dzakula, N., Sadar, D. and Richard, R.J., 1988. Comparative efficacy of triclabendazole, nitroxinil and rafoxanide against immature *Fasciola hepatica* in naturally infected cattle. *Vet. Rec.*, 22:59-62.
- Ronald, P.C. and Jeff, S.K., 1991. Applied Statistic and the Programing Language. Elsevier Science Publishing, New York, USA.
- Rowlands, D.T. and Clampitt, R.B., 1979. Plasma enzyme levels in ruminant infected with *Fasciola hepatica*. *Vet. Parasitol.*, 5:155-157.
- Sykes, A.R., Coop, R.L. and Robinson, M.G., 1980. Chronic subclinical ovine fascioliasis plasma glutamate deshidrogenase, gamma-glutamyl transpeptidase and

aspartate amino transférase and their significance as diagnostic aid. *Res. Vet. Sci.*, 28: 71-75.

Tietz, N.W. Fundamentals of clinical chemistry. 2nd edition. Toronto (Ca): W. B. Sanders Co., 1982.

Zar, J.H., 1996. Bioestatistical Analysis. 3th ed. Prentice Hall, New Jersey, USA, pp. 620.

Cuadro 1

PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HP5G DE *F. hepatica* EN GANADO BOVINO
TRATADO CON TRICLABENDAZOL EN ENERO (G1 TESTIGO)

M	Muestras positivas y negativas					Muestras positivas			
	% de muestras positivas	Media de HP5G ± e.e.	Rango	C.V.	%RT vs M1	Media de HP5G ± e.e.	Rango	C.V.	%RT vs M1
M1 ene.	100.0	13.2 ± 3.1 c *	2-72	113.9	0.0	13.2 ± 3.1	2-79	113.1	0.0
M2 feb.	21.7	00.5 ± 0.2 a	0-5	225.2	96.2	02.6 ± 0.6	1-5	58.3	80.3
M3 mar.	26.0	0.8 ± 0.3 a	0-4	177.8	93.9	03.3 ± 0.3	2-4	24.4	75.0
M4 may.	47.8	04.0 ± 1.8 ab	0-39	217.8	96.9	08.5 ± 3.4	1-39	134.6	35.6
M5 jun.	91.3	14.6 ± 3.8 cd	0-75	126.6	-10.6	16.0 ± 4.1	2-75	117.5	-21.4
M6 ago.	78.2	8.1 ± 1.8 bc	0-36	111.0	38.6	10.4 ± 2.1	1-36	86.4	21.2
M7 sep.	100.0	12.1 ± 2.0 c	2-40	079.8	8.3	12.1 ± 2.0	2-40	79.8	8.3
M8 nov.	100.0	16.0 ± 2.6 de	6-58	079.1	-21.2	16.0 ± 2.6	6-58	79.1	-21.2
M9 dic.	100.0	21.1 ± 3.0 e	8-77	069.5	-59.8	21.1 ± 2.0	8-77	69.5	-59.8
M10 ene.	100.0	19.0 ± 2.9 e	7-68	069.9	-43.2	19.0 ± 2.9	7-68	69.9	-43.9

M=muestras.

*Letras distintas denotan diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$).

C.V. = Coeficiente de variación.

%RTvsT = Porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs el muestreo 1.

TEJIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuadro 2

PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HPG DE *F. hepatica* EN GANADO BOVINO
TRATADO CON TRICLABENDAZOL EN ENERO Y JUNIO (GRUPO 2)

M	Muestras positivas y negativas					Muestras positivas			
	% de muestras positivas	Media de HPG ± e.e.	Rango	C.V.	%RT vs M1	Media de HP5G ± e.e.	Rango	C.V.	%RT vs M1
M1 ene.	100	15.0 ± 3.1c *	1-68	100.2	0.0	15.0 ± 3.1	1-68	100.6	0.0
M2 feb.	4.3	0.3 ± 0.3a	0-7	479.5	98.0	7.0 ± 0.0	7-7	0.0	53.3
M3 mar.	52.6	4.8 ± 2.8a	0-54	250.2	67.4	9.3 ± 5.0	1-54	171.5	38.0
M4 may.	50.0	8.9 ± 5.9b	0-120	297.3	40.3	17.9 ± 11.4	1-120	202.7	-19.3
M5 jun	85.0	16.6 ± 6.6c	0-104	178.4	-11.1	19.5 ± 7.6	2-104	160.3	-30.5
M6 ago.	65.0	8.7 ± 4.7a	0-96	244.4	42.0	13.3 ± 7.0	1-96	190.2	10.8
M7 sep.	85.7	8.8 ± 3.2ab	0-69	166.4	41.0	10.3 ± 3.6	1-69	148.8	31.1
M8 nov.	95.2	9.8 ± 2.8b	0-61	133.5	34.3	10.3 ± 2.9	1-61	128.5	31.0
M9 dic.	95.2	13.1 ± 3.0bc	0-65	107.1	12.4	13.8 ± 3.1	1-65	102.3	8.0
M10 ene.	100	14.9 ± 2.9c	2-68	92.7	0.6	14.9 ± 2.9	2-68	92.7	0.6

M = muestreos.

* Letras distintas denotan diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$).

C.V. = Coeficiente de variación.

%RT vs T = Porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs el muestreo 1.

Cuadro 3

PROCESO DE ELIMINACIÓN DE HP5G DE *F. hepatica* EN GANADO BOVINO TRATADO CON TRICLABENDAZOL EN ENERO, JUNIO Y OCTUBRE (GRUPO 3)

M	Muestras positivas y negativas					Muestras positivas			
	% de muestras positivas	Media de HP5G \pm e. e.	Rango	C.V.	%RT vs M1	Media de HP5G \pm e. e.	Rango	C.V.	%RT vs M1
M1 ene.	100.0	13.1 \pm 2.2b*	1-45	80.5	0.0	13.1 \pm 2.2	1-45	80.5	0.0
M2 feb.	18.1	0.2 \pm 0.1a	0-2	231.3	97.9	1.5 \pm 0.2	1-2	38.4	88.5
M3 mar	23.8	0.9 \pm 0.4a	0-9	235.9	92.7	4.0 \pm 1.4	1-9	79.5	69.5
M4 may.	61.9	2.5 \pm 0.5a	0-8	99.9	80.8	4.0 \pm 0.5	1-8	47.4	69.0
M5 jun.	88.8	7.8 \pm 1.4ab	0-2	76.3	40.3	8.8 \pm 1.4	2-20	63.5	32.9
M6 ago.	63.1	4.3 \pm 1.1a	0-16	110.8	66.8	6.9 \pm 1.2	3-16	63.3	47.3
M7 sep.	94.4	11.5 \pm 4.5b	0-87	167.5	12.0	12.2 \pm 4.7	1-87	161.3	6.8
M8 nov.	15.7	1.8 \pm 1.4a	0-27	330.4	85.6	12.0 \pm 7.5	3-27	108.9	8.6
M9 dic.	26.3	1.1 \pm 0.8a	0-16	317.0	91.2	4.4 \pm 2.9	1-16	148.6	66.4
M10 ene.	38.8	1.3 \pm 0.3a	0-5	173.9	89.9	2.0 \pm 0.5	1-5	76.3	84.7

M= muestreos

*Letras distintas denotan diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$).

C.V. = Coeficiente de variación.

%RTvsT = Porcentaje de reducción de tasa de la media de HP5G vs el muestreo 1.

Cuadro 4

PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DE TASA DE LA MEDIA DE HP5G DE *F. hepatica* VS GRUPO TESTIGO EN GANADO BOVINO TRATADO CON TRICLABENDAZOL EN DIFERENTES MESES

M	Muestras positivas y negativas			Muestras positivas		
	G1, tratado en enero.	G2, tratado en enero y junio .	G3, tratado en enero, junio y octubre.	G1, tratado en enero.	G2, tratado en enero y junio.	G3, tratado en enero junio y octubre.
M1 ene.	0	-13.6*	0.75	0	-13.6	10
M2 feb.	0	40.0	60.0	0	-169.2	42.3
M3 mar	0	-600.0	-12.5	0	-181.8	-21.2
M4 may.	0	-122.5	37.5	0	-110.5	52.9
M5 jun.	0	-13.6	46.5	0	-21.8	45.0
M6 ago.	0	-7.4	46.9	0	27.8	33.6
M7 sep.	0	27.2	4.9	0	14.8	-0.82
M8 nov.	0	39.1	88.7	0	35.6	25.0
M9 dic.	0	37.9	94.7	0	34.5	79.4
M10 ene.	0	21.5	93.1	0	21.5	89.4

M= muestreo.

* Valores negativos indican incremento de HP5G.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

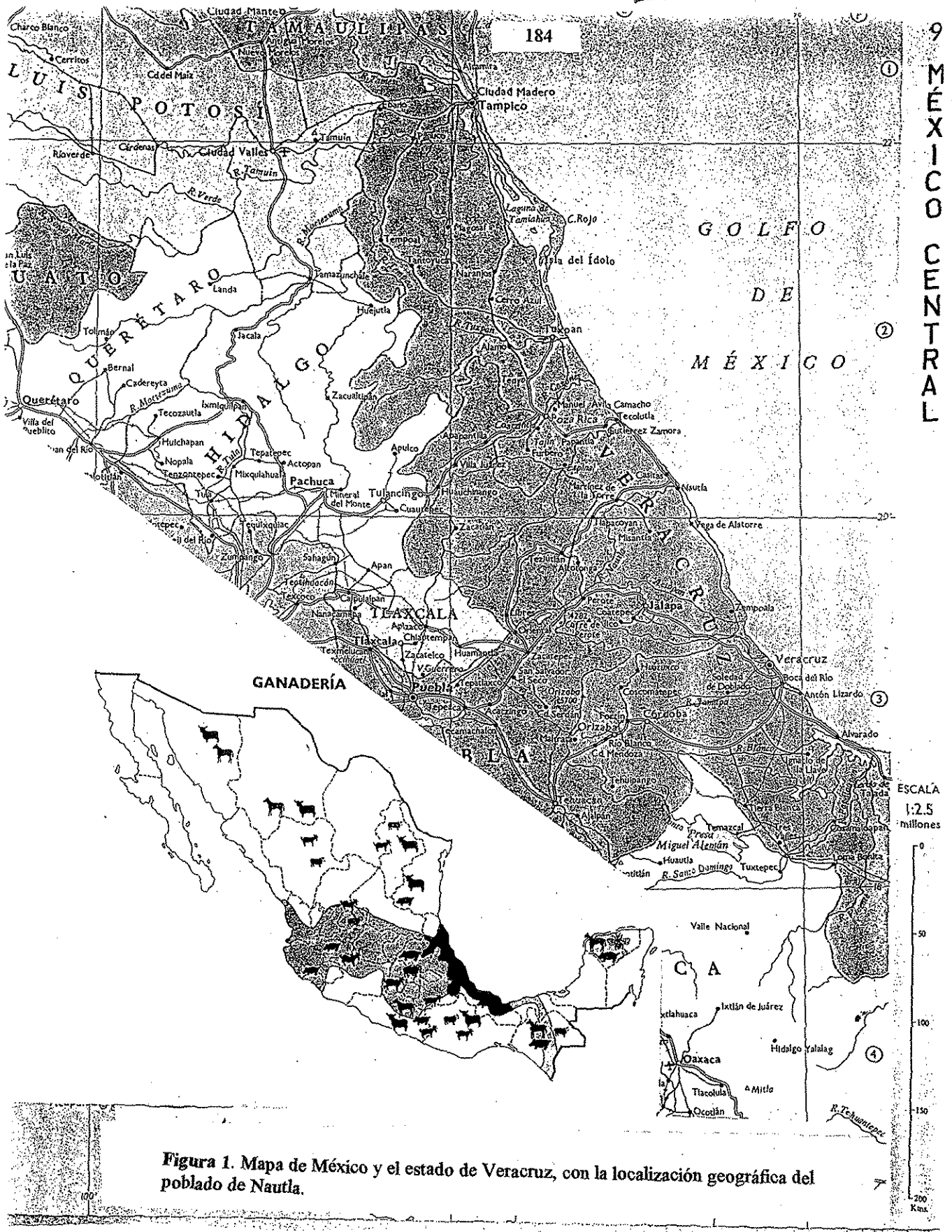


Figura 1. Mapa de México y el estado de Veracruz, con la localización geográfica del poblado de Nautla.

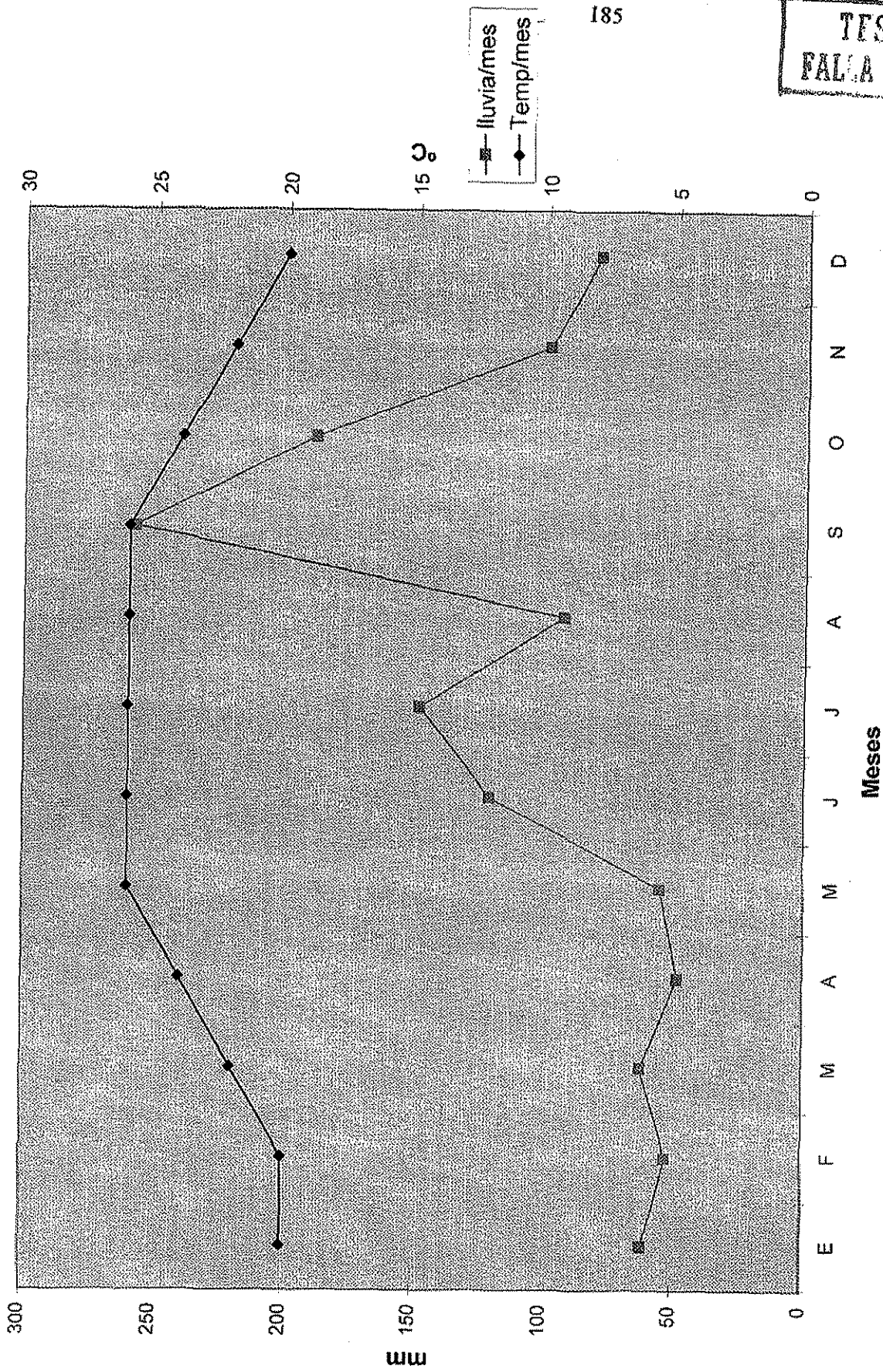


Figura 2. Precipitación pluvial y temperatura media mensuales en Nautla, Veracruz, México.

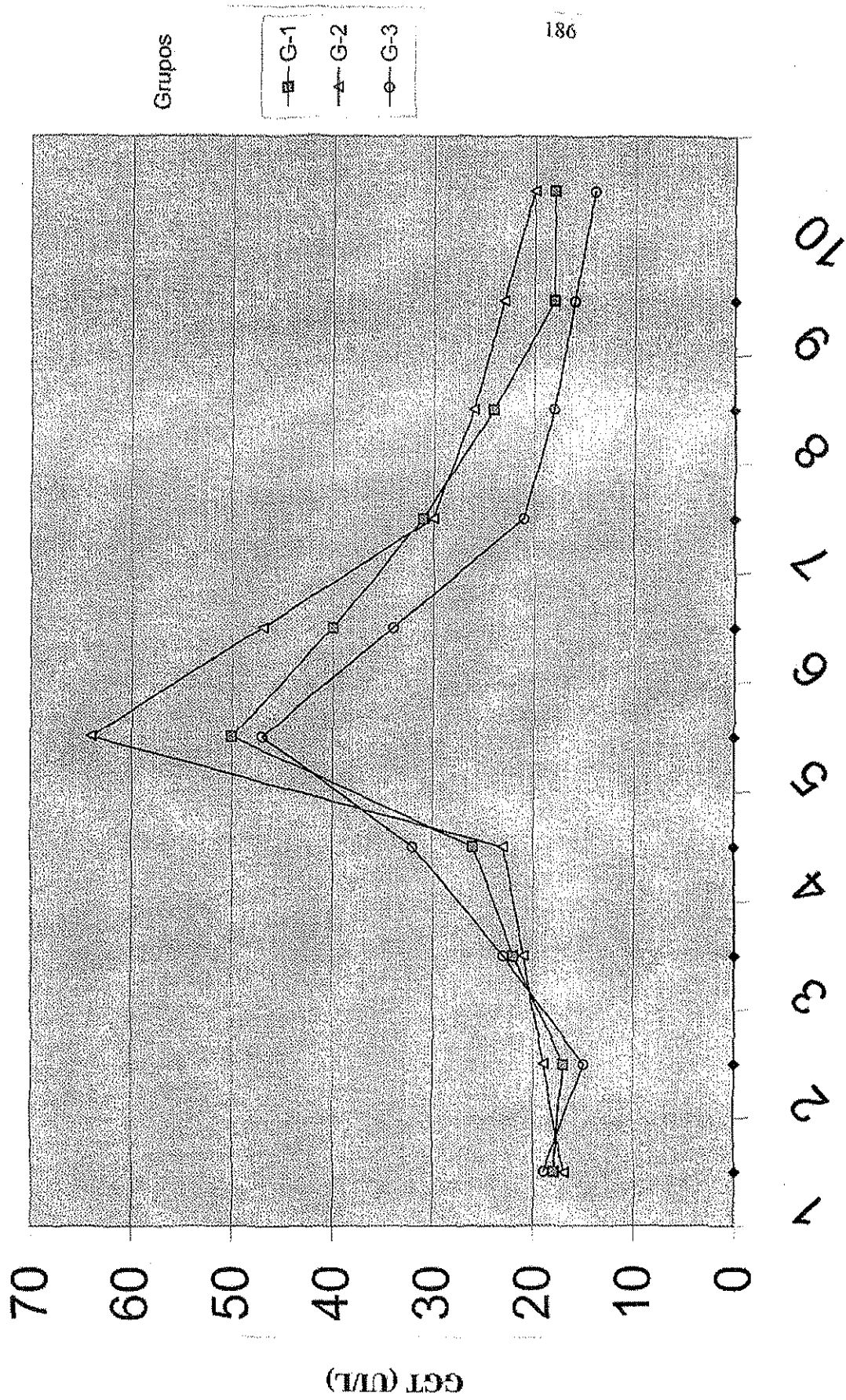


Figura 3. Niveles de GGT en bovinos tratadas con triclabendazol en enero (G1), enero y mayo (G2); enero, junio y octubre (G3).

4. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

4.1. Experimentos sobre control de la dicroceliosis ovina en España

4.1.1. Discusión

Debido al efecto de los tratamientos con ABZ, los cinco grupos tuvieron un comportamiento diferente en la eliminación de huevos en los muestreos de enero a abril. Respecto al parámetro porcentaje de muestras positivas o prevalencia (Margolis *et al.* 1982) a huevos durante todo el año, el G1 tratado en noviembre y enero fue el que tuvo el menor porcentaje y, por tanto, el mejor comportamiento en cuanto a la reducción de muestras positivas. Le siguieron, en orden ascendente el G2, tratado en noviembre y febrero; el G3, tratado en noviembre y abril; a continuación el G4, tratado en enero; y finalmente, el G5, (testigo) tratado en abril. En ese mismo orden, el G1 fue el que tuvo el mejor comportamiento, por lo que podría ser el recomendado para la región.

Al comparar la media de HPG de *D. dendriticum* del conjunto de muestras positivas y negativas, de los cinco grupos durante los 10 muestreos, el G1, tratado en noviembre y enero fue el que tuvo el mejor comportamiento, ya que en él se detectó la media de HPG más baja. Le siguieron en orden ascendente en cuanto al número de huevos, el G4, tratado en enero; luego el G2, tratado en noviembre y febrero; a continuación el G3, desparasitado en noviembre y abril y finalmente el G5 (testigo) tratado en abril.

A la vista de los resultados obtenidos en los dos parámetros anteriormente mencionados si se administran dos tratamientos la mejor pauta a seguir, en las condiciones de León (España), es la aplicada en el G1, es decir, tratar en noviembre

cuando comienza el periodo de hibernación de las hormigas (Manga-González *et al.*, 2001), para eliminar los vermes adultos puesto que el antihelmíntico empleado no actúa contra las fases juveniles, y repetir el tratamiento en enero, fecha en la que, en ausencia de reinfección, la mayor parte de las metacercarias ingeridas por los animales hasta noviembre ya han podido convertirse en vermes adultos capaces de eliminar huevos. Dichas fechas de tratamiento son las más adecuadas para conseguir que disminuya la eliminación de huevos justo en el periodo en que es mayor, es decir, finales de otoño e invierno (Manga-González *et al.*, 1991a). Además, no hay que olvidar que los huevos de *D. dendriticum* son más resistentes a las temperaturas bajas que a las altas, y que en la provincia de León la viabilidad de los mismos es elevada desde septiembre a junio, mientras que en julio y agosto la mortalidad es casi de 100 % (Alunda y Rojo-Vázquez, 1983). Por tanto, si se reduce al máximo la contaminación de los pastos en otoño e invierno con huevos viables, se evitará la infección de los moluscos huéspedes intermediarios en la primavera, época en que empiezan a estar muy activos y son muy abundantes (Manga-González, 1987; Manga-González *et al.*, 2001).

La segunda pauta a recomendar, cuando se aplican dos tratamientos, sería administrar uno en noviembre y otro en febrero, como ocurrió en el G2, puesto que la efectividad del tratamiento en febrero es, incluso, más elevada (E.E.: 50.8 %; E.I.: 73.1 %) que la del de enero (E.E.: 38.8; E.I.: 68.5 %), debido a que en febrero todos los vermes deberían estar maduros, de acuerdo con el periodo de prepatencia (49 a 76 días) obtenido en infecciones experimentales por Campo *et al.* (2000). A pesar de esto, el tratamiento de febrero evita en menor grado la contaminación de los pastos que el de enero, pues permite que los vermes juveniles, no afectados por el tratamiento de noviembre, hayan madurado y hayan estado eliminando huevos durante un periodo más prolongado, en la época en la que la eliminación es más elevada (ver grupo G5, testigo, que no se trató hasta abril). Asimismo hay que tener en cuenta que la eficacia del ABZ contra *D. dendriticum* no es del 100 % (Himonas y Liakos, 1980; Tharaldsen y Wethe, 1980; Cordero del Campillo *et al.*, 1982; Schuster y Hiepe, 1983), y que podría existir, además, algún grado de resistencia del parásito al tratamiento con ABZ o un retardo en el periodo prepatente, tal como señalaron, para otro parásito, Boray (1990) y Overed y Bowen (1995).

De lo dicho anteriormente, es fácil deducir que la aplicación del segundo tratamiento en abril, después del de noviembre, no es muy recomendable, pues no evita la contaminación de los pastos con los huevos eliminados por los vermes que maduraron después de noviembre. Además, a partir de marzo la eliminación desciende de manera natural (ver G5, testigo) hasta el otoño (Manga-González, *et al.*, 1991a), a pesar de que los animales pueden ya reinfectarse con las hormigas infectadas que sobrevivieron al invierno (Tarry, 1969; Badie, 1978) y, posteriormente, con otras infectadas ese mismo año desde que finaliza su periodo de hibernación (Manga-González *et al.*, 2001). Asimismo hay que tener en cuenta que la viabilidad de los huevos se reduce a medida que van aumentando las temperaturas, pudiendo llegar a un 100 % de mortalidad en los meses calurosos del verano (Alunda y Rojo-Vázquez, 1983b).

Si consideramos los grupos en los que únicamente se aplicó un tratamiento, el grupo tratado en enero (G4) tuvo mejor comportamiento en la reducción de las muestras positivas y de la media de HPG de *D. dendriticum* que el grupo tratado en abril (G5), a pesar de que en esta última fecha se produce un descenso en la eliminación de forma natural, como ya comentamos anteriormente. Conviene recordar que el G5 lo consideramos como grupo testigo, puesto que permaneció sin tratar durante la época otoño-invierno, en la que se produce la mayor contaminación de los pastos (Manga-González *et al.*, 1991a).

Si tenemos en cuenta todos los grupos tanto los que recibieron un sólo tratamiento como los que recibieron dos, parece que el tratamiento en el mes de enero, ya sea administrado después de otro en noviembre (G1), o sólo (G4), es el más efectivo contra *D. dendriticum* por ser el que reduce la eliminación de los huevos en mayor grado y, además, por hacerlo en la época en la que, debido a las bajas temperaturas, su viabilidad en el campo es más elevada. Sin embargo el tratamiento de abril, bien aplicado después del de noviembre (G3), o sólo (G5), es el menos adecuado por las mismas razones expuestas. Además, a partir de mayo no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos tratados en abril y el resto de los grupos.

Los resultados obtenidos corroboran nuestra hipótesis de trabajo, basada en los estudios epidemiológicos realizados en León (Manga-González, 1987; Manga-González *et al.*, 1991a, 2001; Cabanas, 1995), y coinciden en cierto modo con lo señalado por Schuster y Hiepe (1993) quienes eligieron realizar sus estudios (en Alemania) sobre la eficacia del ABZ, luxabendazol y netobimin frente a *D. dendriticum* en invierno, debido al efecto selectivo de los (pro)bencimidazoles principalmente sobre los vermes maduros. Dichos autores consiguieron reducciones en la carga de vermes del 92.9 % al 94 %, con dosis de 15 y 20 mg/kg de ABZ, respectivamente. Tharaldsen y Wethe (1980), estudiaron la reducción en la eliminación de huevos de *D. dendriticum* por ganado ovino, al que aplicaron dos tratamientos de ABZ (dosis de 10 a 12 mg/kg) con un intervalo de una semana, al comienzo de la estabulación en noviembre. De acuerdo con los análisis coprológicos realizados semanalmente durante el periodo de estabulación de los animales, la reducción en la eliminación de huevos fue del 90 %, cifra superior a la obtenida por nosotros en los tres tratamientos realizados en noviembre. Esto pudo ser debido a que una mayor proporción de vermes fueran ya adultos cuando se inició el periodo de estabulación en noviembre, puesto que los experimentos de Tharaldsen y Wethe (1980) se llevaron a cabo en Noruega, país más frío que España, por lo que es de suponer que la hibernación de las hormigas comenzara antes que en León.

Los resultados de nuestras investigaciones no coinciden demasiado con las recomendaciones realizadas por Cordero del Campillo *et al.* (1982) quienes, basándose en los trabajos epidemiológicos de Wolff (1976) y Badie (1978), consideraron que el tratamiento administrado al final de la primavera/principio del verano contribuye eficazmente a eliminar un gran número de parásitos, y que es recomendable repetirlo en otoño para eliminar la población residual. Cordero del Campillo *et al.* (1982), probaron la eficacia del ABZ en ganado ovino de la provincia de León (España) infectado naturalmente con *D. dendriticum*. Estos autores realizaron 3 tipos de experimentos, con 2 grupos de ovejas tratadas y un grupo testigo, para cada uno de los experimentos. Efectuaron análisis coprológicos de todos los animales desde 18 días antes del primer

tratamiento hasta 20 días después del mismo, fecha a partir de la cual sacrificaron los animales. En el primer experimento, iniciado al final de marzo de 1978, probaron una dosis de 7.5 mg/kg de ABZ y 2 dosis de 7.5 mg/kg espaciadas una semana. En el segundo experimento, iniciado al comienzo de noviembre del mismo año, utilizaron 2 dosis de 7.5 mg/kg con un intervalo de 15 días entre ambas, y 2 dosis de 10 mg/kg con un intervalo de 7 días. En el tercer experimento, iniciado a mediados de mayo del año siguiente, probaron una dosis de 10 mg/kg y 2 dosis de 7.5 mg/kg administradas con una diferencia de 7 días. Además, en los dos primeros experimentos tuvieron en cuenta la edad de los animales, diferenciando los que tenían una o dos estaciones de pastoreo.

Es difícil poder sacar conclusiones de los resultados obtenidos por Cordero del Campillo *et al.* (1982), en cuanto a la influencia de la época del tratamiento en la reducción de los vermes de *D. dendriticum*, debido a las distintas dosis y pautas de administración utilizadas, pero aún es más difícil poder comparar resultados sobre la reducción en la eliminación de huevos con los obtenidos en el presente trabajo. Los autores comentan que el esquema general de eliminación de huevos siguió un perfil similar en los tres ensayos, aunque la dosis de 10 mg/kg redujo más la eliminación de huevos que la de 7.5 mg/kg y el efecto de la repetición de la dosis fue más ligero en los ensayos primero y tercero, y más notable en el segundo. No obstante comentan que las importantes variaciones observadas en la eliminación de huevos de un animal respecto a otro, obligan a tener reservas sobre la estimación de antihelmínticos basada únicamente en este tipo de investigación, incluso cuando se ha trabajado sobre lotes importantes que permiten un tratamiento estadístico de los resultados. Estos autores señalan que los animales tratados tenían una proporción mayor de huevos que parecían anormales, aunque no intentaron demostrar la existencia de una acción ovicida. En cuanto a la carga parasitaria que observaron en la autopsia, la reducción más baja de los vermes (expresada en media geométrica) la obtuvieron en los animales tratados a finales de marzo con dosis de 7.5 mg/kg con un intervalo de 7 días (82.43 %-85.54%), mientras que la más alta se observó en el grupo que recibió, a principio de noviembre, dos dosis de 10 mg/kg con un intervalo de 7 días (94.05%). Los valores en la reducción de

vermes fueron más bajos cuando consideraron la media aritmética, así la reducción mínima la observaron en las ovejas tratadas con una sola dosis de 7.5 mg/kg a finales de marzo (32.51 con una única estación de pastoreo; 67.75 % con 2 estaciones). De los resultados obtenidos por Cordero del Campillo *et al.* (1982) parece deducirse que la reducción de vermes fue menor cuando los tratamientos se aplicaron a finales de marzo y mediados de mayo, que cuando se hizo en noviembre, lo que coincide con los resultados hallados en el presente trabajo.

Himomas y Liakos (1980) estudiaron la reducción de vermes de *D. dendriticum* en ganado ovino infectado naturalmente, mediante la aplicación de ABZ a las dosis de 15 mg/kg (intraruminal) y 20 mg/kg (intraruminal y oral) y obtuvieron reducciones del 99,6% y 98.2%, respectivamente. Los autores comentan que realizaron los experimentos a finales de noviembre de 1978 y comienzos de junio de 1979, pero en la publicación no está claro qué experimentos hicieron en cada época, por lo que, en nuestra opinión, es imposible sacar alguna conclusión al respecto, que pueda ser comparada con los resultados obtenidos en el presente trabajo.

De acuerdo con los valores establecidos por Campo *et al.* (2000) sobre la relación existente entre la carga parasitaria y el número de huevos en heces, en la dicroceliosis experimental ovina, los valores medios de HPG obtenidos en los 5 grupos de animales al comienzo del experimento (noviembre de 1993), que oscilaron entre 108 y 132 HPG, indican que el número de vermes albergado por dichos animales estaba comprendido entre 101 y 300. Dichas autoras señalaron que en los corderos con una carga parasitaria comprendida entre 101 y 200 vermes la media de HPG, en el periodo entre los días 49 y 180 p.i., fue de 84.4 y en los que tenían entre 201 y 300 vermes esta media fue de 172.4 PHG. Campo *et al.* (2000) encontraron que existía una correlación estadística entre el número de HPG eliminados por cada cordero desde que se producía la primera eliminación (entre los días 49 y 79 p.i., según los casos) hasta el final del experimento (180 días p.i.) y el número de vermes recuperados en la necropsia. Como era de esperar la correlación fue más intensa cuando consideraron únicamente la

eliminación de HPG de los corderos entre los días 120 y 180 p.i., periodo en el que se supone que todos los vermes ya están maduros y, por tanto, todos ellos eliminan huevos. Esta tendencia a incrementarse el número de huevos en las heces al aumentar la carga parasitaria también fue observada por Calamel y Giauffret (1976) y Rojo-Vázquez *et al.* (1981) en ovejas infectadas naturalmente.

El que no se observaran manifestaciones clínicas en los animales del presente estudio puede ser debido a que, de acuerdo con la relación HPG/carga establecida por Campo *et al.* (2000), el número de vermes en los animales de los 5 grupos fue siempre inferior a 1000, y según Rojo-Vázquez *et al.* (1981) la presencia de 1000 ejemplares de *D. dedriticum*, o menos, no tiene significación clínica, ni repercusiones económicas. Wolff *et al.* (1984) no observaron señales clínicas en ovejas que albergaban hasta 1946 vermes, al igual que Campo *et al.* (2000) en corderos con cargas que oscilaban entre 139 y 570 vermes, incluso en uno que albergaba 2063 parásitos. De acuerdo con la clasificación dada por Calamel y Giauffret (1976) la máxima infección de los animales del presente estudio fue ligera y sin incidencias, y en la mayoría de los meses la presencia del parásito fue testimonial sin consecuencias patológicas ni económicas.

El porcentaje de reducción de tasa, es útil para comparar entre el tratamiento estándar en noviembre o abril y los aplicados en los otros meses en cada grupo a través de los diferentes muestreos. Cuando el porcentaje es de cero no hay reducción en la tasa de incidencia atribuible al nuevo tratamiento, y los tratamientos se juzgan equivalentes. Mientras más alejado de cero se encuentra el porcentaje de reducción de tasa, mayor es la diferencia entre los tratamientos (Greenberg *et al.*, 1998). El porcentaje de reducción de tasa fue más evidente en los tratamientos de enero y febrero, comparado con los tratamientos de noviembre y abril. En algunos muestreos se encontraron cifras negativas, lo que sugiere que no hubo reducción sino incremento de huevos, atribuible a reinfecciones en mayor grado.

El efecto extensión debido al tratamiento de noviembre en el G1, G2 y G3 fue el más alto comparado con los tratamientos administrados en enero al G1 y al G4. Asimismo, los tratamientos de febrero administrado al G2, y de abril al G3 y del G5 fueron bajos. No obstante, el efecto intensidad fue bajo en los tratamientos de noviembre, mientras en los grupos tratados en enero y febrero fue mas alto; sin embargo, en el de abril fue medio en el G3 y medio alto en el G5. Esta situación se debió a que el efecto extensión es cualitativo (porcentaje de muestras positivas) y el efecto intensidad cuantitativo (media de HPG), ambos expresados en porcentaje y no necesariamente guardan una relación. No obstante, hay diferencia entre los tratamientos aplicados en noviembre, contra los aplicados en enero, febrero y abril, que fueron los que tuvieron mejor comportamiento. A pesar de lo dicho, hay que tener en cuenta que en el mes de abril se produce un descenso en el HPG de forma natural, como ya había sido señalado anteriormente por Manga-González *et al.* (1991a), y como se ha podido comprobar en los resultados obtenidos en el presente estudio en el grupo testigo (G5). Por tanto, el valor más alto del efecto intensidad del tratamiento de abril no se puede atribuir únicamente al antihelmíntico. Por otra parte, el comportamiento en la eliminación fecal de HPG durante el invierno en el G5, que permaneció sin tratar durante la época otoño-invierno fue similar al señalado por Manga-González *et al.* (1991a; 2001).

El comportamiento del conjunto de muestras únicamente positivas es más real que el que se obtiene al calcular la media entre positivas y negativas, dando cifras más altas en los diferentes grupos, esta situación sugiere la importancia que tienen los animales que permanecen positivos aún después del tratamiento y que puede deberse a algún grado de resistencia al antihelmíntico, o a la señalada maduración de estadios inmaduros.

4.1.2. Conclusiones

El modelo con tratamiento en noviembre y enero aplicado al G1 fue significativamente el mejor para reducir la eliminación de huevos de *D. dendriticum*. Le siguieron en orden descendente el G2, tratado en noviembre y febrero, luego el G4 tratado en enero el G3, enseguida el tratado en noviembre y abril, y finalmente el G5

(testigo) tratado en abril. El mejor efecto extensión e intensidad fue el observado en enero, le siguieron el de febrero, noviembre y abril.

4.2. Experimentos sobre control de la fasciolosis bovina en México

4.2.1. Discusión

4.2.1.1. Parámetros coprológicos

Debido al efecto de los tratamientos fasciolicidas con TBZ, los seis grupos tuvieron un comportamiento diferente en algunos muestreos, en otros fueron iguales. Al inicio del experimento (M1), no hubo diferencia significativa en la eliminación de huevos de *F. hepatica* entre los seis grupos. El comportamiento posterior será discutido de acuerdo con los parámetros coprológicos, inmunológicos y enzimáticos.

El porcentaje de muestras positivas en el G1, tratado en enero (testigo), fue el que tuvo el mayor porcentaje (75 %), le siguieron en orden decreciente el G5 tratado en enero y junio (72 %); luego el G 2 tratado en enero y mayo (62.5 %); a continuación el G3, tratado en enero, mayo y julio (61.5 %); luego el G6, tratado en enero, julio y octubre (53.1 %) y finalmente, el G4, tratado en enero, mayo, agosto y octubre (50.7 %). Se interpreta que en ese orden el G6 fue el que tuvo mejor comportamiento, mientras el primero el peor. Por otra parte se interpreta que todo el año hubo algún grado de reinfección, ya que en ningún muestreo se encontró 0 %, situación que concuerda con lo señalado por Rangel (1995) y Amato *et al.* (1986) quienes notifican en regiones tropicales con clima cálido húmedo que hay transmisión todo el año, aunque varía de intensidad. La elevada prevalencia al inicio del experimento coincide parcialmente con la señalada por Álvarez (1978) en Nautla, Veracruz.

Al comparar la media de **HP5G** de muestras positivas y negativas en todos los muestreos de cada grupo, se aprecia que la más baja fue la del G6 con 4.4; le siguieron en orden ascendente el G4 con 5.5; a continuación el G2 con 7.6; luego el G3 con 8.1; siguió el G5 con 10.0 y finalmente el G1 (testigo) con 10.9. Se interpreta que el G6, tratado en enero, junio y octubre fue el que tuvo mejor comportamiento, debido

al efecto fasciolicida de los tratamientos en enero, junio y octubre. La eliminación de huevos se redujo a menos de la mitad comparado con el grupo testigo. Los demás grupos permanecieron en grados medios y bajos del control. El comportamiento sugiere que hubo reinfección durante todo el año, situación que concuerda con Rangel (1995) y Amato *et al.* (1986) quienes notifican que hay transmisión todo el año, pero varía de intensidad. También ocurre durante el periodo de sequía (Chavarría, 1942). La mayor eliminación de huevos fue durante el periodo de lluvia, de julio a octubre, situación que concuerda con el mayor decomiso de hígados señalado por Encinas *et al.* (1989). Los incrementos en la eliminación de huevos de noviembre, diciembre y enero en el grupo testigo se interpretan como reinfecciones en septiembre y octubre, debido a la transmisión de la temporada de lluvia como lo mencionan algunos autores (Boray, 1969; Boray, 1982a; Rangel, 1995).

El porcentaje de reducción de tasa contra el testigo Ropic *et al.* (1988) permite conocer en que porcentaje mejoró el grupo que eliminó menor cantidad de huevos en relación con el testigo. En orden descendente el G6 fue el que tuvo el mejor comportamiento (59 %), le siguió el G4 (49.6 %); luego el G2 (30.2 %); a continuación el G3 (25.8 %); siguió el G5 (8.1 %) y finalmente el G1 (testigo) considerado de 0 %. Esta situación sugiere que no necesariamente cuatro tratamientos reducen en mayor grado la eliminación de huevos que tres, como lo indica la diferencia entre el G6 y el G4. Por otra parte, se ve como el comportamiento de tres tratamientos aplicados en diferentes meses (G3 y G6) dan resultados diferentes, haciendo resaltar la importancia del tratamiento estratégico, en este caso el del G6. También cuando se compara el comportamiento del G2 con el G4 vemos el beneficio de aplicar el tratamiento en enero y mayo en el G2.

El efecto extensión y el efecto intensidad del TBZ administrado en los diferentes grupos y en distintas fechas tuvo un comportamiento cuya eficacia en enero y octubre no concuerda con la señalada por Stanfield *et al.* (1987) y Martignoni *et al.* (1995) quienes señalan eficacia del 100 %; sin embargo, coinciden parcialmente con las

anotadas por Richards *et al.* (1985) y Lecuyer *et al.* (1985). Dichos efectos, en mayo, junio y julio fueron de grado medio y bajo. Se interpreta que en esos meses hubo alta transmisión y, por lo tanto, elevada cantidad de estadios inmaduros que no fueron afectados en un porcentaje alto como lo señala Richards *et al.* (1985) o también es posible considerar algún grado de resistencia al fasciolicida (Boray, 1990; Overed y Bowen, 1995) en otros casos es posible considerar la variación biológica en la eliminación de huevos del parásito. Por otra parte, al interpretar los niveles medios de HPG se observa que de acuerdo con Malone y Zukowki (1992) tienen impacto económico de tipo medio y alto.

4.2.1.2. Niveles de anticuerpos anti- *F. hepatica*

La media de los niveles de anticuerpos del primer muestreo confirmaron la ventaja de este medio de diagnóstico y correlaciona con la eliminación de huevos en heces de acuerdo con Boulard *et al.* (1985) no obstante, en los siguientes muestreos, aunque dicha media se mantuvo con valores positivos, no correlacionó con los eventos quimioterapéuticos como lo señalan Hillyer *et al.* (1979), Pfister *et al.* (1986) y Pourquier *et al.* (1996), debido al efecto de las reinfecciones durante todo el año (Rangel, 1995; Amato *et al.*, 1986). Por otra parte, en ausencia de reinfección los mencionados valores si reflejan el evento quimioterapéutico a mediano y largo plazo. También hay que señalar la alta variabilidad de los niveles de anticuerpos que se manifestaron en el porcentaje de muestras positivas, lo cual concuerda con lo señalado por Welch *et al.* (1987). Estadísticamente hubo diferencias entre los muestreos; sin embargo, la media se mantuvo dentro de los valores positivos.

4.2.1.3. Valores enzimáticos

Los niveles de la enzima AST no rebasaron a los señalados como normales, lo que sugiere que la carga parasitaria no fue muy alta. Se interpreta, por una parte, que la carga parasitaria posiblemente no era muy alta debido al efecto de los tratamientos. Estos resultados coinciden con lo mencionado por Bulgin y Anderson (1984), quienes notifican que los niveles bajos de AST no ayudan al diagnóstico de bajo grado de fasciolosis. Asimismo, Simensen *et al.* (1973) opinan que los tratamientos quimioterapéuticos con bajo grado de parasitismo no alteran los niveles de la enzima.

En porcentaje de muestras positivas de GGT varió de grado medio a alto, sin embargo, la media en todos los muestreos fue positiva, de acuerdo con Rowlands y Clampitt (1979), no obstante, hubo incrementos significativos en algunos grupos durante el periodo de lluvia. Se interpreta que en ese periodo las reinfecciones fueron más elevadas, y causaron mayor daño en las células del parénquima hepático como lo señalan Wyckof y Bradley (1985). Esta observación sugiere que hubo transmisión con mayor intensidad en los meses de junio a noviembre, temporada de mayor precipitación pluvial, situación que coincide parcialmente con lo señalado por Rangel (1995).

4.2.1.4. Conclusiones

El modelo con tratamiento en enero, junio y octubre aplicado al el G6, fue el que tuvo el mejor comportamiento; en orden descendente le siguieron el G4, con tratamiento en enero, mayo, agosto y octubre; a continuación el G2, tratado en enero y mayo; luego el G3, desparasitado en enero, mayo y julio; enseguida el G5, tratado en enero y junio; y finalmente el G1 (testigo), desparasitado en enero. El efecto extensión y el de intensidad, fue significativamente mejor por los tratamientos de enero y octubre, que los aplicados en mayo, junio, julio y agosto.

Los niveles de anticuerpos anti-*F. hepatica* al inicio del experimento fueron positivos y correlacionaron con la eliminación de huevos del trematodo; posteriormente no mostraron correlación con la eliminación de huevos, debido a los tratamientos terapéuticos y las reinfecciones durante todo el año.

En todos los muestreos los niveles de AST no rebasaron los normales, sin embargo, los valores de GGT en la mayoría de los muestreos tuvieron valores arriba de lo normal con un significativo incremento durante el periodo considerado de mayor transmisión.

Capítulo 5.- Referencias

- Alcaino, H., Vega, F. y Gorman, T., 1993. Epidemiología de la fasciolosis hepática en la VII región Chile. *Parasitol. al Día*, 17: 99-106.
- Alunda, J.M. and Manga-González, M.Y., 1982. Susceptibility of some species of the genus *Helicella*, Ferussac, 1821 (Gastropoda, Helicidae) to the infection by *Dicrocoelium dendriticum* (Trematoda). *Malacologia*, 22: 51-54.
- Alunda, J.M. and Rojo-Vázquez, F.A., 1983a. Effect of infection rate and host age on the intramolluscan development of *Dicrocoelium dendriticum*. *Helmintologia*, 20: 251-258.
- Alunda, J.M. and Rojo-Vázquez, F.A., 1983b. Survival and infectivity of *Dicrocoelium dendriticum* eggs under field conditions in NW Spain. *Vet. Parasitol.*, 13: 245-249.
- Alunda, J.M. and Rojo-Vázquez, F.A., 1984. Some new molluscan hosts of *Dicrocoelium dendriticum* in Spain. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparee*, 59: 57-62.
- Álvarez, L.F. Prevalencia de fasciolosis en el municipio de Nautla, Veracruz. (tesis de licenciatura). México, D.F. México: *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Univ. Veracruzana*, 1978.
- Alziev, J.P. et Ducos de Lahitte, J., 1991. La dicroceliose chez les bovins. *Bulletin des G.T.V.*, 6: 135-146.
- Amato, S.B., Rezende De, H.E.B., Gómes, D.C. and Freire, N.M.S.Da., 1986. Epidemiology of *Fasciola hepatica* infection in the Paraíba river valley, Sao Paulo, Brasil. *Vet. Parasitol.*, 22: 275-284.
- Ambrosi, M. & Principato, M., 1981. Dicroceliosi ovina: variazioni stagionali della positività coproscopica in animali spontaneamente parassitati. *Obiettivi e Documenti Veterinari*, 10: 55-56.
- Ambrosi, M., Morettini, B., Ranucci, S. & Tesei, B. 1986. Efficacia della somministrazione orale di tiofanato (1-bis(3-etossicarbonil-2-tioureido)benzene) per la terapia dell'infestazione da *Dicrocoelium dendriticum* negli ovini. *Riv. Zoot. Vet.*, 14: 25-31.
- Ambrosi, M., 1989. Efficacia del tiofanato a dose normale contro *Dicrocoelium dendriticum*. *Il nuovo Progresso Veterinario*, 15-16: 1-7.
- Ambrosi, M. & Grelloni, V., 1991. Prove di campo sull'uso del mebendazole nel poliparassitismo ovino. *Obiettivi e Documenti Veterinari*, 12: 89-91.

- Ambrosi, M., Grelloni, V. & Botta, G., 1995. Efficacia dei trattamenti sistematici strategici contro la dicroceliosi ovini. *Obiettivi e Documenti Veterinari*, 16: 69-71.
- Anderson, P.H., Berret, S., Brush, P.J., Herbert, C.N., Parfitt, J.W. and Patterson, D.S.P., 1977. Biochemical indicators of liver injury in calves with experimental fascioliasis. *Vet. Rec.*, 100: 43-45.
- Aragón, M.J.I. Incidencia de *Fasciola hepatica* en el ejido de Chalchijapan, estado de Veracruz. (tesis de licenciatura). México, D.F. México: *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. UNAM, 1975.
- Badie, A., 1975. Cycle annuel d'activité des formis parasitées par les métacercaires de *Dicrocoelium lanceolatum* (Rudolphi, 1819). *Annales de la Recherche Vétérinaire*, 6: 259-269.
- Badie, A., 1977. Contribution à l'étude du cycle biologique de *Cionella lubrica* Müller, hôte intermédiaire de *Dicrocoelium lanceolatum* (Rudolphi, 1803) en Limousin. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparee*, 52: 141-150.
- Badie, A., 1978. La dicroceliose ovine: Incidence des facteurs climatiques et contributions à la mise au point d'une méthode de prévision. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparee*, 53: 373-385.
- Ballesteros, R.G., Guerrero, M.C., Vega, A.N. y Quiroz, R.H. Valoración del control de *Fasciola hepatica* en vacas tratadas con triclabendazol. Memorias del XIX Congreso Nacional de Buiatría, 1995 agosto 24-26; Torreón (Coahuila) México. México (DF). *Asociación Mexicana de Medicos Veterinarios Especialistas en Bovinos*, AC., 1995: 150.
- Bautista-Garfias, C.R., López, A.M.E., and Sánchez, A.A. 1989. A new method for serodiagnosis of sheep fascioliasis using helminth excretory-secretory products. *Parasitol. Res.*, 76: 135-137.
- Benedek, L. & Nemeseri, L. 1953. Die mikroskopische Diagnose der Leberegelseuche. *Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae*, 3: 415-422.
- Benjamin, M.M., 1984. Manual de Patología clínica en Veterinaria. México: Ed. *Limusa*, pp. 269-271.
- Blackshaw, C., 1978. Serum gammaglutamyl transferase in diagnosis of liver disease in cattle. *New Zealand Veterinary Journal*, 26: 25-26.

- Bocharova, M.M., 1984. Zonal distribution of foci of *Dicrocoelium dendriticum* on the northern slopes of the Central Caucasus and the eastern pre-Caucasus region (USSR) Mater. Nauchn. Konf. Vses. Obsh. *Gel'mintov.*, 34: 97-105.
- Bonilla, C.A.V. Contribución al estudio de *Fasciola* spp. su frecuencia e importancia en el ganado bovino del municipio de Tuxpan Veracruz. (tesis de licenciatura). México, D.F. México: *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. UNAM, 1974.
- Boray, J.C., Happich, F.A. and Andrews, J.C., 1969. The epidemiology of fasciolosis in two representative endemic regions of Australia. *Aust. Vet. J.*, 45: 459-553.
- Boray, C.J., 1969. Experimental Fascioliasis in Australia. *Adv. Parasitol.*, 7: 95-210.
- Boray, J.C., 1982a. Fascioliasis. In CRC. Handbook Series in Zoonoses. Section C: Parasitic Zoonoses. vol. III. Ed. Hillyer, V.G., Hopla, C.E. Boca Raton, Florida, USA.
- Boray, J.C., 1982b. Chemoterapy of fasciolosis. *New South Wales Veterinary Proceeding*, 18: 42-47. *Ciba Geigy Research Centre*, Kemp's Creek, New South Wales, Australia (1982).
- Boray, J.C., Crowfoot, P.D., Strong, B.M., Allison, J.R., Schellenbaum, M., Von Orelli, M. and Sarasin, G., 1983. Treatment of immature and mature *Fasciola hepatica* infections in sheep with triclabendazole. *Vet. Rec.*, 113: 315-317.
- Boray, J.C., Jackson, R., and Strong, M.B., 1985. Chemoprophylaxis of fascioliasis with triclabendazole. *New Zealand Veterinary Journal*, 33:182-185.
- Boray, C.J., 1985. Flukes of Domestic Animals. In: Gaafar, S.M., Howard, W.E. and Marsh, R.E.(eds), *Parasites, Pest and Predators*. (World Animal Science. B2) Disciplinary Approach. *Elsevier Science Publisher B.V. Amsterdam*, pp. 179-218.
- Boray, J.C., 1990. Drug resistance in *Fasciola hepatica*. In *Resistance of Parasites to Antiparasitic Drugs*. Eds.: J.C. Boray, P.J. Martin and R.T. Roush. pp. 51-60. MSD AGVET, Rahway, New Jersey, USA.
- Boulard, C., Bouvry, M., et Argente, G., 1985. Comparaison de la détection des foyers de fasciolose par test ELISA sur lactosérum et sérum et par coproscopie. *Annales de la Recherche Vétérinaire*, 16: 363-368.
- Boyce, W.M. and Courtney, C.H., 1990. Seasonal transmission of *Fasciola hepatica* in north central Florida. *Int. J. Parasitol.*, 20: 695-696.
- Brito, C.J., Bustos, B.M., Trejo, C.L. y Fragoso, S.H. Susceptibilidad y especificidad huésped-parásito de *Fasciola hepatica* y *Calicophoron calicophorum* en caracoles

- Lymnaea* de México. Memorias del II Congreso Nacional de Parasitología Veterinaria; 1992 abril 2-4; Veracruz (Veracruz), México. México, (DF): *Asociación Mexicana de Parasitología Veterinaria*, AC, 1992: 23.
- Brugère-Picoux, J., Tafani, J.P., Chirol, C. et Morant, M., 1986. Efficacité du thiophanate sur *Dicrocoelium lanceolatum* chez le mouton. *Rec. Méd. Vét.*, 162: 973-978.
- Bulgin, M.S. and Anderson, B.C., 1984. Serum gamma glutamyl transpeptidase activity in cattle with induced fascioliasis. *Research in Veterinary Science*, 37: 167-171.
- Bundy, D.A.P., Arambulo, P.V. and Grey, C.L., 1983. Fascioliasis in Jamaica: Epidemiologic and economic aspects of snail-borne parasitic zoonoses. *PAHO. Bull.*, 17: 243-258.
- Burden, D.J. and Hammet, N.C., 1978. Microplate enzyme linked immunosorbent assay for antibody to *Fasciola hepatica* in cattle. *Vet. Rec.*, 103: 158.
- Buriro, S.N. and Chaudhry, A.H., 1982. Effect of temperature and humidity on survival of cercariae (*Fasciola* sp). *Pakistan Vet. J.*, 2: 117-118.
- Buscher, G., Bowen, F.L., Strong, B.M., Allison, J.R. and Richards, R.J., 1987. Extension of the prepatent period of *Fasciola hepatica* in infected animals following treatment with triclabendazole. *Vet. Rec.*, 120: 460-461.
- Cabanas, E., Manga-González, M.Y. and González-Lanza, M.C. Eliminación mensual de huevos de *Dicrocoelium dendriticum* (Trematoda) por ovinos marcados de los montes Cántabro-Leoneses. Actas de VI Congreso Nacional y 1º Ibérico de Parasitología. Cáceres, España, 25-29 de septiembre 1989. *Sociedad de Parasitólogos Españoles*, Cáceres, España, 1989: 126.
- Cabanas, E. M., Manga-González, M.Y. and González- Lanza, M.C. Dynamics of the natural infection of land molluscans by trematode Dicrocoeliidae in the León mountain (NW Spain). VII Congrès International de Parasitologie, Paris, 1990, *Société Française de Parasitologie*, Paris, 1990: 1170
- Cabanas, E. Estudio del ciclo biológico de *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899, en condiciones naturales. (tesis doctoral en Biología), Facultad de Biología, *Universidad de León*, España. 1995.
- Calamel M., 1976. La dicrocелиose ovine et caprine dans le Sud-Est de la France. *Rev. Méd. Vét.*, 127: 1529-1536.

- Calamel, M. & Giauffret, A., 1976. Interprétation des resultats dans le diagnostic coproscopique de la dicrocoeliose. *Recueil de Medecine Vétérinaire*, 152: 99-104.
- Campo, R., Manga-González, M.Y., and González-Lanza, C. Study of hepatic markerenzymes and other biochemical and haematic parameters in experimental ovine dicroceliosis. 8th International Congress of Parasitology, Izmir (Turkish), 1994 October 10-14. *Turkish Society for Parasitology*, 1994: 191.
- Campo, R., Manga-González, M.Y., González-Lanza, C. y Diéz-Baños, N. Parámetros hemáticos, eliminación de huevos y carga parasitaria de corderos infectados con 3000 metacercarias de *Dicrocoelium dendriticum*. Memorias del IV Congreso Ibérico de Parasitología, 1995, Santiago de Compostela, *Asociación de Parasitólogos Españoles, Granada, España*, 1995: 190.
- Campo, R. Estudios experimentales sobre la dicroceliosis. (tesis doctoral en Veterinaria), *Universidad de León, España*, 1996.
- Campo, R., Manga-González, M.Y. and González-Lanza, C., 2000. Relationship between egg output and parasitic burden in lambs experimentally infected with different doses of *Dicrocoelium dendriticum* (Digenea). *Vet. Parasitol.*, 87:139-149.
- Castellanos, H. A.A., Escutia S. I. y Quiroz, R.H., 1992. Frecuencia de fasciolosis hepática en bovinos sacrificados en las plantas Tipo Inspección Federal en México de los años 1979-1987. *Vet. Méx.*, 23: 339-342.
- Castro, J., Dumenigo, B. y Espino, A., 1994. Detección de coproantígenos para evaluar infección activa por *Fasciola hepatica* en ganado bovino. *Parasitol. al Día*, 18: 33-38.
- Cavani, C., Losi, G., Manfredini, M., Pavoncelli, R.M., Pietrobelli, M. & Restani, R., 1982. Ricerche sull'influenza della dicroceliase sulle caratteristiche quatitative e qualitative della produzione di latte in pecore. *Obiettivi e Documenti Veterinari*, 3: 59-63.
- Cerrud, S.N.I., y Quiroz, R.H., 1995. Valoración de huevos de *Fasciola hepatica* en heces de ovinos tratados con closantel y nitroxinil. *Vet. Méx.*, 26:151-153.
- Chavarría, Ch. M., 1942. El gusano del hígado. Folleto de divulgación n° 1. *Instituto Pecuario. Secretaria de Agricultura y Fomento. México*, 1-6.
- Chiriboga, J., León De, D. and Rodríguez, F.J., 1980. Epidemiology of *Fasciola hepatica* infestation in dairy cattle at Dorado Puerto Rico. *J. Agric. Univ. Puerto Rico*, 64: 93-106.

- Chroustová, E. and Willomitzer J., 1974. Control of *Fasciola hepatica* infection in cattle by mean of complex methods involving molluscicide treatment of *Lymnaea truncatula* biotopes. *Acta Vet. Brno*, 43: 397-410.
- Corba, J., Hovorka, J., Spaldonova. R., Stoffa, P., Legény, J. and Andrasko, H., 1987. Efficacy of luxabendazole (Hoe 216 V) sup. 5 % in sheep naturally infected with the most important helminths. *Helminthologia*, 24: 227-235.
- Corba, J.A., Krupicer, I., Legeny, J., Stoffa, P. and Andrasko, H., 1988. Aldifal (Albendazole) a new broad-spectrum anthelmintic for ruminants. *Veterinarstvi*, 38: 121-122.
- Corba, J and Krupicer, I., 1992. Efficacy of intraruminal albendazole boluses against *Dicrocoelium dendriticum* in sheep. *Parasitol. Res.*, 78: 640-642.
- Corba, J.A., Krupicer, L., Petko, B. and Várady, M., 1993. Efficacy of netobimin against liver flukes, gastrointestinal and lungworms in naturally infected sheep. *Helminthologia*, 30: 57-61.
- Cordero del Campillo, M., Rojo-Vázquez, F.A., Díez-Baños, P. et Chaton-Schaffner, M., 1982. Efficacité de l'albendazole contre une infestation naturelle à *Dicrocoelium dendriticum* chez le mouton. *Rev. Méd. Vét.*, 133: 41-49.
- Cordero del Campillo, M., Castañón-Ordóñez, L. y Reguera-Feo, A., 1994. Índice-Catálogo de Zooparásitos Ibéricos, *Secretariado de Publicaciones de la Universidad de León*, España.
- Cornelius, C.E., Bishop. J., Witzer J. and Rhode E.A., 1959. Serum and tissue transaminase activities in domestic animals. *Cornell Vet. J.*, 49:116-126.
- Cornelius, C.E., Douglas, G.M., Gronwall, R.R. and Freeland, R.A., 1963. Comparative studies on plasma arginasa and transaminases in hepatic necrosis. *Cornell Vet. J.*, 53: 181-191.
- Craig, T.M. and Huey, R.L., 1984. Efficacy of triclabendazole against *Fasciola hepatica* and *Fascioloides magna* in naturally infected calves. *Am. J. Vet. Res.*, 45: 1644-1645.
- Cruz-Reyes, A., 1986. Ciclo evolutivo. En: Fasciolosis. Volumen Conmemorativo del Centenario del Descubrimiento del Ciclo de *Fasciola hepatica*, Thomas y Leuckart 1883. *INIFAP*. 91-114.
- Cruz-Reyes, A. and Malek, E.A., 1987. Suitability of six Lymnaeid snails for infection with *Fasciola hepatica*. *Vet. Parasitol.*, 24: 203-210.

- Cruz-Reyes, A. Variación morfológica y prevalencia de *Fasciola hepatica* en bovinos de los rastros de Tlapacoyan y Martínez de la Torre, Veracruz. Memorias X Congreso Nacional de Parasitología. Cuernavaca (Morelos); 1992 octubre 15-17; *Sociedad Mexicana de Parasitología*, México, D.F. 1992: 124.
- Cruz, C.H., Quiroz, R.H., Guerrero, M.C., Ibarra, V.F., y Ochoa G.P., 1999. Cinética de excreción de huevos y títulos de anticuerpos a *Fasciola hepatica* en ganado bovino tratado con triclabendazol en clima cálido húmedo en México. *Vet. Méx.*, 30: 273-279.
- Danek, J., Babicek, B., Routa, V., Strosova, Z., Kmostak, S., Spaldonova, R., Corba, J. and Stoffa, P., 1986. Coryphanin suspension a preparation of diamphenetide against fascioliasis and dicroceliasis in sheep and goats. *Biologizace a Chemizace Vyroby-Veterinaria*, 22:147-155.
- Daniel, W.W., 1984. Bioestadística, base para el análisis de las ciencias de la salud, 1ª ed. *Limusa*, México, D.F. 383-387.
- Dargie, D.J. Fascioliasis: Pathophysiology. Helminth Diseases of cattle sheep and horses in Europe. 1973. Proceeding of the Workshop Held at Veterinary School of University of Glasgow. 1973. Edited by G.M. Urquhard and J. Armour in *University of Glasgow U.K.* 1973: 81-113.
- Dargie, D.J. Trematode infections in sheep and cattle: Effects on productivity and metabolism. In: The economic impact of parasitism in cattle. edited by Leaning, D.H.W. and Guerrero J.: Proceeding of the MSD AGVET Symposium. 1987 august 19; In association with the XXIII World Veterinary Congress Montreal, Quebec, Canada. 1987: 35-43.
- Davis, P.R. Toward an epidemiological model of fascioliasis. Fourth International Congress of Parasitology 1978, Warszawa. Poland, edited by W. Slusarki, *Institute of Parasitology, Warszawa, Polonia*, 1978: 79-80
- Del Río, J., 1967. Epizootiología de la dicroceliosis en la provincia de León. *Anales de la Facultad de Veterinaria de León*, 13: 211-253.
- Dement'ev, I.S., Serikbaeva, B.K. and Karabaev, D.K., 1978. The effect of vitamin C and cobalt chloride on the pathological process in dicroceliasis in sheep. *Voprosy veterinamoi parazitologii v Kazakhstane*, 17: 79-81.
- Dhar, D.N. and Singh, K.S., 1963. Pathology of liver dicroceliasis. *Indian J. Vet. Sci. Anim. Husban.*, 33: 200-210.

- Duchateau, B.A. Contribución al conocimiento de la incidencia de *Fasciola hepatica* en el municipio de Martínez de la Torre Veracruz. (tesis de licenciatura). *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. UNAM, 1974.
- Echevarría, M.A.F., Corréa, M.B.C., Wehrle, D.R. and Corréa, F.I., 1992. Experiments on anthelmintic control of *Fasciola hepatica* in Brazil. *Vet. Parasitol.*, 43: 211-222.
- Eckert, J., Schneiter, G. und Wolf, K., 1984. Fasinex (triclabendazol) ein neues Faszioleizid. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*, 97: 349-356.
- Eckert, J. and Hertzberg, H. 1994. Parasite control in trashumant situation. *Vet. Parasitol.*, 54: 103-125.
- El-Bahi, M.M., Malone, J.B., Todd, W.J. and Schnorr, K.L., 1992. Detection of stable diagnostic antigen from bile and feces of *Fasciola hepatica* infected cattle. *Vet. Parasitol.*, 45: 154-157.
- Encinas, G.R., Quiroz R.H., Guerrero, M.C. y Ochoa, G.P., 1989. Frecuencia de fasciolosis hepática e impacto económico en bovinos sacrificados en Ferrería, México, D.F., *Vet. Méx.*, 20: 423-426.
- Espino, M.A., Marcet, R., and Finlay, C.M., 1990. Detection of circulating excretory secretory antigens in human fascioliasis by sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.*, 28: 2637-2640.
- Faría, S.L.S., Quiroz, R.H., Ibarra, V.F., Sánchez, S.M.R. y Salcedo, E.R., 1996. Tiempo de normalización de los niveles de gamma-glutamyl transpeptidasa en ovinos con fasciolosis experimental tratados con triclabendazol. *Vet. Méx.*, 27: 235-239.
- Farrell, C.J., Shen, D.T., Wescott, R.B. and Lang, B.Z., 1981. An enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of *Fasciola hepatica* infection in cattle. *Amer. J. Vet. Res.*, 42: 237-240.
- Fawcett, A.R., 1990. A Study of a restricted programme of strategic dosing against *Fasciola hepatica* with triclabendazole. *Vet. Rec.*, 127: 492-493.
- Fernández, M., Bautista, G.R.C. e Ibarra, F., 1995. Evaluación de la prueba de DIG-ELISA para la detección de anticuerpos anti-*Fasciola hepatica* en ganado bovino. *Parasitol. al Día*, 19: 4-8.
- Ferre, I., Ortega-Mora, L.M. and Rojo-Vázquez, F.A., 1994. Prevalence of *Dicrocoelium dendriticum* infection in sheep in Leon province (NW) Spain). *Prev. Vet. Med.*, 21: 147-154.

- Ferreras, M.C., García-Iglesias, M.J., Manga-González, M.Y., Pérez, C., Campo, R., González-Lanza, C., Escudero, A. y García-Marín, J.F., 1997. Lesiones hepáticas en corderos infectados experimentalmente con *Dicrocoelium dendriticum*. *Acta Parasitologica Portuguesa* 4: 86.
- Ferreras, M.C., Manga González, M.Y., Pérez, C., García-Iglesias, M.J., Campo, R., González-Lanza, C., Escudero, A. and García-Marín, J.F. 2000. Local immune response to experimental ovine dicrocoeliosis. *Acta Parasitologica*, 45: 198.
- Furmaga, S., Gundlach, J.L. and Sobieszewski, K., 1980. Changes in aspartate amino transferase, fructosediphosphate, aldolase, cholinesterase, glucose and total bilirubin levels in experimental fasciolosis in cattle. *Acta Parasitologica Polonica*, 27: 231-239.
- García, C. F. Pérdidas económicas por el decomiso de hígados parasitados con *Fasciola hepatica* en bovinos procedentes del estado de Veracruz, sacrificados en el rastro "La Paz" Edo. de México. (tesis de licenciatura). México, D.F., México. *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. UNAM, 1975.
- García, E., 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana) 4a edición. *Instituto de Geografía*, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., pp.192.
- García-Pérez, A.L. y Juste-Jordán, R.A., 1987a. Helmintos parásitos de la oveja en el País Vasco. *Rev. Ibér. de Parasitol.*, Vol. Ext., 105-113.
- García-Pérez, A.L. y Juste-Jordán, R.A., 1987b. Observaciones sobre la prevalencia de los helmintos parásitos del ganado vacuno en la C.A.V. ITEA.7: 162-165.
- Goldberg and Martin, 1975 (citado por Bulgin, M.S. and Anderson, B.C. 1984).
- Gómez-Agudelo, T., Pérez-Reyes, R. y Zenón-Bravo, F., 1978. Fasciolosis en México. Estado actual y huéspedes intermediarios. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 20: 121-127.
- Gómez, F.F. Valoración de la intradermorreacción en el diagnóstico de la fasciolosis bovina. (tesis de licenciatura). México, D.F., *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. UNAM, 1970.
- Gómez, B.J., Manga-González, M.Y., Angulo, E. y González-Lanza, C., 1996. Alteraciones histológicas producidas por *Dicrocoelium dendriticum* (Trematoda) en dos especies de *Cermea* (Mollusca) sacrificadas a los tres meses post-infección. *Iberus*, 14: 189-195.

- González, R.C., Flores, C.R. y Quiroz, R.A. Importancia del número de exámenes en el diagnóstico de la fasciolosis en bovinos. Memorias de la 3a Reunión Anual de Parasitología Veterinaria; 1982 marzo 25-26 México, D.F. *Asociación Mexicana de Parasitología Veterinaria*, 1982: 18.
- González, H.A.H. Evaluación de las pérdidas económicas ocasionadas por el decomiso total o parcial de hígados de bovino parasitados por *Fasciola hepatica* en el rastro de Ferrería. (tesis de licenciatura). México, D.F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1969.
- González-Lanza, C. Manga-González, M.Y., Del Pozo-Carnero, P. and Hidalgo-Argüello, R., 1989. Dynamics of elimination of the eggs of *Fasciola hepatica* (Trematoda, Digenea) in the faeces of cattle in the Porma Basin, Spain. *Vet. Parasitol.*, 34: 35-43.
- González-Lanza, C., Manga-González, M.Y. and Del Pozo-Carnero, P., 1993. Coprological study of the *Dicrocoelium dendriticum* (Digenea) egg elimination by cattle in highland in Leon province (NW Spain). *Parasitol. Res.*, 79: 488-491.
- González-Lanza, C., Manga-González, M.Y., Campo, R. and Del Pozo-Carnero, P., 1997. Larval development of *Dicrocoelium dendriticum* in *Cernuella (Xeromagna) caspitem arizonis* under controlled laboratory conditions. *J. Helminthol.*, 71:311-317.
- González-Lanza, C., Manga-González, M.Y., Campo, R., Del-Pozo, P., Sandoval, H., Oleaga, A. and Ramajo, V., 2000. IgG antibody response to ES or somatic antigens of *Dicrocoelium dendriticum* (Trematoda) in experimentally infected sheep evaluated by ELISA. *Parasitol. Res.*, 86: 472-479.
- Goodall, E.A., McIlroy, S.G., Stewart, D.A. and McCracken, R.M. A autoregressive multivariate model for fasciolosis. *Proceeding, Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine*. Roslin, Midlothian, 1989. *Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine*, Belfast, Ireland, 1989:1-12.
- Goodall, E.A., McIlroy, S.G., McCracken, R.M., McLoughlin, E.M. and Taylor, S.M., 1991. A mathematical forecasting model for the annual prevalence of fasciolosis. *Agric. Syst.*, 36: 231-240.
- Grellck, H. and Höechner, F., 1977. Comparative studies on the serodiagnosis of bovine fascioliasis with the indirect immunofluorescence test and the immunoperoxidase test (ELISA). *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*, 90: 332-335.
- Greenberg, R.S., Daniels R.S., Flanders D.W., Eley W.J. y Boring, R.J. 1998. Epidemiología Médica. 2ª edición, México: *El Manual Moderno*, pp. 122-123.

- Gurikhina, M.G. and Gorokov, V.V., 1991. Demonstration of factors affecting the development of the epidemiological process in fascioliasis by means of a mathematical model. *Vestnik Sel Skokhozyaistvennoi Nauki Moskva*, 4: 87-93
- Happich, F.A. and Boray, C.J., 1969. Quantitative diagnosis of chronic fasciolosis. 2. The estimation on daily total egg production of *Fasciola hepatica* and the number of adult flukes in sheep by faecal egg counts. *Aust. Vet. J.*, 45: 329-331.
- Harris, R.E. and Charleston, W.A.G., 1980. Fascioliasis in New Zealand. A Review. *Vet. Parasitol.*, 7: 39-49.
- Herrera, R.D. y Quiroz, R.H., 1971. Comparación de la prueba intradérmica y el examen coproparasitológico en el diagnóstico de la fasciolosis bovina. *Tec. Pecu. Méx.*, 19:64.
- Hillyer, V.G. and Santiago de W.N., 1979. Use of immunologic techniques to detect chemotherapeutic success in infections with *Fasciola hepatica*. II The enzyme-linked immunosorbent assay in infected rats and rabbits. *J. Parasitol.*, 65: 960-963.
- Hillyer, V. G., 1980. Isolation of *Fasciola hepatica* teguments antigens. *J. Clin. Microbiol.*, 12: 695-699.
- Hillyer, V.G. and Santiago de, N. de W., 1981. Serodiagnosis of experimental fascioliasis by immunoprecipitation test. *Intern. J. Parasitol.*, 11: 71-78.
- Hillyer V. G., Sánchez, Z. and León de D., 1985. Immunodiagnosis of bovine fascioliasis by enzyme-linked immunosorbent assay and immunoprecipitation methods. *J. Parasitol.*, 71: 449-451.
- Hillyer, V.G., 1993. Serological diagnosis of *Fasciola hepatica*. *Parasitol. al Día*, 17: 130-136.
- Himonas, C.A. and Liakos, V., 1980. Efficacy of albendazole against *Dicrocoelium dendriticum* in sheep. *Vet. Rec.*, 107: 288-289.
- Hohorst, W. und Lämmler, G., 1962. Experimentelle Dicrocoeliose-Studien. *Z. Tropenmed. Parasitol.*, 13: 377-397.
- Ibarra, V.F., Montenegro, C.R., Vera, M.Y., Quiroz, R.H., Bautista G.C.R. and Vázquez, P.C., 1997. DIG-ELISA: estandarización y evaluación serodiagnóstica en fasciolosis bovina experimental y natural. *Vet. Méx.*, 28: 8-11.
- Ibarra, F., Montenegro, N., Vera, Y., Boulard, C., Quiroz, H., Flores, J. y Ochoa, P., 1998. Comparison of three ELISA test for seroepidemiology of bovine fasciolosis. *Vet. Parasitol.*, 77: 229-236.

- Ibarra, V.F. y Vera, M. Y., 1991. Comparación del efecto extensivo de cinco fasciolidas en bovinos en clima cálido. *Vet. Méx.*, 22: 159-163.
- Jithendran, K.P. and Bhat, T.K., 1995. Prevalence of dicrocoeliosis in sheep and goats in Himachal, India. *Vet. Parasitol.*, 61: 265-271.
- Jolivet, G., Lafay, E. et Nicolas, J.A., 1974. Action du diamphénétide sur *Dicrocoelium lanceolatum*. *Bull. Acad. Vét.*, 47: 303-307.
- Jubb, V.F.K., Kennedy, C. P. and Palmer N., 1985. Pathology of Domestic Animals. Third edition. *Academic Press*. New York.
- Kalkan, A., 1970a. *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899 in Turkey. I. Field studies of intermediate and final hosts in the South Marmara region 1968. *Br. Vet. J.*, 127: 67-75.
- Kalkan, A. 1970b. *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899. Un biyolojisi; dicroceliasis' de epizootoloji, tedari ve profilaksi. *Etilik Veteriner Bacteriyoloji. Institü sü Dergisi.*, 97-109.
- Kaplan, R.M., 1994. Liver flukes in cattle: control based on seasonal transmission dynamics. *Compendium on continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 16: 687-693.
- Karanfilovski, G., 1983. Economic losses caused by fascioliasis and dicrocoeliasis to livestock production in Pljevlja and surrounding area. *Veterinaria Yugoslavia*, 32: 253-260.
- Khan, A., Khan, T.M., Basra M.A., Rabbani, A. and Chaudhry, Z.I., 1989. Effect of natural fascioliasis on total serum bilirubin and glutamic oxaloacetic transaminase in sheep. *Pakistan Vet. J.*, 9: 17-19.
- Kassai, T., Takats, C., Fok, E. and Redl, P., 1988. Activity of luxabendazole against liver flukes gastrointestinal roundworm, and lungworm in naturally infected sheep. *Parasitol. Res.*, 75: 14 -18.
- Krull, W. H. and Mapes, C.R., 1952. Studies on the biology of *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899 (Trematoda: Dicrocoeliidae) including its relation to the intermediate host, *Cionella lubrica* (Müller).VII. The second intermediate host of *Dicrocoelium dendriticum*. *Cornell Vet.*, 42: 603-604.
- Krull, W.H. and Mapes, C.R., 1953. Studies on the biology of *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899 (Trematoda: Dicrocoeliidae), including its relation to the

- intermediate host, *Cionella lubrica* (Müller).IX. Notes on the cyst, metacercarie, and infection in the ant, *Formica fusca*. *Cornell Vet.*, 43: 389-410.
- Krull, W.H., 1958. The migratory route of the metacercarie of *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi,1819) Looss, 1819 in the definitive host: Dicrocoeliidae. *Cornell Vet.*, 48: 17-24.
- Lammert, M., Gaasenbeek C.P.H., Vellema, P. and Borgsteede, F.H.M., 2000. Resistance of *Fasciola hepatica* against triclabendazole in cattle and sheep in The Netherlands. *Vet. Parasitol.*, 91: 153-158.
- Lecuyer, B., Bordas, Ch., Marchand, C., Nguyen, H.N. and Sourd, Ch., 1985. Investigation of the fasciolicide activity of triclabendazole in cattle in Nievre, France. *Bull. Soc. Vét. Prat. France*, 69: 507-513.
- Leyva, C. I. Prevalencia de *Fasciola hepatica* en el municipio de Tierra Blanca, Veracruz. (tesis de licenciatura).Veracruz (Veracruz) México: *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. Univ. Veracruzana, 1975.
- Lukin, A.K., 1980. (The prevalence and economic loss due to dicrocoeliasis in ruminants). *Trudy Saratovski Nauchno-Issledovatel'skoi veterinamoj Stantsii*, 14: 76-79.
- Luzón-Peña, M., Manga-González, M.Y. y Ramajo V., 1994. Fasciolosis: Epidemiología. *Ovis* 34: 21-32.
- Luzón-Peña, M. y Manga-González, M.Y., 1995. Dicroceliosis: Etiología y Biología. *Ovis*, 39: 11-22.
- Malek, E.A., 1980. Snail-Transmitted Parasitic Diseases. *CRC. Press, Inc. Florida*, Vol II: pp.324.

- Malone, B.J., Loyacano, A.F., Hugh-Jones, M.E. and Corkum, K.C., 1984. A three-year study on seasonal transmission and control of *Fasciola hepatica* of cattle in Louisiana. *Prev. Vet. Med.*, 3: 131-141.
- Malone, J.B., Williams, T.E., Muller, R.A., Gearghan, J.P. and Loyacano, A.F., 1987. Fascioliasis in cattle in Louisiana: Development of a system to predict disease risk by climate, using the Thornthwaite water budget. *Am. J. Vet. Res.*, 48:1167-1170.
- Malone B.J. and Craig, M.T., 1990. Cattle liver flukes: Risk assessment and control. *The Compendium. Food Animal*, 12: 747-754.
- Malone, J.B., Fehler, D.P., Loyacano, A.F. and Zukowski, S.M., 1992. Use of LANSAT MSS imagery and soil type in a geographic information system to asses site-specific risk of fascioliasis on Red River Basis farms in Louisiana. *Annals New York Academy Science*, 653: 389-397.
- Malone, J.B. and Zukowski, S.H., 1992. Geographic models and control of cattle liver flukes in the Southern USA. *Parasitol. Today*, 8: 266-270.
- Manga-González, M.Y., 1983. Los Helicidae (Gastropoda, Pulmonata) de la Provincia de León. Institución "Fray Bernardino de Sahagún," Excma. Diputación Provincial de León, *Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CECEL)*, León (España).
- Manga-González, M.Y., 1987. Some aspects of the biology and helminthofaune of *Helicella (Helicella) itala* (Linnaeus, 1758) (Mollusca). Natural infection by *Dicrocoeliidae* (Trematoda). *Rev. Ibér. Parasitol., Vol. Extr*: 131-148.
- Manga-González, M.Y., González-Lanza, C., Del Pozo, P. and Hidalgo, P., 1990. Kinetic of *Fasciola hepatica* egg passage in the faeces of sheep in the Porma basin, Spain. *Acta Parasitologica Polonica*, 35:149-157.
- Manga-González, M.Y., González-Lanza, C. and Del Pozo-Carnero, P., 1991a. Dynamics of the elimination of *Dicrocoelium dendriticum* (Trematoda, Digenea) eggs in the faeces of lambs and ewes in the Porma basin León, (NW. Spain) *Annales de Parasitologie Humaine et Comparee*, 66: 57-61.
- Manga-González, Y., González-Lanza, C. y Otero-Merino, B.C., 1991b. Natural infection of *Lymnaea truncatula* by the liver fluke *Fasciola hepatica* in the Porma Basin, León, NW Spain. *J. Helminthol.*, 65: 15-27.
- Manga-González, M.Y. Some land molluscs species involved in the life cycle of *Dicrocoelium dendriticum* (Trematoda) in the wild the province of Leon (NW Spain). In Abstracts of the 11th International Malacological Congress; 1992 Siena, Italy. *International Malacological Society*, 1992: 248-249.
- Manga-González, M.Y., Ferre, I. y Luzón-Peña, M., 1995. Dicrocoeliosis: epidemiología, *Ovis*, 39: 23-33.

- Manga-González, M.Y. Biología de *Dicrocoelium dendriticum* y epidemiología de la dicroceliosis. En: Mejía GP, Hernández OG, Díaz GPR, editores. Enfermedades Helmínticas de Importancia Sanitaria y Económica. México: *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*, UNAM, 1997: 99-113.
- Manga-González, M.Y. y Quiroz R.H. Dicrocoeliosis. En: Cordero del Campillo, M., y Rojo-Vázquez, F., editores. *Parasitología Veterinaria*, 1ª edición. *McGraw-Hill Interamericana*, 1999, pp. 272-282.
- Manga-González, M.Y., González-Lanza, C., Cabanas, E. and Campo, R., 2001. Contribution to and review of dicrocoeliosis, with special reference to the intermediate hosts of *Dicrocoelium dendriticum*. *Parasitology*, 123. S91-5.
- Mapes, C.R., 1951. Studies on the biology of *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899 (Trematoda: Dicrocoeliidae), including its relation to the intermediate host, *Cionella lubrica* (Müller) . I. A study of *Dicrocoelium dendriticum* and dicrocoelium infection. *Cornell Vet.*, 41: 382-384.
- Margolis, L., Esch, W.G., Holmes, C. J., Kuris, M.A. and Shad, A.G., 1982. The use of ecological terms in parasitology (Report of an *ad hoc* committee of the American Society of Parasitologists. *J. Parasitol.*, 68:131-133.
- Martignoni, L., Mage, C. and Reynal, P.H., 1995. Prévention de l'infestation de bovins par *Fasciola hepatica* avec triclabendazol. *Rev. Méd. Vét.*, 146: 413-420.
- Martínez, P.R. Incidencia de *Fasciola hepatica* en el municipio de Tierra Blanca Veracruz. (tesis de licenciatura). México, D.F. México: *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. UNAM, 1972.
- Massoud, J., 1981. Histopathology of liver in Iranian sheep naturally infected with *Dicrocoelium dendriticum*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 75: 293-298.
- Mazzotti, L., Ruíz S. R., y Ramírez, J., 1956. Estudio sobre *Fasciola hepatica* Incidencia en animales sacrificados en varias regiones de México. *Rev. Inst. Salub. Enf. Trop.*, 16: 27-29.
- McCausland, Y., Vandergraff, R. and Nugent, L., 1980. Fascioliasis in dairy cows on irrigated pasture. *Aust. Vet. J.*, 56: 324-326.
- McIlroy, S.G., Goodall, E.A., Stewart, D.A., Taylor, S.M. and McCracken, R.M., 1990. A computerized system for the accurate forecasting of the annual prevalence of fasciolosis. *Prev. Vet. Med.*, 9: 27-35.
- Meana, A. y Gómez-Bautista, M., 1995. Tratamiento, profilaxis y control de la dicroceliosis. *Ovis*, 39: 53-58.

- Meek, A.H. and Morris, R.S., 1979. A epidemiological investigation of ovine fascioliasis *Fasciola hepatica* on both irrigated and non irrigated pastures in northern Victoria. *Aust. Vet. J.*, 55: 365-369.
- Mehlhorn, H., Düwel, y Raether, W., 1993. Manual de Parasitología Veterinaria. *Grass-Iatros*, Barcelona, España, pp.202.
- Misra, S.C., Swain, G., Panda, M.R. and Mahopatra, D., 1987. Efficacy of Fasinex (Ciba-Geigy) against fascioliasis in cattle, buffaloes and goats. *Indian Vet. J.*, 64: 701-704.
- Montenegro, C.M. ELISA indirecta: estandarización como prueba diagnóstica de *Fasciola hepatica* en bovinos. (tesis de licenciatura). Cuernavaca (Morelos) México Univ. Autónoma de Morelos. 1997.
- Morilla, A.C., Gómez, A.A., Bautista, C.G.R. y Morilla, G.A., 1983. Evaluación de un antígeno somático y uno metabólico de *Fasciola hepatica* en diferentes pruebas inmunológicas para el diagnóstico de la fascioliasis en bovinos. *Tec. Pec. Méx.*, 44: 41-51.
- Murray, M. Fascioliasis: Pathology. Helminth Diseases of cattle, sheep and horses in Europe. Proceeding of Workshop Held of Veterinary School of University of Glasgow. 1975. 92-96.
- Núñez, G.M.T., y Quiroz, R.H., 1994. Efecto de tratamientos sistemáticos con nitroxinil en la reducción de huevos de *Fasciola hepatica* en ganado de lidia. *Vet. Méx.*, 25: 341-343.
- Olvera, T. R. Estudio sobre la prevalencia de la fascioliasis bovina en la unidad de riego Joachín, municipio de Tierra Blanca, Veracruz. (tesis de licenciatura). Veracruz (Veracruz) México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Univ. Veracruzana, 1973.
- Ollerenshaw, C.B., 1959. The ecology of the liver fluke (*Fasciola hepatica*). *Vet. Rec.*, 71: 957-963.
- Ollerenshaw, C.B. Some aspects of the epidemiology of fascioliasis in Britain. *Proc. Malacol. Soc. London*. 1970, Britain Malacological Society, London, 1970: 239-249.
- Onar, E., Okok, U., Adalar, S. and Gunay, M., 1985. Trial of diamfenetide against *Dicrocoelium dendriticum* in naturally infected sheep. *Pendik Veteriner Mikrobiyoloji*, 17:11-16.
- Onar, E. 1990. Efficacy of thiophanate and albendazole against natural infections of *Dicrocoelium dendriticum*, *Fasciola hepatica*, and gastrointestinal nematodes and cestodes. *Vet. Parasitol.*, 35: 139:145.

- Osorio, S.J. Pérdidas económicas por decomiso de hígados de bovino parasitados por *Fasciola hepatica* en el rastro municipal de Martínez de la Torre, Veracruz. (tesis de licenciatura). México, D.F. México, *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. UNAM, 1986.
- Over, H.J., 1982. Ecological basis of parasite control: trematodes with special references to fascioliasis. *Vet. Parasitol.*, 11: 85-97.
- Overed, D.J. and Bowen, F.L., 1995. Resistance of *Fasciola hepatica* to triclabendazole. *Aust. Vet. J.*, 72: 275-276.
- Owen, L.I., 1987. A field trial with triclabendazole for the control of fascioliasis. *Aust. Vet. J.*, 64: 47-48.
- Panasyuk, D.I., Kononenko, G.V. and Toropkin, A.A. Quantitative and qualitative losses of productivity due to dicrocoeliasis of animals (cattle and sheep) in The USSR. In: *Problemy parasitologii. Trudy VII Nauchnoi Konferentsii Parazitologov USSR*, part II. Izdatel' Naukova, Dunka Kiev, 1972:113-114.
- Paraschivescu, D., 1976. (Dynamics of tetany in ants in some pastures infected with *Dicrocoelium* in Romania). *Studiisi Comunicari, Muzeul de Stiintele Naturii Bacau*, 9: 65-77.
- Petrov, Yu. F., and Abalikhin, B.G., 1983. (Biochemical indicators and the microflora of the bile and intestinal contents in sheep with dicroceliosis). *Veterinariya, Moscow, USSR*, 3: 45-47.
- Piekarski, G., 1959. Tratado de Parasitología. Ed. *Aguilar*, Madrid, pp. 259-267.
- Pfister, K, Keller, C, and Balsiger, B. Early diagnosis of bovine *Fasciola hepatica* infection using an ELISA-system. In: proceeding of the 14 Worlth Congress on Diseases of cattle. Dublin 26-29 august 1986, Volumens 1-2, Hartigan J.P. Monaghan M.L. Dublin, Ireland. World Association for Buiatrics, 1986:119-124.
- Pourquier, P., Caquineau, L., Galaup, M., Glevarec, M., Moal, Y., Martain, L., Salingardes, F., Turmel, R. und LeMoal, Y., 1996. Serologische kontrolle des chemoterapeutischen Erfolges bei boviner Fasciolose Mittels eines ELISAS auf der Grundlage des spezifischen Antigens F2. *Tier ärztliche. Umschau*, 51: 730-733.
- Quiala, R.A. Comparación del estudio coproparasitoscópico con la presencia de *Fasciola hepatica* en el hígado de ganado de abasto en el rastro de Veracruz. (tesis de licenciatura) Veracruz (Veracruz) México: *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Univ. Veracruzana*, 1974.
- Quiroz, R.H., Castell-Blanch, D. y Fernández de C.L., 1972. Efecto de la fasciolosis en la producción láctea en bovinos estabulados. *Vet. Méx.*, 4: 31-33.

- Quiroz, R.H., Herrera, R.D., y Fernández, de C.L., 1973. Valoración de la intradermorreacción en el diagnóstico de la fasciolosis bovina. *Vet. Méx.*, 4: 236-239.
- Quiroz R.H., 1979. Importancia de la fasciolosis subclínica. *Actualidades. Veterinarias*, 2: 18-21.
- Quiroz, R.H., Guerrero, M.C. y Hernández, R.C., Evaluación del albendazol contra *Fasciola hepatica* en bovinos. Memoria 3a Reunión Anual de Parasitología Veterinaria, México, D.F. 1982, *Asociación Mexicana de Parasitología Veterinaria*, México, D.F., 1982: 40.
- Quiroz, R.H., 1984. Parasitología y Enfermedades Parasitarias de Animales Domésticos. *Limusa*, México, D.F., pp. 232-250.
- Quiroz, R.H., 1986. Epidemiología. En: Fasciolosis. Volumen Conmemorativo del Centenario del Descubrimiento del Ciclo de *Fasciola hepatica*, Thomas y Leuckart 1883. Editado por Flores, C.R., Quiroz, R.H., Ibarra, V.F., INIFAP-Sector Pecuário, México, D.F., pp. 335-403
- Quiroz, R.H., Herrera, R.D., Orozco, T.R., García, N.E. y Flores, H.O. R., 1987. Valoración del Netobimín contra *Fasciola hepatica* y paramfistómidos. *Vet. Méx.*, 18: 61-64.
- Quiroz, R. H., Ibarra, V.F. y Montenegro, V.Y., 1988. Eficacia de triclabendazol contra formas inmaduras de *Fasciola hepatica* y la ganancia de peso en bovinos. *Vet. Méx.*, 19: 29-33.
- Quiroz, R.H., 1993. Impacto económico de la fasciolosis en rumiantes domésticos. Compendio de Producción Bovina. División del Sistema de Universidad Abierta. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.*, Universidad Nacional Autónoma de México., México, D.F., 1993:1-3.
- Quiroz, R.H. Impacto económico, epidemiología, control y prevención de *Fasciola hepatica* en la ganadería. Memoria del Curso Precongreso XII Congreso de la Federación Latinoamericana de Parasitología. Santiago de Chile 1995. *Oficina Sanitaria Panamericana Washington*, EUA. 1995.
- Quiroz, R.H., 1997. Epidemiología de *Fasciola hepatica*. En: Mejía G.P., Hernández O.G., Díaz, G.P.R., editores. Enfermedades Helmínticas de Importancia Sanitaria y Económica. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, 1997: 1-23.
- Quiroz, R.H., Ibarra, V.F., Ballesteros, R.G. y Almazán, G.C. Cinética de excreción de huevos de *Fasciola hepatica* en ganado bovino tratado con closantel en clima cálido húmedo. Memoria XIII Congreso Latinoamericano de Parasitología. La Habana, Cuba. 1997. Federación Latinoamericana de Parasitología 1997: 64.

- Quiroz, R.H., 2000. Epidemiología de la fasciolosis: Frecuencia en animales domésticos en México. En: Quiroz R.H., e Ibarra V.F. Coordinadores. Temas selectos de Parasitología, *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM*, 2000, 1: 130-151
- Rangel-Ruiz, L.J., Martínez, D.E. y Durán, E.M., 1994. Pérdidas económicas por decomiso de hígados y distribución geográfica de la fasciolosis bovina en el estado de Tabasco, México. *Vet. Méx.*, 25: 327-333.
- Rangel, R.J.L. Estudio poblacional de la fasciolosis en el estado de Tabasco. (tesis Doctor en Ciencias). Facultad de Ciencias, UNAM, 1995.
- Rapic, D., Dzakula, N., Sadar, D. and Richards, R.J., 1988. Comparative efficacy of triclabendazole, nitroxinil and radoxanide against immature *Fasciola hepatica* in naturally infected cattle. *Vet. Rec.*, 22: 59-62.
- Reddington, J.J., Leid, W.R. and Wescott, R.B., 1984. A review of the antigens of *Fasciola hepatica*. *Vet. Parasitol.*, 14: 209-229.
- Reinà, D., Navarrete, I., Hernández-Rodríguez, S. y Habela, M., 1987. Contribución al conocimiento de la parasitofauna de Cáceres. Primera relación. II Helmintos. *Rev. Ibér. Parasitol.*, vol. Ext. 85-90.
- Richards, R., Hereu, C. y Stanfield, D.G., 1985. Experiencias con fasinex (triclabendazol) en fascioliasis hepática de ovinos y vacunos. *Veterinaria Argentina*, 2: 672-673.
- Rico, A.G., Braun, J.P., Bernard, P. and Thouvenot, J.D., 1977. Blood and tissue distribution of gammaglutamyl transferase in the cow. *J. Dairy Sci.*, 60: 1282-1287.
- Roberts, A.J. and Suhardono, H., 1996. Approaches to the control of fasciolosis in ruminants. *Int. J. Parasitol.*, 26: 971-981.
- Rojo-Vázquez, F.A., Cordero-del-Campillo, M., Díez-Baños, P. et Chaton-Schaffner, M., 1981. Relation existant entre les nombre d'oeufs dans les feces et la charge parasitaire lors des infestation naturelles a *Dicrocoelium dendriticum* chez les ovins. *Revue de Médecine vétérinaire*, 132: 601-607.
- Rojo-Vázquez, F.A., Meana, A., Tarazona, J.M. and Duncan, J.L., 1989. The efficacy of netobimin 15 mg/kg against *Dicrocoelium dendriticum* in sheep. *Vet. Rec.*, 24:512-513.
- Ronald, P.C. and Jeff, S.K., 1991. Applied statistics and the SAS programing language, 3rd edition, Elsevier, New York.

- Rosicky, B. and Groschaft, J., 1982. Dicrocoeliosis. In *CRC Handbook Series in Zoonoses. Section C: Parasitic Zoonoses. Volume III*. Boca Raton, Florida, USA, CRC Press, Inc. pp.33-52.
- Ross, G.J., 1970. The epidemiology of fascioliasis in northern Ireland. *Vet. Rec.*, 26: 370-372.
- Rowlands, D.T. and Clampitt, R.B., 1979. Plasma enzyme levels in ruminants infected with *Fasciola hepatica*. *Vet. Parasitol.*, 5: 155-157.
- Sánchez, T.S. Prevalencia y alteraciones macroscópicas por *Fasciola hepatica* en bovinos sacrificados en el rastro municipal de Jalapa Veracruz en el período comprendido de noviembre de 1973 a octubre de 1974. (tesis de licenciatura). *Fac. de Med. Vet. y Zoot.*, Universidad Veracruzana, México, 1974.
- Sánchez-Campos, S., Tuñón, M.J., González, P., Campo, R., Ferreras, M.C., Manga-González, M.Y. and González-Gállego, J. 1996. Effects of experimental dicrocoeliosis on oxidative drug metabolism in hamster liver. *Comp. Biochem. Physiol.*, 115C: 55-60.
- Santiago, N. and Hillyer G., 1988. Antibody profiles by EITB and ELISA of cattle and sheep infected with *Fasciola hepatica*. *J. Parasitol.*, 74: 110-118.
- Sanz, F., Tarazona, J.M., Jurado, R., Frías, J., Tarazona, J.V. and Duncan, J.L., 1987. An evaluation of the efficacy of netobimin against *Dicrocoelium dendriticum* in sheep. *Vet. Rec.*, 17: 57-58.
- Schuster, R., 1991. Factors influencing the metacercarial intensity in ants and the size of *Dicrocoelium dendriticum* metacercarial cysts. *J. Helminthol.*, 65 : 275-279.
- Schuster, R., 1993. Infection patterns in the first intermediate host of *Dicrocoelium dendriticum*. *Vet. Parasitol.*, 47: 235-243.
- Schuster R. und Hiepe Th., 1993. Bekämpfung des Dicrocoeliose beim Schaf. *Vet. Med.*, 48: 657-661.
- Schwabe, W.C., Riemann, P.H. and Franti, E.C., 1977. Epidemiology in veterinary practice, 48. *Lea & Febiger*, Philadelphia, pp. 3-11.
- Sinclair, I.J. and Wassall, D.A., 1988. Sero-diagnosis of *Fasciola hepatica* infections in cattle. *Vet. Parasitol.*, 27: 283-290.
- Simensen, S.G., Nielsen, K. and Nansen, O., 1973. Some effect of experimental *Fasciola hepatica* infection in cattle on the serum activities of gamma-glutamyl transpeptidase and glutamic oxalacetic transaminase. *Res. Vet. Sci.*, 15: 32-36.

- Srivastava, G.C., Kolev, G. and Georgiev, M., 1978. A surgical approach to trace the route of migration of *Dicrocoelium dendriticum* in the laboratory animals. *Rivista di Parasitologia*, 38: 131-137.
- Smith, G., 1984. Chemotherapy of ovine fascioliasis: use of an analytical model to assess the impact of a series of discrete doses anthelmintic on the prevalence and intensity of infection. *Vet. Parasitol.*, 16: 95-106.
- Soulsby, E.J.L., 1987. Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos. 7a Ed. *Interamericana*, México, pp. 39-49.
- Spindler, E.M., Zahler, M. and Loos-Frank, B., 1986. Behavioural aspects of ants as second intermediate host of *Dicrocoelium dendriticum*. *Z. Parasitenkd.*, 72: 689-692.
- Stanfield, D.G., Lonsdale, B., Lowndes, P.A., Reeves, E.W. and Schofield, D.M., 1987. Field trials of triclabendazole against mixed age infections of *Fasciola hepatica* in sheep and cattle. *Vet. Rec.*, 120: 459-460.
- Stratan, N.M., 1986. Efficacy of acemidophen against *Dicrocoelium dendriticum* in sheep. *Byulleten-Vsesoyuznogo Instituta Gel'mintologii-In K.I. Skryabina*, 42: 64-66.
- Stubberg, E., Nickel, S. und Hiepe, Th., 1975. *Dicrocoelium dendriticum* beim Schaf im DDR-Bezirk Frankfurt/Oder. *Angewandte Parasitologie*, 16:129-135.
- Sykes, A.R. Coop, R.L. and Robinson, M.G., 1980. Chronic subclinical ovine fascioliasis: plasma glutamate dehydrogenase, gamma-glutamyl transpeptidase and aspartate aminase transferase activities and their significance as diagnostic aids. *Res. Vet. Sci.*, 28: 71-75.
- Tarry, D.W., 1969. *Dicrocoelium dendriticum*: the life cycle in Britain. *J. Helminthol.*, 43: 403-416.
- Taylor, E.L., 1965. La fascioliasis y el distoma hepático. FAO, Roma, pp.34-56.
- Tharaldsen, J. and Whete, J.A., 1980. A field trial with albendazole against *Dicrocoelium lanceolatum* in sheep. *Nord. Veterinärmed.*, 32: 308-312.
- Theodorides, V.J., Freeman, J.F. and Green, J.R., 1982. Anthelmintic activity of albendazole against *Dicrocoelium dendriticum* in sheep. *Vet. Med. Small. Anim. Clin.*, 77: 569-570.
- Theodorides, Y., Duncan, J.L., Maclean, J.M., and Himonas, C.A., 1991. Pathophysiological studies on *Dicrocoelium dendriticum* infection in sheep, *Vet. Parasitol.*, 39: 61-66.

- Theodorides, Y., Sotiraki, S., and Papadopoulus, E., 1999. Observations on blood figure of sheep infected with *Dicrocoelium dendriticum*. *Bull. Hellenic Vet. Med. Soc.* 50: 300-304.
- Tietz, N.W. 1982. Fundamentals of clinical chemistry. 2nd. edition. Toronto, Ca. W. Sanders Co.
- Trejo, C.L., Fragoso, S.H., y Giles I.H. La fascioliasis, paramfistomiasis y su hospedero intermediario en México. Memorias del II Congreso Nacional de Parasitología Veterinaria. Veracruz, *Asociación Mexicana de Parasitología Veterinaria*. Mexico, D.F., 1992: 22.
- Ueno, H., Arandia, R.C., Morales, L.C. and Medina, M.G., 1975. Fascioliasis of livestock and snail host for *Fasciola* in the altiplano region of Bolivia. *Nat. Inst. Anim. Health Quartely*, 15: 61-67.
- Ueno, H., Alvarez, V.M.J., Mergen, A.M., and Sánchez, M.V., 1973. Observation on the prevalence of parasitic diseases in cattle specially fascioliasis in the Dominican Republic. *Nat. Inst. Anim. Health Quartely*, 13: 59-68.
- Valenzuela, G.M. Incidencia de *Fasciola hepatica* en ganado bovino en el municipio de Papantla Veracruz. (tesis de licenciatura) Jalapa (Veracruz) México. *Univ. Veracruzana*, 1973.
- Welch, R.D., Smith, P.H., Malone, J.B., Holmes, R.A., and Geaghan, J.P., 1987. Herd evaluation of *Fasciola hepatica* infection levels in Louisiana cattle by enzyme-linked immunosorbent assay. *Amer. J. Vet. Res.*, 48: 345-347.
- Wehrle, R.D. and Richards, R.J. Fascioliasis a strategic approach. 16a Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay. 1988. 75-78. Ciba-Geigy Animal Health, 1989.
- Wescott, R.B, Farrel, C.J. and Shen, D.T., 1984. Diagnosis of naturally occurring *Fasciola hepatica* infection in cattle with an enzyme-linked immunosorbent Assay. *A. J. Vet. Res.*, 45: 178-179.
- Wensvort, P. and Over, H. J., 1982. Cellular proliferation of the bile ductules and gamma-glutamyl transpeptidase in liver and sera of young cattle following a single infected with *Fasciola hepatica*. *Vet. Quaterly*, 4:161-172.
- Wolff, K., 1976. Zur Epizootiologie der Dicroceliose des Schafes. *Berl. Münch. Tierärztl. Woschr.*, 89: 272-276.
- Wolff, K., Hauser, B. und Wild, P., 1984. Dicrocoeliose des Schafes: Untersuchungen zur Pathogenese und zur regeneration der Leber nach Therapie. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*, 93: 378-387.

- Wood, I.B., Amaral, N.K., Bairden, K., Duncan, J.L., Kassai T., Malone, J.B., Pankavich, J.A., Reinecke, R.K., Scolombe, O., Taylor, S.M., and Vercruyse, J., 1995. World Association for the advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine) *Vet. Parasitol.*, 58: 181-213.
- Wyckoff, J.H. and Bradley, R.E., 1985. Diagnosis of *Fasciola hepatica* infection in beef calves by plasma enzyme analysis. *Am. J. Vet. Res.*, 46: 1015-1019.
- Zukowski, S.H., Wilkerson, G.W., and Malone, J.B., Jr. 1985. Fasciolosis in cattle in Louisiana. II Developmental of a system to use soil maps in a geographical information system to estimate disease risk on Louisiana costal marsh rangeland. *Vet. Parasitol.*, 47: 51-65.
- Zar, J.H., 1996. Bioestatistical Analysis. Englewood Cliffs, New Jersey. editorial. Prectice, pp.622.