



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y
DE LA SALUD ANIMAL**

**“DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA PARAMFISTOMICIDA DEL
COMPUESTO ALFA CARBAMATO EN OVINOS”**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

JUAN MANUEL REYES PÉREZ

**TUTOR: DR. FROYLÁN IBARRA VELARDE
COMITÉ TUTORAL: DR. HÉCTOR QUIROZ ROMERO
M. en C. VÍCTOR VÁZQUEZ PRATS**

CIUDAD UNIVERSITARIA, DISTRITO FEDERAL

2005



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

AGRADECIMIENTOS

Siempre serán pocas las palabras y sinónimos para agradecer todo lo que han hecho por mí, pero de corazón quiero dar las gracias a:

Universidad Nacional Autónoma de México a través de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por la valiosa oportunidad que me brindo de formarme académicamente en sus aulas e instalaciones

Dr. Froylán Ibarra por la extraordinaria oportunidad que me brindo de realizar este gran sueño, por sus enseñanzas y por sus valiosos consejos, pero sobre todo por su amistad

Dr. Héctor Quiroz por sus enseñanzas y sus valiosas pláticas

Dra. María Teresa Quintero por sus apreciables consejos y por su amistad

Dr. Víctor Vázquez Prats por su apoyo y colaboración en la realización de este estudio

Dr. Rafael Castillo, así como a la Dra. Alicia Hernández por su valiosa colaboración, y por su gran esfuerzo al proporcionarme el compuesto

Dra. Yolanda Vera por todos sus consejos, enseñanzas y por todas esas horas y plácidas conversaciones

Al Proyecto PAPIIT IN214502-3 por financiar parcialmente este estudio

A mi madre, y a mi hermano Fernando por su apoyo moral y económico pero sobre todo por sus palabras de aliento a seguir adelante, los quiero

Abel por todos esos maravillosos años en que hemos sido amigos, por tu apoyo, tu ayuda y por estar siempre conmigo en las buenas y en las malas

Héctor Villaseñor gracias por tu apoyo pero sobre todo por brindarme tu amistad desde el momento en que llegue a la Facultad

A doña Magda por su generosa y apreciable ayuda, al momento de recopilar mi información y sobre todo por tenerme paciencia

Lulú y Margarita por su ayuda, por todo su apoyo, por sus palabras de exhorto a seguir adelante en los momentos difíciles y por su amistad

Y a todos aquellos que en algún momento me brindaron su ayuda y amistad durante mi estancia en esta benemérita Institución.

MIL GRACIAS

DEDICATORIA

A mi madre
Todo lo que soy se lo debo a Usted
Mil gracias.

A mi hermano Fernando
Gracia por todo.

A todos aquellos que hacen de la Ciencia y la
Investigación su más preciable pasión.

Y a todos aquellos que aman y respetan
a esos maravillosos e inigualables seres
LOS ANIMALES.

CONTENIDO

Resumen	4
Abstract	5
Introducción	6
La paramfistomosis a nivel mundial	8
La paramfistomosis en México	11
Tratamiento de la Paramfistomosis	13
Antecedentes del compuesto "Alfa-carbamato"	16
Justificación	18
Hipótesis	19
Objetivos	19
Material y Métodos	20
Resultados	24
Discusión y conclusión	27
Literatura citada	30

“DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA PARAMFISTOMICIDA DEL COMPUESTO ALFA-CARBAMATO EN OVINOS”

RESUMEN

La paramfistomosis es una enfermedad de los rumiantes causada por anfistomas, parásitos del rumen, retículo, abomaso e intestino delgado y es debida a la acción y presencia de *Paramphistomum sp.*, trematodos que se caracterizan por producir una enteritis catarral o hemorrágica y pérdidas económicas no cuantificables.

Los objetivos del presente trabajo fueron: 1. Producir los estadios infectantes de *Paramphistomum sp* y 2. Determinar la eficacia paramfistomicida del carbamato de [5-cloro-6(1-naftiloxi)-1*H*-bencimidazol-2-il]metilo, llamado compuesto Alfa-carbamato, en ovinos. Se utilizaron 16 ovinos criollos, machos entre 6 y 12 meses de edad, los cuales fueron infectados en el día 0 con 600 metacercarias de *Paramphistomum spp.*, por animal. A los 45 días postinfección, los ovinos fueron divididos en 4 grupos con 4 animales cada uno. Los grupos 1 al 3 recibieron una dosis de 12, 18 y 24 mg/kg por vía oral y el grupo 4 fungió como testigo sin tratamiento. En el día 55, los animales fueron sacrificados para separar el rumen, con el fin de coleccionar y cuantificar los trematodos presentes. Adicionalmente, los trematodos del grupo testigo fueron medidos en su longitud para determinar la talla de los parásitos. La eficacia fue medida a través del porcentaje de reducción de trematodos en los grupos tratados con respecto al testigo sin tratamiento. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza, comparando la eficacia entre los grupos experimentales. Los resultados mostraron una producción adecuada de metacercarias obteniendo más de 9000. La eficacia obtenida indicó un 86.7%, 97.5% y 100% de reducción de paramfistomidos para los grupos 1, 2 y 3, respectivamente y la talla promedio de los trematodos recuperados del rumen fue de 5 mm. Se concluye que bajo las condiciones en que se desarrolló el presente estudio, el compuesto Alfa-carbamato mostró una alta eficacia contra paramfistomidos de 45 días de edad en ovinos infectados experimentalmente.

Palabras clave: *Paramphistomum sp*, compuesto Alfa-carbamato, Ovinos, Dosis efectiva.

“DETERMINATION OF THE PARAMPHISTOMICIDAL EFFICACY OF COMPOUND ALPHA CARBAMATE IN SHEEP”

ABSTRACT

Paramphistomosis is a disease of ruminants caused by parasitic amphistomes of the rumen, reticule, abomasum and small intestine. It is due to the presence and action of *Paramphistomum spp.*, trematodes which are characterized by producing catarrhal or hemorrhagic enteritis and economical losses.

The aims of the present thesis were: 1. To produce the infective larval stages of *Paramphistomum spp.* in our laboratory and 2. To determine the paramphistomicidal efficacy of methyl [5-chloro-6(1-naphthoxy)-1*H*-benzimidazol-2-il]carbamate called compound Alfa-carbamate, in ovines. Sixteen crossbred sheep, male, between 6 and 12 months of age, were infected each with 600 metacercariae of *Paramphistomum spp.* Forty five days after infection, the sheep were divided into 4 groups of 4 animals each. Groups 1 to 3 received compound Alpha-carbamate at an oral dose of 12, 18 and 24 mg/kg b/w and group 4 served as an untreated control. On day fifty five, all animals were killed in order to obtain the rumen to collect and quantify the present amphistomes. In addition, all trematodes from the control group were measured on its length to determine the size of the parasites. Efficacy was assessed as the percentage of trematode reduction of the treated groups relative to the untreated control. The obtained data were submitted to an analysis of variance comparing the percentage of efficacy among the experimental groups. Results showed a reasonable production of metacercariae obtaining more than 9000 cysts. The obtained efficacy indicated a 86.7%, 97.5% and 100% of paramphistomids reduction for groups 1, 2 and 3, respectively and the average length of the recovered trematodes was of 5 mm. It is concluded that compound Alpha-carbamate showed high efficacy against 45 day-old paramphistomids in experimentally infected sheep.

Key words: *Paramphistomum sp.*, Compound Alpha-carbamate, Sheep. Effective dose.

INTRODUCCIÓN

Una de las enfermedades parasitarias menos estudiadas en México es la paramfistomosis (De la O, 1983).

Esta es una parasitosis gastrointestinal de los rumiantes causada por trematodos que parasitan al rumen, retículo, abomaso e intestino delgado y es debida a la acción y presencia de parásitos de diferente géneros de la familia Paramphistomidae, entre los cuales podemos mencionar a *Paramphistomum spp*, *Cotylophoron spp*, *Calicophoron spp*, *Ceylocotyle spp*, *Gastrothylax spp*, *Gigantocotyle spp*, *Explanatum spp*, *Balanorchis spp*, entre otros, los cuales causan la paramfistomosis (Eduardo, 1982; De la O, 1983; Boray, 1985; Rolfe 1991).

Morfología

Estos trematodos, tienen un cuerpo cónico, casi redondo, o ligeramente aplanados. El tegumento es liso, carece de la bolsa ventral, el acetábulo o ventosa ventral es subterminal y de tamaño moderado, la ventosa oral es pequeña y esta presente en la parte anterior del parásito, la faringe carece de divertículos; el esófago carece de bulbo o de esfínter posterior, el ciego se encuentra de lado lateral del cuerpo con forma sinuosa o casi lineal. Los testículos son de forma redonda o lobular dispuestos en forma escalonada o diagonalmente lineal; la vesícula seminal posee una pared delgada y enrollada, la parte muscular es corta y ampliamente desarrollada, la parte prostática esta moderadamente desarrollada, la bolsa del cirro esta ausente. Los ovarios y las glándulas de Mehlis son post-testiculares; el útero esta hacia adelante y en forma enrollada, en posición dorsal a los testículos que están en forma ventral al ducto del cirro; el canal de Laurer cruza la vesícula excretora o ducto; las glándulas vitelinas en posición lateral pueden o no confluir dorsomedialmente. Carecen de ventosa genital. Los parásitos adultos miden alrededor de 5-13 mm x 2-5 mm. Los adultos presentan un color rosado que haría suponer que son hematófagos. Sin embargo, observaciones histoquímicas del aparato digestivo del parásito, realizadas en la India, demostraron que se alimentan exclusivamente del contenido ruminal, líquido tisular, pasto semidigerido, bacterias y

protozoarios, descartando la ingesta de sangre. Los huevos son grandes y llegan a medir de 120-180 μm x 74-100 μm ; son incoloros, operculados y contienen un cigoto (Eduardo, 1982; Boray, 1985; Kassai, 1998; Bulman, 2002).

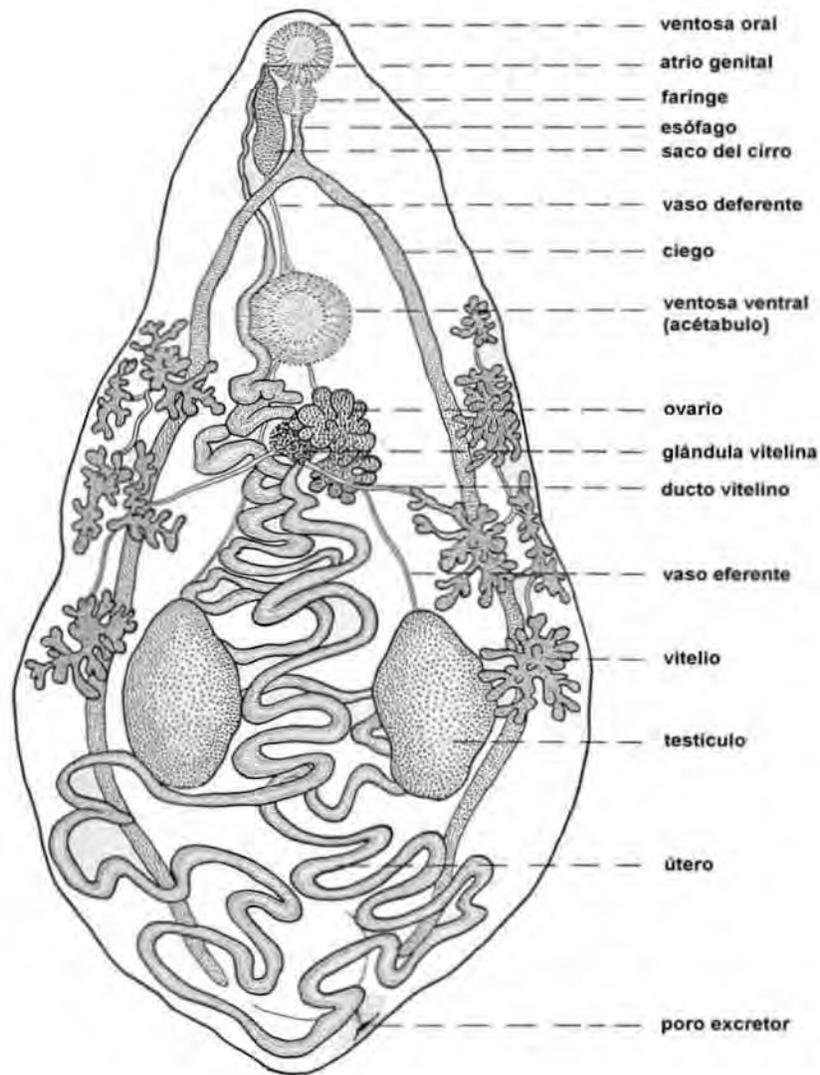
Distribución

Esta enfermedad también denominada “amfistomosis intestinal”, “fasciolosis del estómago”, “enfermedad abdominal por duelas”, es de distribución cosmopolita, existiendo áreas endémicas en todos los continentes, donde las infecciones intensas pueden provocar en todo tipo de rumiantes domésticos y salvajes una gastroenteritis aguda acompañada de alta morbilidad y alguna mortalidad, particularmente en huéspedes jóvenes (De la O, 1983; Quiroz 1990; Wood et al., 1995; Bulman, 2002).

En cuanto a su localización por zonas se tiene que en las regiones templadas se halla con relativa rareza, mientras que en zonas cálidas, además de presentarse con mucha frecuencia, llega a producir problemas severos.

Esta parasitosis se presenta con mayor frecuencia en bovinos, con una mayor incidencia en el ganado cebú; y en un menor grado en ovinos y caprinos. En bovinos masivamente infectados se puede alcanzar una mortalidad del 96% mientras que en ovinos las cifras ascienden al 90% (Oreamuno, 1978).

En algunas áreas, como la India y Australia, la mortalidad de bovinos y ovinos, durante la fase intestinal, es alrededor del 30% al 40%, respectivamente. La presentación de casos clínicos tendría vinculación con la presencia masiva de formas inmaduras en el duodeno, que se manifiesta por un síndrome de mala digestión con desnutrición, que causa una severa enteritis catarral, hiperplasia de la superficie mucosal, necrosis de tejido y hemorragias. Los animales afectados muestran signos de anorexia, polidipsia, menor desarrollo y diarreas fétidas y persistentes. Las formas adultas, en cambio, aun en cantidades de 30 000 o más, no serían mayormente patógenas (De la O, 1983; Quiroz 1990; Wood et al., 1995; Bulman, 2002).



Morfología de trematodos de la Familia Paramphistomidae.

Tomado de Veterinary Helminthology. 1949. Morgan, B. and Hawkins, P.
Burgess Publishing Company Minneapolis USA.

La Paramfistomosis a nivel mundial

Las infecciones por miembros adultos de la Familia Paramphistomidae pueden ser halladas en borregos, cabras, bovinos y búfalos de agua alrededor de todo el mundo.

Esta enfermedad esta mayormente confinada a África, en donde ocurre con mayor frecuencia durante las estaciones secas del año, afectando principalmente a Kenia y Etiopía; donde las especies de paramfistomidos responsables de la

enfermedad son atribuidas a *P. microbothrium* y *Cotylophoron cotylophorum* (Horak, 1971; Boray, 1985; Oreamuno, 1978).

Asanji., (1989) reporta que *P. microbothrium* es la especie clínicamente más importante en las regiones ganaderas de Sierra Leona, seguida de *P. daudneyi*.

En Asia, la infección ha sido reportada principalmente en la India, Bangladesh y Filipinas, en búfalos y en bovinos, donde la enfermedad es frecuentemente producida por *P. cervi*, *P. explanatum*, *Cotylophoron cotylophorum* (Horak, 1971; Boray, 1985).

Los países del Este de Europa que se ven afectados frecuentemente por esta parasitosis son Bulgaria, Hungría, Polonia, Rusia y Ucrania donde se han identificado como causantes de la enfermedad a *P. microbothrium*, *P. microbothroides*. *P. cervi* y algunos países mediterráneos como Israel, Italia, Turquía y la antigua Yugoslavia, en donde se ha reportado una incidencia del 30 al 70%, identificándose como agentes causales a *P. cervi*, *P. microbothrium* y *Cotylophoron cotylophorum* (Horak, 1971; Boray, 1985).

Abrous et al., (2000a; 2000b) y Mage et al., (2002) mencionan que la región central de Francia y específicamente la región de Limousin se presenta una incidencia del 13% que se ve afectada principalmente por *P. daudneyi*, *P. cervi*, y *P. ichikawai*.

En Australia, la parasitosis afecta principalmente a bovinos y ovinos siendo el principal agente etiológico *Cotylophoron cotylophorum* y *P. ickikawai*, respectivamente (Horak, 1971; Boray, 1959; Boray, 1985).

En Norteamérica, específicamente en los Estados Unidos, Herd et al., (1981) reportaron la presencia de paramfistomidos en el otoño de 1978 en novillos Hereford de 8-10 meses de edad, en 1980 identificaron la presencia de *P. microbothrium* en bisontes, como el agente causal de la parasitosis; sin embargo, también hallaron la presencia de *P. cervi* y *Cotylophoron cotylophorum* mencionando que estas dos especies son relativamente raras.

Reportes realizados en Brasil por Mattos y Ueno., (1996) y Velásquez-Maldonado., (1976) informan que la Provincia de Rio Grande do Sul es la más

afectada por esta parasitosis, refiriéndose solamente a *Paramphistomum sp* y *Balanorchis anastrophus*.

Bulman., (2002) menciona que la presencia del parásito en Argentina, principalmente en la provincia de Corrientes; se tiene reportado desde 1994, siendo *Cotylophoron cotylophorum* el principal agente causante de la enfermedad, Rodríguez et al., (2002) lo reportan en la provincia de Santa Fe.



Distribución geográfica de acuerdo a la literatura citada.

Nari., (1983) en Uruguay reportó brotes clínicos de la enfermedad en bovinos, provocados por *Cotylophoron cotylophorum*, con presencia de parásitos adultos y huéspedes intermediarios infectados, por su parte Rimbaud y Diana., (1991) aseveran que la presencia de esta parasitosis se remonta desde 1973-1974 en la región central del país, relacionados siempre a campos de producción mixta, ganadera y arrocera.

En un nuevo estudio realizado en la misma zona, estos autores reportaron que los animales jóvenes son los más afectados presentándose una mortalidad del 5.71% siendo del tipo por goteo (uno o dos animales diarios) y una morbilidad del 36.89%.

González y Plaza., (1965), en Chile describen la presencia de *Cotylophoron cotylophorum* en ganado importado de Australia, pero no en animales autóctonos.

La Paramfistomosis en México

La epidemiología de la paramfistomosis no ha sido estudiada exhaustivamente en México. Sin embargo, se han determinado algunas zonas enzoóticas para el ganado bovino, principalmente la zona sureste donde se ha reportado su presencia en primavera, identificándose como agente causal especies del género *Cotylophoron sp*, *Calicophoron sp* y *Paramphistomum cervi* (Trejo-Castro et al., 1983; 1986; 1990).

Aunado a esto, en nuestro país no existen los reportes necesarios sobre su dinámica de presentación en los animales, datos ecológicos, tasa de infección, estudios malacológicos del huésped intermediario y menos aun sobre los aspectos patológicos en relación huésped-parásito (Arizmendi, 1981).

Los primeros informes de la presencia de paramfistomidos en México fueron realizados por Quiroz et al., (1973b) reportan la presencia de especímenes adultos de *Paramphistomum cervi* en el rumen de un ovinos hembra de raza pelibuey procedente del estado de Tabasco y la presencia de ocho especímenes de *Cotylophoron cotylophorum* en el ciego de un ovino criollo procedente de Jalatlaco, Estado de México (1973a), en tanto que Arizmendi et al., (1981) refieren los primeros casos en bovinos, en el sur del estado de Veracruz, mencionando que esta parasitosis muestra un comportamiento anual muy irregular en esta región del estado, siendo el verano y el otoño las estaciones donde la incidencia es mayor. Así mismo señalan, que el movimiento del ganado, asociado con la gran tasa de producción de huevos por el trematodo, asegura la presencia de la enfermedad.

De ahí que no existe ninguna estrategia de control efectivo contra este parásito, particularmente debido a que la mayor parte del daño se ha hecho antes de la posibilidad de detectar al parásito.

Por su parte De la O., (1983) en un estudio realizado en el Frigorífico y Empacadora de Tabasco S. A., reportó una incidencia del 40.1% de los bovinos muestreados al azar provenientes de los estados de Chiapas, Veracruz y Tabasco, observándose que el mayor número de animales parasitados fueron procedentes de Tabasco.

Los paramfistomidos encontrados en este estudio, fueron identificados como *Cotylophoron cotylophorum*, *Paramphistomum cervi* y reporta por primera vez el género *Calicophoron sp.*

Por su parte Quiroz., (1990) refiere a los estados de Sinaloa y Campeche.

Estudios realizados por Rangel et al., (2003) en la región de la Sierra en el estado de Tabasco refieren una alta incidencia del parásito, principalmente en los municipios de Jalapa, Tacotalpa y Teapa, reportando que la prevalencia estimada de esta parasitosis en esta zona del estado es de entre el 30 y el 96.6% en un periodo que va de julio a noviembre, incrementándose su presencia durante la temporada de lluvias.

Actualmente se sabe que hay presencia del parásito en Estados ubicados en el altiplano de México sin que se tomen medidas estratégicas para su control (Vázquez et al, 1995).



Distribución geográfica de acuerdo a la literatura citada

El ciclo biológico de los paramfistomidos se caracteriza porque utiliza como huésped intermediario un caracol en el cual se multiplica. El caracol es anfibio y su vida esta asociada con la alta humedad; hallándose especialmente en cuerpos de agua estancada con vegetación acuática; de potreros y canales de riego, donde frecuentemente los animales abrevan.

Los bovinos se infectan cuando junto con el pasto o el agua ingieren la forma infectante del parásito (metacercarias), que se encuentra generalmente adherida a la vegetación acuática. En ocasiones los animales se comen los caracoles en forma accidental y pueden adquirir la infección de esta manera (Mateus, 1983).

En México, las especies de moluscos que intervienen en el ciclo biológico de esta trematodosis no están del todo determinadas (Vázquez, 1995; Castro-Trejo, 1983). De la O (1983) describe a los géneros *Planorbis*, *Fossaria*, *Pseudosuccinea* y *Segnitilia*, como huéspedes intermediarios.

Quiroz., (1990) hace referencia al género *Bulinus*. Castro-Trejo et al., (1990) reportan al menos cinco especies de caracoles dulceacuícolas del género *Lymnaea*: *Lymnaea cubensis*, *Lymnaea humilis*, *Lymnaea palustris*, *Lymnaea bulimoides* y *Lymnaea columella*, mencionando que estos gasterópodos están ampliamente distribuidos a lo largo de la región costera del golfo de México.

Sin embargo, *Lymnaea palustris* y *Lymnaea obrussa* parecen mantener al parásito en condiciones naturales y puede ayudar a propagar la infección en rumiantes mexicanos (Trejo-Castro et al, 1983; 1986; 1990).

Tratamiento de las Paramfistomosis

Para el tratamiento de esta parasitosis se han empleado una gran variedad de medicamentos con diferentes resultados en su eficiencia. Sin embargo, el número de compuestos que se pueden usar con seguridad en el caso de brotes agudos de paramfistomosis es muy limitado.

De los compuestos más seguros y eficientes para el control de brotes en ovinos es la niclosamida, la cual, administrada a dosis básicas de 50 a 100 mg/kg de peso corporal, produjo una eficacia del 99% contra estadios inmaduro en intestino delgado y del 18.2% en rumen (Boray, 1969).

Malviya et al., (1994), empleando ovinos de cuatro meses de edad infectados experimentalmente a la misma dosis antes referida, obtuvo similares resultados de 90% de eficacia contra formas maduras y 100% contra estadios inmaduros en intestino delgado

Horak., (1965) en pruebas de campo controladas probó la eficiencia del bitionol en borregos y bovinos infectados artificialmente con *Paramphistomum microbothrium*, administrando dosis de 25-100 mg/kg obteniendo una eficiencia del 96.6% contra amfistomas de 16-21 días de edad en ovinos.

En bovinos, el mismo autor administró dosis de 25-35 mg/kg, obteniendo una eficacia de 99.9-100% en trematodos de nueve días de edad. Sin embargo, el bitionol aunque es eficiente contra estadios maduros e inmaduros, puede generar efectos tóxicos a las dosis efectivas.

Duwel et al., (1975) en pruebas experimentales de laboratorio y de campo en ovinos infectados artificial y naturalmente, empleó fenbendazol a una dosis oral de 30 mg/kg reduciendo la carga parasitaria en 85% de estadios maduros y a dosis oral de 50 mg/kg redujo la producción de huevos del parásito en más del 99%.

Georgiev y Gruev., (1979) reportan que a dosis de 15 mg/kg de peso corporal de Nilzan, éste reduce la presencia del parásito entre 89 y 99% en ovinos infectados con *P. microbothrium*.

Gupta et al., (1981) reportan que el fenbendazol, administrado a dosis de 2.2 mg/kg de peso corporal durante seis días, mostró una eficacia del 27% contra estadios maduros del paramfistomo.

Lepojiev et al., (1982) usando dosis altas de fenbendazol (Panacur)*, (150 mg/kg de peso corporal por vía oral), obtuvieron una eficacia de entre el 25.0 y 45.0 % contra *Paramphistomum sp* en ovinos de Yugoslavia.

Rolfe y Boray., (1987) en bovinos de 5 a 6 meses de edad, infectados naturalmente con *Paramphistomum sp* y bajo condiciones de campo, emplearon oxiclozanida en dosis oral de 15 mg/kg, durante un periodo de 10 a 14 días; sus resultados indicaron una eficacia del 97.5% contra estadios maduros y 96.8% contra formas inmaduras. En ese mismo estudio y empleando hexaclorofeno a 20 mg/kg obtuvieron 99.5% y 100% contra estadios inmaduros en intestino delgado, abomaso y rumen respectivamente y del 83% contra estadios maduros.

Gill y Bali., (1987) infectaron ovinos de 8 a 12 meses de edad, con metacercarias de *P. cervi*., y probaron dos fórmulas a nivel experimental. Para ello

utilizaron oxiclozanida (Nilzan) (ICI)* en una dosis de 0.33 ml/kg de peso corporal y fenbendazol (Panacur) (Intervet-Hoechst)* con una dosis de 10 mg/kg de peso corporal. La eficacia obtenida contra estadios adultos del parásito a los 150 días posinfección fue de 94.2% y 49.1%, respectivamente.

Malviya., (1994) en pruebas de campo empleando dos dosis de 30 mg/kg de triclabendazol (Fasinex)* en un intervalo de cuatro días, encontró que este fasciolicida mostró una eficacia de tan solo el 62.7%. Esta baja actividad del triclabendazol contra paramfistómos contrasta frente a su alta eficacia contra infecciones de *Fasciola hepatica* en ovinos.

Antihelmíntico	Dosis mg/kg	Eficiencia		
		Trematodos inmaduros en intestino delgado		Trematodos maduros en rumen
		Ovinos	Bovinos	Ovinos y Bovinos
Bitionol	100-200	99%	Sd	73%
	25-100	99-100%		++
	25-35		99-100%	+
Niclosamida	50	94-99%	Sd	
	90	99.9%		Sd
	100		96%	
Nitroxinil	10	Sd	Sd	Sd
Praziquantel	10	Sd	Sd	Sd
Oxiclozanida	15	Sd	++	++
Closantel	7.5	90%	40-60%	60%
Fenbendazol	10	Sd	85%	27%
Triclabendazol	30	62.7%	62.7%	62.7%
Lactonas macrocíclicas	0.002	0%	0%	0%

Sd- sin datos; + alguna actividad; ++ actividad moderada
Tomado y modificado de Boray, J. C. (1985).

Eficacia de algunos antihelmínticos contra paramfistomidos

* Panacur marca registrada por Intervet-Hoechst S.A. de C.V.

* Nilzan marca registrada por Imperial Chemical Industries PLC.

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

Bhushan et al., (1996) refieren al closantel como efectivo contra formas inmaduras en una sola dosis oral de 10 mg/kg, reduciendo la carga parasitaria en un 90% en ovinos y cabras y del 40 al 60% en bovinos.

Un reporte reciente indica que la moxidectina, una lactona macrocíclica, en combinación con clorsulon o closantel puede tener alguna actividad contra especies de paramfistomas (Chick et al., 1991).

Para la comprobación del estudio anteriormente mencionado Rolfe y Boray., (1993) utilizaron cincuenta y dos becerros de 7 a 9 meses de edad, a los cuales se les aplicaron dos tratamientos: clorsulon/moxidectina a dosis de 2 mg/kg y 200 µg /kg respectivamente, y closantel a dosis de 10 mg/kg. Los resultados de este estudio indicaron que ambos tratamientos fueron deficientes contra estadios inmaduros y maduros del parásito, ya que se llegó a recuperar hasta el 90% de los paramfistomas vivos y sin daño aparente.

Por lo anteriormente señalado, se puede apreciar que ningún fármaco es 100% eficiente en el control de los parásitos adultos, como para permitir un apreciable impacto en las pasturas contaminadas.

Antecedentes del compuesto “Alfa-Carbamato”

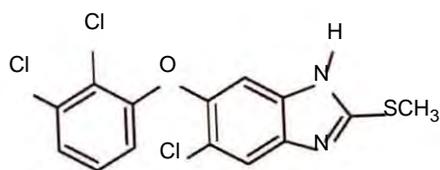
A través de la modificación de la estructura química del triclabendazol (TCBZ) se logró sintetizar y evaluar biológicamente la eficacia fasciolicida del denominado compuesto "Alfa" (Hernández et al., 2002), compuesto que en diversas evaluaciones biológicas (Ibarra et al., 1997, 2000; Vera et al., 2001; Rivera et al., 2002; Vera et al., 2003; Vera et al, 2004; Ibarra et al, 2004); farmacocinéticas (Del Rivero, 1998; Vertiz, 2000); de toxicidad (Ayala, 2002; Vera et al., 2004) y modo de acción (Rivera et al., 2004; 2005), ha mostrado resultados promisorios tanto en ovinos como en bovinos.

Considerando que se trata de un compuesto con actividad trematodicida, y particularmente fasciolicida, se consideró pertinente modificar la estructura del compuesto Alfa y valorar la eficacia paramfistomicida de la nueva estructura, denominada “Alfa-carbamato”, en ovinos.

Para ello, investigadores del Departamento de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, dirigidos por el Dr. Froylán Ibarra y la Dra. Yolanda Vera Montenegro, y del Departamento de Farmacia de la Facultad de Química, dirigidos por el Dr. Rafael Castillo Bocanegra y la M. en C. Alicia Hernández Campos, ambos grupos de la UNAM, han sumado esfuerzos en la creación y realización de un proyecto amplio de colaboración dirigido a la síntesis y evaluación fasciolicida in vivo de nuevos derivados del bencimidazol, análogos del triclabendazol.

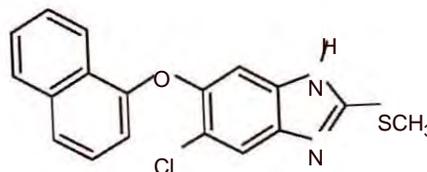
Considerando que *Paramphistomum sp.*, son trematodos que se alojan en el rumen de los rumiantes, se creó ahora el compuesto "Alfa carbamato" el cual guarda las características estructurales del compuesto "Alfa" y la alta polaridad del albendazol, lo cual se espera se absorba poco y que actúe preferentemente en el tracto gastrointestinal.

A continuación se muestra la estructura química del compuesto Alfa carbamato y sus predecesores.



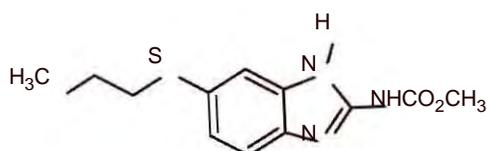
5-Cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-2-(metiltio)-1H-bencimidazol

Estructura del Triclabendazol



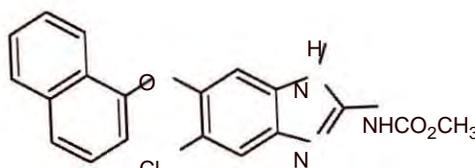
5-Cloro-2-(metiltio)-6-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol

Estructura del compuesto "Alfa"



Carbamato de [6-(propiltio)-1H-bencimidazol-2-il]metilo

Estructura del Albendazol



Carbamato de [5-cloro-6-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol-2-il]metilo

Estructura del "Alfa Carbamato"

Estructura química del compuesto Alfa carbamato.

El compuesto Alfa-carbamato es de reciente creación. Se tiene su punto de fusión, que es de 234-236 °C; su constante de Rf cromatográfico, en CHCl₃-MeOH 95:5, de 0.4; su fórmula condensada es C₁₉H₁₄ClN₃O₃.

JUSTIFICACIÓN

1. La producción de las fases infectivas (metacercarias) de *Paramphistomum sp* en el laboratorio es difícil y costosa, por lo que se manifiesta necesario implementar el cultivo de caracoles limneidos infectados con el parásito, para obtener las metacercarias necesarias para realizar infecciones en el ganado y permitir el desarrollo de estudios quimioterapéuticos.
2. El compuesto fasciolicida Alfa ha sido ampliamente probado en ovinos y bovinos mostrando una eficacia entre 86 al 100% contra todas las edades de *Fasciola hepatica*, sin embargo, dada su liposolubilidad y facilidad para atravesar las membranas biológicas, su permanencia en el tracto gastrointestinal es baja. Si este compuesto se modifica estructuralmente para convertirlo en un carbamato, su permanencia será mayor, por lo que se manifiesta necesario conducir estudios avocados a conocer la eficacia contra especies de paramfistomidos.
3. El tratamiento de la paramfistomosis se realiza mediante la administración de productos fasciolicidas a los animales de manera preventiva o terapéutica. Los fármacos disponibles en el mercado son costosos debido a que todos son importados.
4. Se manifiesta la necesidad de producir un fármaco nacional que actúe contra formas inmaduras y adultas de *Paramphistomum sp.*, a fin de disminuir las pérdidas que causa este parásito, el cual es difícil de identificar debido a su periodo prepatente y a su enmascaramiento con infecciones producidas por *Fasciola hepatica*.
5. En México, cada vez es más frecuente la pregunta del ganadero sobre que hacer para controlar la paramfistomosis, sin que se les pueda dar una respuesta que realmente ayude a resolver su problema.

HIPÓTESIS

- 1.- El compuesto Alfa-carbamato tendrá una eficacia superior al 80% contra los estadios inmaduros de *Paramphistomum sp.*, en ovinos.
- 2.- La talla promedio de los paramfistomidos recuperados será inferior a aquella obtenida en paramfistomidos de bovinos.

OBJETIVOS

- 1.- Determinar la eficacia paramfistomicida del compuesto “Alfa carbamato” contra estadios inmaduros en ovinos infectados experimentalmente.
- 2.- Desarrollar el cultivo de caracoles *Lymnaea humilis* para producir metacercarias de *Paramphistomum sp.*
- 3.- Determinar la talla de los trematodos recuperados, en el grupo testigo.

MATERIAL Y METODOS.

Experimento 1

Establecimiento de un método de producción de metacercarias de *Paramphistomum sp* a partir de caracoles limneidos

Preparación de material para cultivos.- Para llevar a cabo el cultivo de caracoles se prepararon cajas de Petri de 20 cm de diámetro, las cuales se lavaron y se esterilizaron a 120°C durante tres horas.

El lodo se colectó de una región de donde los caracoles son endémicos, se lavó con abundante agua para extraerle todo tipo de contaminantes, y enseguida se cernió con un colador para extraer piedras y otro tipo de residuos. Este lodo limpio se esterilizó en una estufa a 120° C durante cuatro horas, y se le añadió una porción de calcio como nutriente.

Posteriormente se dejó enfriar durante una hora, y seguidamente el lodo se vació a las cajas en donde se sembró el alga *Oscillatoria sp*.

La porción de lodo restante se vació en charolas de peltre y se sembró alga, de estos recipiente se fue tomando pequeñas porciones de alga para alimentar a los caracoles; cada tercer día se les añadió agua y se revisaron para limpiarlas de cualquier contaminante.

El alga del género *Oscillatoria sp* se colectó de los terrenos del rancho del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Agrosilvopastoril (CEIEPASP) de la FMVZ, en el municipio de Chapa de Mota y de los campos de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Autónoma de Hidalgo campus Tulancingo, se lavó con abundante agua para extraerle todo tipo de residuos, posteriormente se licuó y se sembró en cada una de las cajas ya procesadas.

Las cajas de Petri con algas estuvieron bajo condiciones de fotofase de 24 horas para estimular un rápido crecimiento, cada tercer día durante dos horas se les retiró la tapa para eliminar olores y todo tipo de residuos que pudieran afectar su crecimiento.

Colecta de caracoles.- La colecta de caracoles limneidos se realizó en los campos del rancho del CEIEPASP. Para ello se seleccionaron caracoles del género y especie *Lymnaea humilis* y se aclimataron a las condiciones de laboratorio para estimularlos a producir masas ovígeras.

Las masas ovígeras obtenidas permanecieron en gestación durante 12 días en agua limpia y a temperatura ambiente. Posteriormente, los caracoles recién nacidos se colocaron en las cajas de cultivo conteniendo lodo y alga suficiente durante 20-25 días, para realizar la infección con miracidios del paramfistomido.

La limpieza de los caracoles se llevó a cabo cada tercer día, éstos se retiraron de la caja de cultivo y pusieron en una caja Petri con agua limpia en donde se limpiaron con un pincel para retirarles todo tipo de suciedad, en tanto que las cajas se lavaron con abundante agua para retirar heces y cualquier tipo de residuo; de igual forma se retiraron todas las masas ovígeras y se colocaron en una caja con agua limpia para su posterior limpieza, a las cajas de cultivo se les colocaba una ración de alga y se reincorporaban los caracoles.

Obtención de miracidios.- Estos se obtuvieron a partir de huevos del trematodo colectados de ovinos altamente infectados.

Los huevos colectados se lavaron y se incubaron durante 17 días a 28°C en la oscuridad. Para la infección, los caracoles de dos semanas de edad se colocaron uno por uno en una placa de 96 pozos, y por medio de una micropipeta se les adicionó uno o dos miracidios y se dejaron en contacto durante cuatro horas y una vez infectados los moluscos, se mantuvieron 30 días en cajas de Petri conteniendo alga *Oscillatoria* y con una densidad de 25 caracoles por caja.

Obtención de metacercarias de Paramphistomum sp.- A los 35 días postinfección, los caracoles sobrevivientes se expusieron a prueba de cambios bruscos de temperatura para estimular la emergencia de cercarias.

Enquistamiento de metacercarias.- Éstas se enquistaron en papel plástico y se conservaron a 4°C hasta su utilización.

Experimento 2

Eficacia paramfistomicida del compuesto Alfa-carbamato en ovinos

Localización del estudio.- El trabajo se realizó en las instalaciones del Centro Nacional de Investigación en Fisiología Animal del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), ubicado en el Municipio de Colón en el estado de Querétaro y en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

Animales.- Se utilizaron 16 ovinos criollos, machos, entre 6 meses y un año de edad, libres de infección por *Paramphistomum sp* determinada por previos análisis coproparasitoscópicos. Éstos se alimentaron con alfalfa achicalada, concentrado comercial y agua *ad libitum* durante todo el experimento.

Desarrollo del estudio

Infección con metacercarias.- En el día 0 todos los animales se infectaron cada uno con 600 metacercarias de *Paramphistomum sp*, por vía oral. Éstas se envasaron en tubos de ensayo para su mejor manejo.

En el día 45 todos los ovinos se aretaron y dividieron en cuatro grupos de cuatro animales cada uno para realizar los tratamientos.

Previo al tratamiento se tomaron muestras de heces para verificar que los animales ya presentaban infección, realizando análisis coprológicos por medio de la técnica sedimentación para identificar huevos del trematodo.

Tratamiento con el compuesto Alfa-carbamato.- En el mismo día se administró el compuesto Alfa-carbamato como a continuación se indica:

El grupo 1 (G1) recibió una dosis de 12 mg/kg por vía oral.

El grupo 2 (G2) recibió una dosis de 18 mg/kg por vía oral.

El grupo 3 (G3) recibió una dosis de 24 mg/kg por vía oral.

El grupo 4 (G4) fungió como testigo sin tratamiento.

Las actividades realizadas se describen en detalle en el siguiente esquema:

DISEÑO EXPERIMENTAL

Grupo n= 4	Número de animal	Metacercarias por ovino	Dosis mg/kg de peso vivo	Edad de los paramfistómidos	Diagnóstico por sedimentación		Sacrificio 7 días postratamiento
					Día -8	Día 45	
1	2067 s/n 2415 s/n	600	12	45 días	X	X	X
2	1906 1860 879 1118	600	18	45 días	X	X	X
3	2296 2096 1058 1921	600	24	45 días	X	X	X
4	2412 2346 1893 1821	600	Testigo	45 días	X	X	X

Evaluación. En concordancia con las fechas señaladas en el diseño experimental los ovinos se sacrificaron para examinar el rumen de cada uno, con la finalidad de coleccionar y contar los trematodos presentes.

La eficacia del compuesto se midió con base en el número de paramfistomas presentes en los grupos tratados con respecto al número de trematodos presentes en el grupo testigo, utilizando la fórmula descrita por Wood et al., (1995), en donde:

$$\% \text{ Eficacia} = \frac{(\text{No. de paramfistomidos en el grupo tratado} - \text{No. de paramfistomidos en el grupo testigo}) \times 100}{\text{No. de paramfistomidos en el grupo testigo}}$$

Adicionalmente, y con la finalidad de conocer la talla de los paramfistomidos recuperados en el grupo testigo, se midió su longitud para establecer rangos de acuerdo a su edad.

Análisis estadístico.- Los datos obtenidos fueron analizados a través de un análisis de varianza Kruskal-Wallis con la finalidad de comparar la eficacia entre los grupos tratados contra el testigo sin tratamiento.

RESULTADOS

1. Cultivo de caracoles limneidos y producción de metacercarias

La infección de caracoles se realizó utilizando un microscopio estereoscópico a una magnificación de 40X, en donde se observó que los miracidios se aproximaban con marcada afinidad hacia las zonas blandas del molusco y se adherían a este para su penetración.

Se formaron dos lotes con caracoles infectados: el lote 1 infectado individualmente con dos miracidios, el lote 2 infectado individualmente con 1 miracidio, los cuales permanecieron infectados durante 35 días.

Posteriormente, los caracoles se expusieron a cambios bruscos de temperatura empleando una fuente de luz artificial y placas de hielo para liberar a las cercarías, estas aparecieron como pequeños puntos pardos con gran movilidad, congregándose sobre la superficie del agua. La emisión de cercarías tomó lugar casi inmediatamente y durante 120 minutos de exposición.

Las cercarías se enquistaron en bolsas de plástico de 10 x 20 mm conteniendo 40 ml de agua. En la masa cistógena se mostraron formaciones que semejaban “ojos negros triangulares”. Finalmente, se obtuvieron más de 9000 metacercarias, las cuales fueron refrigeradas a 4° C mismas que sirvieron para realizar las infecciones en los ovinos.

2. Eficacia paramfistomicida del compuesto Alfa-Carbamato

Los resultados obtenidos se observan de manera general en el Cuadro 1.

Grupo 1. (Tratado con 12 mg/kg).- Se recuperaron 16 paramfistomidos (8, 4, 3 y 1 respectivamente), el número mínimo y máximo de trematodos recuperados fue de 1 y 8 y el número promedio de *Paramphistomum sp* en el grupo fue de 4, correspondiendo a un porcentaje de eficacia de 86.7 % (Cuadro 1).

Grupo 2. (Tratado con 18 mg/kg).- Se recuperaron 3 paramfistomidos (0, 2, 1 y 0, respectivamente), el número mínimo y máximo de parásitos fue de 0 y 2 respectivamente, y el número promedio de trematodos en este grupo fue de 0.75, correspondiendo un porcentaje de eficacia del 97.5%. (Cuadro 1).

Grupo 3. (Tratado con 24 mg/kg).- En este grupo no se recuperó ningún trematodo, por lo que la eficacia ejercida corresponde a un 100%. (Cuadro 1).

Grupo 4 (Testigo sin tratamiento).- En este grupo se recuperó un total de 121 paramfistomidos (21, 36, 34 y 30, respectivamente), obteniendo un número mínimo y máximo de 21 y 36, correspondiendo un promedio de 30.2 trematodos por animal.

Cuadro 1. Eficacia paramfistomicida del compuesto Alfa-Carbamato

Grupo	Ovino No.	Peso Kg	Dosis mg/kg vía oral	No. de paramfistomidos recuperados	Promedio (\pm DE)	% de Eficacia
1	2067	41	12	4	4(\pm 2.9)	86.7 ^a
	s/n	41		8		
	2415	44		1		
	s/n	42		3		
2	1906	39	18	0	0.75(\pm 0.95)	97.5 ^b
	1860	43		2		
	879	38		1		
	1118	42		0		
3	2296	44	24	0	0(\pm 0)	100 ^b
	2096	42		0		
	1058	42		0		
	1921	39		0		
4	2412	41	Testigo	21	30.2(\pm 6.65)	- ^c
	2346	42		36		
	1893	43		34		
	1821	43		30		

Literales diferentes (a, b, c) muestran diferencia significativa ($P < 0.01$)

El análisis estadístico indicó lo siguiente:

El grupo 1 fue significativamente diferente a los grupos 2 y 3 ($P < 0.01$).

Los grupos 2 y 3 muestran similitud en su eficacia por lo que se puede aseverar que ambos son altamente significativos ($P < 0.01$) y por ende efectivos para administrarles ese tratamiento,

El grupo testigo mostró una diferencia altamente significativa ($P < 0.01$) en relación a los grupos tratados.

Cuadro 2. Prueba de comparación múltiple Kruskal-Wallis para el valor Z				
Variable	TS	X12	X18	X24
TS	0.0000	1.3354	2.6326	3.3576
X12	1.3354	0.0000	1.2972	2.0222
X18	2.6326	1.2972	0.0000	0.7249
X24	3.3576	2.0222	0.7249	0.0000
Prueba regular: medianas significativamente diferentes al valor $Z > 1.9600$				
Prueba de Benferroni: medianas significativamente diferentes al valor $Z > 2.6383$				

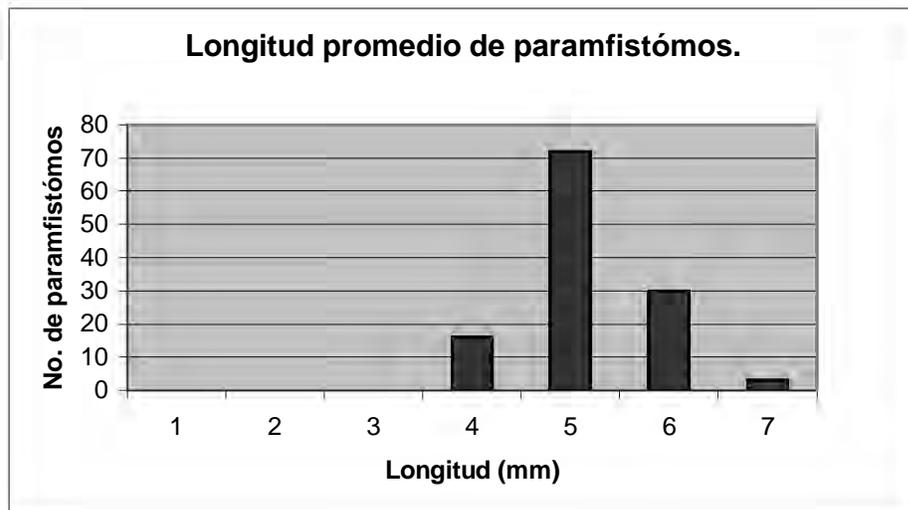
Análisis coprológicos.-

El resultado de los análisis coproparasitológicos, fue negativo en todos los animales.

Determinación de la talla de los paramfistomidos obtenidos.-

La gráfica 1 muestra la información obtenida de la longitud promedio de los trematodos colectados.

De manera general, los datos obtenidos referentes a la longitud de los paramfistomidos permitieron observar una distribución con predominancia de talla promedio de 5 y 6 mm, colectando un mayor número de trematodos en el rango de los 5 mm.



Gráfica 1. Longitud promedio de paramfistomidos de 45 días de edad, recuperados del rumen de ovinos infectados en forma experimental.

DISCUSION Y CONCLUSION

La distribución y prevalencia de la paramfistomosis se debe a la presencia de caracoles dulceacuícolas, que se comportan como huéspedes intermediarios del ciclo biológico de estos trematodos. Aunque las especies de moluscos que intervienen en el ciclo de vida de esta parasitosis no están del todo determinadas, las infecciones realizadas a los caracoles para este estudio, bajo condiciones de laboratorio, se pudo observar que *Lymnaea humilis* mantuvo al parásito durante toda la infección, por lo cual se coincide con lo mencionado por Trejo-Castro et al, (1983; 1986; 1990) que esta especie de gasterópodo actúa como vector intermediario de esta helmintiasis y que en condiciones naturales puede ayudar a mantener y propagar la infección en rumiantes,

Los paramfistómidos son trematodos que día a día se adaptan en mayor porcentaje a sus huéspedes y en ciertas regiones tropicales de México, han mostrado una mayor prevalencia en el ganado afectando principalmente a los bovinos (Horak, 1985). Esta prevalencia frecuentemente detectada por el ganadero mexicano, manifiesta la necesidad de contar con un compuesto que tenga alta eficiencia paramfistomicida, esto en virtud de que hasta el momento, no existe un compuesto eficaz capaz de remover estos trematodos en un 100% (Ibarra, 1997).

Por otro lado, la eficacia de varios antihelmínticos, como los bencimidazoles, han probado ser altamente eficaces primordialmente contra nematodos gastrointestinales, no obstante estos fármacos han sido ampliamente probados contra amfistomas de borregos, cabras y bovinos, mostrando resultados variables pero no suficientemente eficaces para controlar esta parasitosis. Asimismo, es importante señalar que la mayoría de estos productos son importados, o si se producen en el país son con materias primas traídas del extranjero, y por consiguiente elevan los costos de producción.

Por lo anteriormente expuesto, no existe hasta el momento ninguna estrategia de control efectivo contra esta parasitosis debido en parte a que es una enfermedad poco conocida, además de que el parásito aparentemente no causa demasiado daño a su huésped definitivo como es el caso de *Fasciola hepatica*. Así mismo, las

pérdidas económicas por decomisos son menores en relación a otras parasitosis, razón por la que la industria farmacéutica no ha avocado suficientes esfuerzos económicos para desarrollar y posicionar en el mercado un producto exclusivo para su tratamiento, siendo los fasciolidas una alternativa que hasta el momento no logra controlar el problema en forma adecuada. Por otro lado, es bien conocido que el diseño de nuevos fármacos implica muchos años de investigación y muchos millones de pesos en inversión, lo cual limita aún más el deseo de avocar esfuerzos para desarrollar un fármaco con esas características.

Ante esta situación, una posible alternativa es la de modificar químicamente la estructura de algunos compuestos como el triclabendazol o el albendazol, que deriva en sintetizar y evaluar compuestos de producción nacional. Estas nuevas estructuras han mostrado una eficacia altamente significativa como en el caso del compuesto "Alfa" contra *Fasciola hepatica* de diversas edades en ovinos y bovinos (Rivera, 2002; Vera et al, 2004; Ibarra et al, 2004). Sin embargo, contra los paramfistomidos se requiere contar con un fármaco que se mantenga en mayor porcentaje en el tracto gastrointestinal tal y como sucede con los carbamatos benzimidazólicos.

Wood et al., (1995) indican que los productos que muestren una eficacia entre el 90-98 % son considerados como efectivos, por lo que el porcentaje de eficiencia obtenido en este estudio es muy aceptable en las dosis mayores ensayadas.

Además, señala que los compuestos, entre 80 y 88% de eficacia se califican como moderadamente efectivos, que fue el caso del grupo 1 tratado.

Oğuz., (1971), Sahai y Prasad., (1975) en un trabajo similar aplicaron resorantel (Terenol) a ovinos a una dosis de 65 mg/kg y obtuvieron una eficacia de entre el 80 y 99% contra estadio inmaduros, estos resultados coinciden con los obtenidos en este estudio, pero con la reserva de que el compuesto Alfa-carbamato es un producto de reciente creación.

Fuentes (1987) menciona que el estómago es una gran destructor de fármacos y por lo tanto un cierto porcentaje del fármaco en polvo administrado pudo inactivarse o destruirse, lo cual sugiere que el Alfa-carbamato posiblemente puede mejorar su

eficiencia, si este es formulado en un vehículo que mantenga al compuesto un mayor tiempo a nivel de rumen o en la primer porción intestinal (duodeno).

Por tal razón, la eficiencia obtenida con el Alfa-carbamato es explicable en virtud de que hasta el momento, se desconocen factores importantes tales como el grado de absorción del compuesto, el cual puede influir de manera relevante para que los porcentajes del fármaco lleguen al rumen en concentraciones suficientes.

En lo referente al número de paramfistomidos encontrados en el rumen de los ovinos, se puede inferir que la viabilidad de las metacercarias fue menor o que la cantidad de metacercarias administradas en la infección no fue la adecuada, además de que como es sabido existe una susceptibilidad individual y al tratarse de seres vivos, unos animales aceptan en mayor porcentaje la infección que otros (Horak, 1969; Ibarra, 1997)

En relación a los análisis coproparasitológicos, estos fueron negativos en todos los animales, esto puede ser debido a que los paramfistomidos aunque alcanzan la madurez a los 45 días, de acuerdo a Boray (1959, 1985), estos liberan huevos hasta los 56 días.

Adicionalmente existen factores tales como el sexo, raza, edad, nutrición del huésped, viabilidad y manejo de la metacercarias, entre otras, los cuales pueden generar resultados variables, por lo que se reitera la posición de continuar con otras evaluaciones (Ibarra, 1997).

En apoyo a lo anteriormente mencionado, Ibarra et al (datos no publicados), señalan que en un estudio preliminar en 4 ovinos criollos infectados cada uno con 250 metacercarias de *Fasciola hepatica* y 500 metacercarias de *Paramphistomum spp.*, colectaron un promedio de 50.2 *Fasciolas* y 20.2 *Paramphistomum sp.*, lo cual corresponde a un porcentaje de recuperación de 20.0 y 4.0, respectivamente. Estos porcentajes de recuperación llegan a ser bajos, particularmente para *Paramphistomum sp*, por lo que se recomienda realizar infecciones con mayor número de metacercarias.

De hecho, la guía de evaluación de antihelmínticos emitida por la W.A.A.V.P. (World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology) indica que este

tipo de estudios debe de repetirse con la finalidad de obtener más datos que permitan contar con mayores criterios para corroborar la información previamente obtenida (Word et al, 1995).

Por nuestra parte y con base en la experiencia obtenida nos permitimos sugerir que el estudio se lleve a cabo utilizando mayor número de animales, y para la infección se utilice un mayor número de metacercarias, lo cual permitirá que el error estándar sea menor y los datos obtenidos sean todavía mas confiables.

Finalmente, es importante señalar que esta es la primera evaluación que se lleva a cabo con esta modificación de la estructura del compuesto fasciolicida Alfa y aun cuando la información obtenida es muy preliminar, puede considerarse relevante en virtud de que abre nuevas expectativas para continuar evaluando el Alfa carbamato con la finalidad de determinar su real potencial como paramfistomicida.

Se concluye que bajo las condiciones en que se desarrolló el presente estudio, el compuesto Alfa-carbamato mostró una alta eficacia contra paramfistómidos de 45 días de edad en ovinos infectados experimentalmente.

LITERATURA CITADA.

1. Abrous, M., Rondelaud, D., Dreyfuss, G. 2000a. Cercarial productivity of redial generations in single-miracidium infections of *Lymnaea truncatula* with *Paramphistomum daubneyi* or *Fasciola hepatica*. *Journal of Helminthology* 74: 1-5.
2. Abrous, M., Rondelaud, D., Dreyfuss, G. 2000b. A field study of natural in three freshwater snails with *Fasciola hepatica* and/or *Paramphistomum daubneyi* in central France. *Journal of Helminthology* 74: 189-184.
3. Arizmendi, V. R. I. 1981. Evaluación e identificación de la Paramphistomiasis bovina en el sur del estado de Veracruz. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. Tesis de Licenciatura.
4. Asanji, M. F. 1989. Paramphistomiasis of cattle in Sierra Leone and seasonal fluctuations in its prevalence. *Bulletin Animal Health Production Africa* 37: 327-331.
5. Ayala, A. S. 2002. Evaluación toxicológica del compuesto fasciolicida "Alfa" en vacas gestantes. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. Tesis de Maestría.
6. Boray, J. C. 1959. Studies on intestinal amphistomosis in cattle. *The Australian Veterinary Journal* 35: 282- 287.
7. Boray, J. C. 1969. The anthelmintics efficiency of niclosamida and menichlopholan in the treatment of intestinal paramphistomosis in sheep. *Australian Veterinary Journal* 45: 133-134.
8. Boray, J. C. 1985. Flukes of domestic animals. In *Parasites, pests and predators*. Edited by Gaafar, S. M., Howard, W. E., and Marsh, R. E. *World Animal Science* No. 82.
9. Bhushan, C., Garg, S. K., Johri, D. K. 1996. Efficacy of closantel against natural paramphistomosis in sheep- A case report. *Indian Veterinary Journal*. 73: 1262-1263.
10. Bulman, G. M., Caracostantógolo, J., Lamberte, J. C., Zenón, A. A., Balbian, G. 2002. *Cotylophoron cotylophorum* (Fischöeder, 1901) (Digenea: Paramphistomidae), trematodo del rumen bovino, en Argentina. *Veterinaria Argentina*. 19 (189): 673-682.
11. Castro-Trejo, L., Pérez, S. P., García, V. Z. 1983. Identificación de caracoles del género *Lymnaea* como vectores de paramfistómidos en México. Resumen de la IV Reunión de la Asociación Mexicana de Parasitología A. C. México DF. Pp. 18.
12. Castro-Trejo, L., Casildo, N. J., Giles, H. I. 1986. Ciclo biológico de *Paramphistomum cervi* (Schrank 1790) en laboratorio. Resumen de la VII Reunión de la Asociación Mexicana de Parasitología A. C. Ciudad Victoria, Tamaulipas, México. Pp. 60.
13. Castro-Trejo, L, García-Vásquez, Z, Casildo-Nieto, J. 1990. The susceptibility of Lymnaeid snails to *Paramphistomum cervi* in Mexico. *Veterinary Parasitology* 35: (1-2) 157-161.

14. Chick, B. F., Fraser, G. C., Kieran, P. J., Wood, I. B. 1991. Proc Aust Assoc Cattle Vet, Pan Pacific Conference, Sydney. Pp 129.
15. De la O, C. J. R. 1983. Frecuencia y determinación del género de trematodos de la Familia Paramphistomidae (Fischoeder 1901) de bovinos sacrificados en el Frigorífico y Empacadora de Tabasco, S. A., Villahermosa, Tabasco. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. Tesis de Licenciatura.
16. Del Rivero, R. L. M. 1998. Farmacocinética del Alfa-BioF10 en borregos. Facultad de Química. UNAM, Tesis de Maestría.
17. Duwel, D., Kirsch, R., Reisenlatter, R. 1975. The efficacy of fenbendazole in the control of trematodes and cestodes. The veterinary Record 97: 371.
18. Eduardo, S. L. 1982. The taxonomy of the family Paramphistomidae (Fischoeder, 1901) with special reference to the morphology of species occurring in ruminants. I. General considerations. Systematic Parasitology 4: 7-57.
19. Fuentes, H. V. O. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Interamericana, México DF. 1987.
20. Georgiev, B., Gruev, A. 1979. The efficacy of levamisole and oxyclozanide against paramphistomiasis in sheep and cattle. Veterinarno Meditsinski Nauki 16: 45-51.
21. Gill, JS, Bali, HS. 1987. Efficacy of Panacur and Nilzan against experimentally induced *Paramphistomum cervi* infection in sheep. Indian Veterinary Medical Journal 11(4): 231-233.
22. González, H., Plaza, J. 1965. Hallazgo de trematodos de la Familia Paramphistomidae en bovinos importados de Australia. Boletín Chileno de Parasitología 21: 19-21.
23. Gupta, R. P., Malik, P. D., Gautam, O. P. 1981. The anthelmintic efficacy of fenbendazole against gastrointestinal nematodes, cestodes and paramphistomes in sheep. Indian Veterinary Journal. 58:(3) 246-247
24. Herd, R. P., Hull, B. L. 1981. *Paramphistomum microbothroides* in American bison and domestic beef cattle. JAVMA 179: (10) 1019-1020.
25. Hernández, C. A., Ibarra, V. F., Vera, M. Y., Rivera, F. N., Castillo, R. 2002. Synthesis and fasciolicidal activity of 5-chloro-2-methylthio-6-(1-naphthoxy)-1H-benzimidazole. Chemical Pharmaceutical Bulletin 50(5): 649-652.
26. Horak, I. G. 1965. The anthelmintics efficacy of bithionol against *Paramphistomum microbothroides*, *Fasciola spp* and *Schistosoma mattei*. Journal of the South African Veterinary Medical Association 36: 561-566.
27. Horak, I. G. 1971. Paramphistomiasis of domestic ruminants. Advances in Parasitology 9: 33-72

28. Ibarra, V. F., García, S. E., Vera, M. Y., Hernández, C. A., Castillo, B. R. 1997. Eficacia fasciolicida del compuesto ALFA contra estadios juveniles y adultos en ovinos. *Veterinaria México* 28: 4-8.
29. Ibarra, V. F., Vera, M. Y., Montenegro, C. N., Flores, C. J., Hernández, C. A., Castillo, B. R. 2000. Evaluación de cuatro vehículos para formular un fasciolicida experimental. *Veterinaria. México* 31: 47-51.
30. Ibarra, F., Vera, Y., Quiroz, H., Cantó, J., Castillo, R., Hernández, A., Ochoa, P. 2004. Determination of the effective dose of an experimental fasciolicide in naturally and experimentally infected cattle. *Veterinary Parasitology* 120(1): 65-74.
31. Kassai, T. 1998. *Helmintología Veterinaria*. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España.
32. Lepojiev, O. Cvetkovic, L. Tomanovic, B. Grus, I. 1982. Action of high doses of Panacur on trematodes of the bile duct and digestive tract of sheep. *Veterinarski Gasnik* 36:1 33-37
33. Mage, C., Bourgne, H., Toullieu, J. M., Rondelaud, D., Dreyfuss, G. 2002. *Fasciola hepatica* and *Paramphistomum daubneyi*: changes in prevalence of natural infections in cattle and in *Lymnaea truncatula* from central France over the past 12 years. *Veterinary Research* 33: 439-447.
34. Malviya, H. C., Prasad, A., Varma, T, K., Dwivedi, P. 1994. Chemotherapy of experimentally induced *Paramphistomum epiclitum* infection in lambs. *Indian Veterinary Journal* 71: 222-224.
35. Mateus, V. G., 1983. *Parásitos internos de los bovinos: su naturaleza y prevención, con énfasis en doble propósito*. Centro Agronómico de Investigación y Enseñanza (CATIE). Departamento de producción Animal. Turrialba, Costa Rica. Pp. 27
36. Mattos, M. J. T., Ueno, H. 1996. Prevalencia de *Paramphistomum* no rúmen e retículo de bovinos no estado do Rio Grande do Sul- Brasil. *Ciencia Rural* 26: (2) 273-276.
37. Nari, A., Fiel, C. 1983. *Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos: bases epidemiológicas para su prevención y control en Argentina y Uruguay*. Editorial hemisferio Sur. pp 257-264.
38. Oğuz, T. 1971. Treatment trials with Terenol (4-bromo-2, 6-dihydroxy-benzanilid) against *Paramphistomum* in sheep and cattle. *Veteriner Fakultesi Dergisi* 18: 209-213.
39. Oreamuno, T. J. J. 1978. Frecuencia de *Paramphistomum spp* en bovinos sacrificados en diferentes rastros del Estado de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. Tesis de Licenciatura.
40. Quiroz, R. H., García, R., Dávalos, E. 1973a. Identificación de *Cotylophoron cotylophorum* (Fischoeder, 1901) en un ovino en México. *Técnica Pecuaria en México*. 21:61.

41. Quiroz, R. H., Ochoa, R. 1973b. Presencia de *Paramphistomum cervi* (Schrank, 1790) en un ovino de raza Tabasco o pelibuey en México. *Técnica Pecuaria en México*. 21:59.
42. Quiroz, R. H. 1990. *Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos*. Editorial Limusa. México, DF.
43. Rangel-Ruiz, L. J., Albores-Brahms, S. T., Gamboa-Aguilar, J. 2003. Seasonal trends of *Paramphistomum cervi* in Tabasco, Mexico. *Veterinary Parasitology* 116: 217-222.
44. Rimbaud, E., Diana, V. 1991. Descripción de un cuadro de mortandad en bovinos asociado a Paramphistomiasis. *Veterinaria Argentina* 8 (79): 606-612.
45. Rivera, F. N., Ibarra, V. F, Olazarán, J. S., Vera, M. Y., Castillo. B. R., Hernández, C. A. 2002. Eficacia del 5-chloro-2-methylthio-6-(1-naphthoxy) benzimidazole contra diversas edades de *Fasciola hepatica* en ovinos. *Veterinaria*. México. 33(1) 55 - 61.
46. Rivera, F. N., Ibarra, V. F, Zepeda, A., Fortoul, T., Hernández, A., Castillo, R., Cantó, G. 2004. Tegumental surface changes in adult *Fasciola hepatica* following treatment in vitro and in vivo with and experimental fasciolicide. *Parasitology Research* 93: 283-286.
47. Rivera, F. N., Ibarra, V. F, Zepeda, A., Fortoul, T., Cantó, G., Hernández, A., Castillo, R. 2005. The effect of the 5-chloro-2-methylthio-6-(1-naphthoxy)-1H-benzimidazole called compound alpha on the tegument of immature *Fasciola hepatica* in its natural host. *Parasitology Research* 95: 379-382.
48. Rodríguez-Armesto, R., Bono-Battistoni, M. F., Peralta, J. L. 2002. *Cotylophoron cotylophorum* (Fischoeder, 1901): su presencia en bovinos del nordeste de la provincia de Santa Fe (Argentina). *Veterinaria Argentina* 19(184): 290-292.
49. Rolfe, P. F., Boray, J. C. 1987. Chemotherapy of paramphistomosis in cattle. *Australian Veterinary Journal* 64 (11): 328-332.
50. Rolfe, P. F., Boray, J. C., Nichols, P., Collins, G. H. 1991. Epidemiology of paramphistomosis in cattle. *International Journal for Parasitology* 21(7) 813-839
51. Rolfe, P. F., Boray, J. C. 1993. Comparative efficacy of moxidectin, an ivermectin/clorsulon combination and closantel against immature paramphistomes in cattle. *Australian Veterinary Journal* 70(7) 265-266.
52. Sahai, B. N., Prasad, K. D. 1975. Anthelmintic efficacy of Terenol against immature and mature *Cotylophoron cotylophorum* in sheep. *Rivista di Parassitologia* 36: 171-176.
53. Vázquez, C. S., Vega, A. 1995. Estudios de infecciones experimentales en caracoles limnaeidos con *Paramphistomum ssp*. *Revista Chapingo. Área Zootecnia* 1: 111-114.

54. Velásquez-Maldonado, J. J. 1976. Etudo taxonómico dos trematodes paranfistomiformes do rúmen de bovinos do estado de Rio Grande do Sul (Brasil). Fundação Cargill, Brasil. Monografía.
 55. Vera, M. Y., Ibarra, V. F., Quiroz, R. H., Ríos, U. A., Castillo, B. R., Hernández, C. A. 2001. Eficacia del 6-cloro-2-metil-5-(1-naftiloxi) bencimidazol contra *Fasciola hepatica* de cuatro y diez semanas de edad en bovinos de México. *Veterinaria. México* 32 (1): 77-80.
 56. Vera Montenegro, Y., Ibarra Velarde, F., Quiroz Romero, H., Hernández Campos, A., Castillo, R. 2003. Field trial on the efficacy of an experimental fasciolicide compared with some commercial compounds in naturally infected cattle. *Parasitology Research* 91(1): 1-4.
 57. Vera, M. Y., Ibarra, V. F., Liébano, H. E., Quiroz, R. H., Castillo, B. R., Hernández, C. A., Ochoa, G. P. 2004. Efficacy of an experimental fasciolicide against immature and mature *Fasciola hepatica* in artificially infected calves. *Parasitology Research* 92: 211-214.
 58. Vertiz, S. G. 2000. Evaluación farmacocinética del Alfa-BioF10 en ganado vacuno. Facultad de Química. UNAM, Tesis de Maestría.
 59. Wood, I. B., Amaral, N. K., Barden, K., Duncan, J. L., Kassai, T., Malone, J. B., Pankavich, J. A., Reinecke, R. K., Slocombe, O. 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. *Veterinary Parasitology* 58:181-213.
-