



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Comparación de la eficacia de un profármaco inyectable experimental con tres fasciolicidas comerciales en ovinos infectados en forma experimental

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN
Y DE LA SALUD ANIMAL

PRESENTA
ROSA ARIAS GARCÍA

TUTOR: DR. FROYLÁN IBARRA VELARDE.
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM

COMITÉ TUTOR:
DR. RAFAEL CASTILLO BOCANEGRA
Facultad de Química-UNAM
DRA. YAZMÍN ALCALÁ CANTO
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM



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.

Dedicatoria

*A mis padres Francisca y Juan, y a Angela,
Mis infalibles cimientos.*

*A mis compañeras de vida Julia y Pat,
Mi tensión superficial.*

*A Li,
Más que dos.*

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Froylán Ibarra Velarde. Excelente profesor y tutor, cuyo acompañamiento, confianza, enseñanzas y dirección, fueron decisivos en el emprendimiento y culminación de esta investigación.

A los miembros de mi Comité tutor, Dra. Yazmín Alcalá Canto y Dr. Rafael Castillo Bocanegra, quienes con sus puntuales observaciones y consejos, fomentaron mi entusiasmo e interés en el quehacer científico.

A la Dra. Irene Cruz Mendoza, por su gran compromiso docente y valioso apoyo.

Al Dr. Pedro Mendoza de Gives, por su comprensión y apreciable ayuda.

A los M. en C. Angélica, Luisa, Jamín, y Mónica; por su oportuno y gran apoyo.

Con mucha admiración y respeto a todos mis profesores del Depto. de Parasitología-FMVZ-UNAM, quienes rompiendo esquemas, mejoran individuos y transforman profesionistas.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por permitirme experimentar muchas de las mayores satisfacciones de mi vida.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, que me da la oportunidad de aprender para enseñar.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico proporcionado durante mis estudios de maestría.

A la DGAPA-PAPIIT por el apoyo financiero para esta investigación, dentro del proyecto PAPIIT-IT201015.

Al CENID-Fisiología del INIFAP, por el gran apoyo otorgado por personal técnico y administrativo para la realización de este proyecto.

RESUMEN

La fasciolosis es la enfermedad hepática parasitaria más importante en los rumiantes. Su importancia radica en las cuantiosas pérdidas económicas que genera en la ganadería nacional e internacional, así como en las repercusiones relacionadas con la salud pública, ya que también infecta al humano. El tratamiento habitual de control de la fasciolosis es la quimioterapia. El triclabendazol es el único fármaco que actúa contra estadios tanto inmaduros como adultos del parásito; sin embargo posee baja solubilidad acuosa. Es por ello que el fosfatriclaben, un profármaco sintetizado a partir del triclabendazol, cuenta con la gran ventaja de ser altamente soluble en agua y poderse administrar vía intramuscular. El objetivo del presente estudio fue el de comparar y evaluar la eficacia del fosfatriclaben con 3 fasciolícidas comerciales, en ovinos infectados en forma experimental. Se utilizaron 30 ovinos criollos previamente diagnosticados negativos a huevos de *Fasciola hepatica* mediante la técnica de sedimentación. A cada ovino se le administraron 200 metacercarias de *F. hepatica* en el día 0, y 200 más en el día 50. En el día 80 se tomaron muestras fecales para corroborar su infección, y se formaron 5 grupos de 6 animales para realizar los tratamientos. El Grupo 1 (G1) recibió closantel inyectable al 5% a 1ml/10kg, SC. El G2, clorsulon a 1ml/50kg, SC. El G3, triclabendazol a 5ml/50kg, oral. El G4, fosfatriclaben a 6mg/kg, IM. El G5 fungió como testigo infectado sin tratamiento. En el día 110 se tomaron muestras fecales para conteo de huevos, y los ovinos fueron sacrificados en Rastro TIF. Se colectaron los hígados, se extrajeron las fasciolas presentes, se midieron y contaron. La eficacia fue medida como porcentaje de reducción de fasciolas adultas y porcentaje de reducción de huevos con referencia al testigo. Los resultados obtenidos indicaron una eficacia contra fasciolas adultas de 96.2, 91.9, 99.4, y 95.7% para closantel, clorsulon, triclabendazol y fosfatriclaben, respectivamente. La eficacia en cuanto a reducción de huevos fue de 86.8, 90.5, 98.4 y 97.3%, respectivamente. No se demostraron diferencias estadísticas entre tratamientos. Se concluye que el fosfatriclaben aplicado a 6mg/kg/IM, mostró alta eficacia contra huevos y adultos de *Fasciola hepatica* en ovinos infectados en forma experimental. El compuesto generó una eficacia similar a los fasciolícidas comerciales confiriendo ventaja a su antecesor (triclabendazol) al usar la mitad de la dosis requerida para remover fasciolas en los ovinos en estudio.

Palabras Clave: fosfatriclaben, triclabendazol, *Fasciola hepatica*, benzimidazol.

ABSTRACT

Fasciolosis is the most important parasitic liver disease in ruminants. Its importance lies in the large economic losses it generates in national and international livestock, as well as in the repercussions related to public health, since it also infects humans. The usual treatment for the control of fasciolosis is chemotherapy. Triclabendazole is the only drug that acts against both the immature and adult stages of the parasite. However triclabendazole has low aqueous solubility, so a prodrug synthesized from triclabendazole, phosphatriclaben, has the great advantage of being highly soluble in water and therefore can be administered intramuscularly. The aim of the present study was to compare and evaluate the efficacy of phosphatriclaben with three commercial fasciolicides in experimentally infected sheep. Thirty mixed breed sheep previously diagnosed negative to fluke eggs by the sedimentation test, were used. Each sheep was given 200 metacercariae of *Fasciola hepatica* on day 0, and 200 more on day 50. On day 80 faecal samples were taken to corroborate their infection with *F. hepatica*, and 5 groups of 6 animals were formed to perform the treatments. Group 1 (G1) was treated with closantel 5% injectable at 1ml/10kg/subcutaneously; G2 with clorsulon at 1ml/50kg/subcutaneously; G3 with triclabendazole at 5ml/50kg/*per os*; G4 with phosphatriclaben at 6 mg/kg/intramuscularly, and G5 remained as the non-treated control. On day 110 fecal samples were taken for egg count, and the sheep were sacrificed in Federal Inspection slaughterhouse. The livers were collected, the flukes were extracted, measured and counted. Efficacy was measured as percentage of reduction of adult flukes, and percentage of reduction of eggs with reference to the control group. Results showed an efficacy against adult flukes of 96.2, 91.9, 99.4 and 95.7% for closantel, clorsulon, triclabendazole, and phosphatriclaben, respectively. Efficacy in terms of egg reduction was 86.8, 90.5, 98.4 and 97.3%, respectively. No statistical differences were found between treatments. It is concluded that phosphatriclaben at 6mg/kg/IM showed high efficacy against eggs and adults of *Fasciola hepatica* in experimentally infected sheep. The compound exerted similar efficacy to commercial fasciolicides, having advantage to its predecessor (triclabendazole) by using half of the dose required to remove flukes in the sheep under study.

Key words: phosphatriclaben, triclabendazole, *Fasciola hepatica*, benzimidazole.

CONTENIDO

| | Página |
|---|--------|
| RESUMEN | III |
| ABSTRACT | IV |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1 Antecedentes | 1 |
| 1.2. Justificación | 26 |
| 1.3. Hipótesis y Objetivos | 28 |
| II. MATERIALES Y MÉTODOS | 29 |
| III. RESULTADOS | 32 |
| IV. DISCUSIÓN | 42 |
| V. CONCLUSIÓN | 44 |
| LITERATURA CITADA | 45 |
| ANEXOS | |
| Anexo 1. Glosario | 51 |
| CUADROS | |
| INTRODUCCIÓN | |
| Cuadro 1. Duración del ciclo biológico de <i>F. hepatica</i> | 10 |
| Cuadro 2. Eficacia de fármacos fasciolicidas | 25 |
| RESULTADOS | |
| Cuadro A. Porcentaje de reducción de <i>F. hepatica</i> adulta | 33 |
| Cuadro B. Porcentaje de reducción de huevos de <i>F. hepatica</i> | 35 |
| FIGURAS | |
| INTRODUCCIÓN | |
| Figura 1. Espinas en tegumento de fasciolas | 5 |
| Figura 2. Morfología de <i>Fasciola hepatica</i> | 6 |
| Figura 3. Ciclo biológico de <i>F. hepatica</i> | 9 |
| Figura 4. Metacercarias enquistadas en plantas acuáticas | 10 |
| Figura 5. Metacercaria | 10 |
| Figura 6. Comparación hígado infestado e hígado sano | 12 |
| Figura 7. Lesiones producidas por fasciolas juveniles | 12 |

| | |
|--|----|
| Figura 8. Fasciolosis crónica: hipertrofia de conductos biliares | 12 |
| Figura 9. Migración aberrante de fasciolas hacia pulmones | 12 |
| Figura 10. Laguna de Zupitlán, Hgo. Mex., zona endémica | 14 |
| Figura 11. Edema submandibular (mal de botella) | 14 |
| Figura 12. Diagnóstico diferencial por morfología de huevos | 14 |
| Figura 13. Fasciolas adultas en ductos biliares | 14 |
| Figura 14. Caracoles de la familia Lymnaeidae | 15 |
| Figura 15. Caracoles de la familia Physidae | 15 |
| Figura 16. Zona de pastoreo apta para instalación de fasciolosis | 17 |
| Figura 17. Manejo parasitario integral. Prevalencia de fasciolosis | 18 |
| Figura 18. Estructura química del nitroxinil | 19 |
| Figura 19. Estructura química del closantel | 20 |
| Figura 20. Estructura química del clorsulon | 21 |
| Figura 21. Estructura química benzimidazoles | 23 |
| Figura 22. Bioconversión del fosfatriclaben a triclabendazol | 26 |
| MATERIALES Y MÉTODOS | |
| Figura a. CENID-Fisiología | 29 |
| Figura b. Corrales de ovinos | 29 |
| Figura c. Conteo de metacercarias | 29 |
| Figura d. Tratamientos | 30 |
| Figura e. Pesaje de ovinos | 30 |
| Figura f. Aplicación de tratamientos | 30 |
| RESULTADOS | |
| Figura A. Gráfica de reducción de porcentaje de fasciolas adultas | 34 |
| Figura B. Gráfica de reducción de porcentaje de huevos | 36 |
| Figura C. Gráfica de promedio de longitud de fasciolas | 37 |
| Figura D. Comparación de hígado tratado con uno no tratado | 41 |

I. INTRODUCCIÓN

La fasciolosis es una infección parasitaria causada por trematodos del género *Fasciola*, y la especie más frecuente es *Fasciola hepatica*, la cual se encuentra distribuida en todos los continentes e infecta a gran cantidad de mamíferos, incluyendo al ser humano (Martínez, *et.al.*, 2012). Esta enfermedad es una de las parasitosis más difundidas e importantes del ganado, produce una inflamación del hígado y de los conductos biliares, frecuentemente de carácter crónico y acompañada de trastornos nutritivos, que afecta a varias especies animales, en particular a los rumiantes (Ibarra, *et.al.*, 2011).

1.1. ANTECEDENTES

Importancia económica

La fasciolosis constituye un problema veterinario de distribución mundial y un importante problema de salud pública. Se estiman de unos 2.4 millones hasta 17 millones de casos humanos, o incluso más en regiones de Asia y África (Ashrafi y Mas-Coma, 2014). La fasciolosis provoca pérdidas económicas cuantiosas en el ganado debido a la reducción en la producción y en la calidad de la lana y de la leche; la disminución del porcentaje de partos; las menores tasas de crecimiento y de conversión alimenticia; el aumento de costos por la compra de reemplazos (Boray 2017); así como por el decomiso de los hígados parasitados (Rangel y Martínez, 1994). La muerte se presenta sobre todo en animales jóvenes y en infecciones masivas en ovinos (Carrada 2007). En México, esta parasitosis se ha diagnosticado en 29 de 31 estados (Ibarra, *et.al.*, 2011). Se estima que las pérdidas anuales en la industria de ganado bovino en México, debidas a la confiscación de hígados por hallazgo de *F. hepatica*, son de US\$ 4,239,667 dólares; y las pérdidas asociadas con los efectos de la fasciolosis en bovinos de carne y de leche se estiman en US\$130,906,653 dólares (Rodríguez, *et.al.*, 2017). Se ha calculado una pérdida del 21% del precio de venta en rastro por ovino al que se decomisa el hígado infectado con *F. hepatica* (Hernández, *et.al.*, 2013).

En las décadas de los 70-90s, hubo una serie de investigaciones sobre el impacto de *F. hepatica* en la producción ganadera, que presentaron resultados contradictorios. Mientras que algunos estudios no revelaron relación alguna, otros mostraban que la infección por *F. hepatica* estaba asociada con una serie de efectos en la producción. Los resultados contradictorios enfatizan la complejidad de la relación entre los niveles de infección identificados en el sacrificio y la pérdida de producción; que depende de factores como la duración de la infección, los tratamientos previos, la calidad del alimento y el manejo del ganado. Además esos estudios involucraban animales de diferentes razas, en un entorno controlado, por lo que su relevancia para un entorno de producción moderna no está clara (Mazeri, *et.al.*, 2017). Así mismo, el cálculo de las pérdidas económicas solía basarse en los registros de los hígados decomisados en rastros, lo cual proporciona datos útiles, pero sólo representa una pequeña parte de la pérdida real (Espinoza 2010). Por ejemplo, en México existen aproximadamente 1,535 rastros, de los cuales un 94.6 % son municipales y manejan el 80% de la matanza, el 2.2 % son rastros con características cercanas a los rastros Tipo Inspección Federal (TIF), con una matanza que representa el 11% del total anual nacional, y sólo un 3.8 % son rastros TIF que tienen un porcentaje del 9 % del sacrificio de cabezas de ganado en forma anual. Y es común que en los rastros municipales no se tengan registros completos y fidedignos de las causas de decomiso (Ibarra, *et.al.*, 2011). En países industrializados como el Reino Unido, se ha estimado que la inspección hepática en los rastros, tiene una sensibilidad del 68% y una especificidad del 88% (Mazeri, *et.al.*, 2016), clasificando erróneamente el 32% de animales verdaderamente positivos y el 12% de animales verdaderamente negativos; lo que resulta en una subestimación del efecto de la infección. Cabe señalar que cuando se utilizan los datos de los rastros, sólo se considera el peso, sin tomar en cuenta que la variabilidad en el peso se debe principalmente a las diferencias entre razas y sexo de los animales, originadas en sistemas con diferentes pesos objetivo. Además la prevalencia de fasciolosis aumenta con la edad, debido a la exposición acumulada al parásito; aumenta desde el 13% para

animales sacrificados a 300 días, hasta el 40% para los llevados a rastro a los 1100 días. Los agricultores retrasan el envío de animales que crecen lentamente para alcanzar los pesos objetivo deseados. Entonces, si la fasciolosis afecta el crecimiento, los animales infectados llegarían al matadero más tarde que los animales no infectados; lo que a su vez afecta la prevalencia de *F. hepatica*. Esto dificulta la separación de los efectos de la prevalencia, de los efectos del crecimiento (Mazeri, *et.al.*, 2017).

Por lo tanto, históricamente ha sido difícil demostrar un impacto económico de la fasciolosis en la producción ganadera, sin el cual es difícil para los ganaderos justificar la inversión en el control de la enfermedad. La estimación de este impacto financiero es cada vez más importante para permitir a los productores evaluar las medidas de control. Aunque no esté claro a qué niveles las cargas de la duela hepática causan pérdidas de producción (Mazeri, *et.al.*, 2017), la disponibilidad de muestreos basados en rastros, combinados con los resultados de diversas investigaciones, nos permiten contar con una aproximación. Se estima que el decomiso de hígados por fasciolosis en los países desarrollados varía entre un 10 y un 20 % de los animales llevados al rastro, mientras que en los países en desarrollo el decomiso está entre un 45 y un 55 % (Rangel, *et.al.*, 1999). Se calcula que en ganado bovino, la ganancia de peso diaria disminuye un 8% en infecciones leves, y un 28% en casos graves con 1000 metacercarias (Cawdery 1977). Vera en 2011 presentó una revisión de diversos estudios: la producción de leche puede reducirse en un 5-14%, según la carga parasitaria; también disminuyen los sólidos totales en la leche, afectando su calidad y precio. Después del tratamiento las mermas son del 8%. En términos de medida, la producción de leche puede disminuir en un rango de 0.5kg a 1kg por día en 305 días de lactación y disminuye un promedio de 0.328% los sólidos totales de la leche. Se estima una pérdida por lactación, de 90-300 kg de leche. Después de un tratamiento fasciolicida, aumenta del 38 al 66% el número de hembras gestantes en la primera inseminación. Se estima que la fasciolosis ocasiona 0.5 servicios extras por concepción y aumenta el intervalo entre partos en 20 días, lo cual eleva los costos

de alimentación, con bajas ganancias de peso y disminuye las ganancias de las empresas pecuarias. Ovinos infectados con 350 fasciolas causan una severa pérdida de peso e incluso la muerte (Vera 2011), esto se debe a que la fasciolosis ovina puede resultar en grandes pérdidas de sangre y por tanto, pérdida de energía metabolizable (Torgerson y Claxton, 1999). La pérdida de peso es más evidente en dietas deficientes de proteínas (Behm y Sangster, 1999). Otras investigaciones muestran que controlando la presencia de *F. hepatica*, pueden obtenerse ganancias de peso entre 6.2 y 10 kg en vacunos de carne, un aumento de 1 a 3% de crías, y un incremento en el peso al destete en un rango de 13.6 a 20 kg (Kaplan 2001). Estudios más recientes reportan un aumento del 6% en la ganancia de peso de novillas tratadas (Mazeri, *et.al.*, 2017). Investigaciones actuales han propuesto una serie de medidas más específicas, ajustando variables como edad, sexo y fin zootécnico. En un estudio de Mazeri, *et.al.* (2017), se formularon tres modelos para medir el retraso de crecimiento debido a *F. hepatica*: 1. el Servicio Sanitario de la Carne (SSC, inspección en rastro del Reino Unido); 2. una escala de puntos para la fibrosis en hígado; y 3. el número de la carga parasitaria. Se demostró que la edad de sacrificio aumenta a medida que aumenta la gravedad de la infección. Las mediciones se hicieron en bovinos de carne que producen 345kg de canal al sacrificio (ajustado por raza, sexo y los efectos a nivel de la finca). El ganado clasificado como infectado por el método del SSC, necesitó 10 días más para llegar al peso de sacrificio. El modelo de fibrosis mostró que un animal con una puntuación de fibrosis hepática de 1, 2 y 3 (dentro del modelo establecido), tarda en promedio 34, 93 y 78 días más, respectivamente, para alcanzar el peso de sacrificio cuando se compara con animales sin fibrosis hepática. Y a pesar de que estudios previos han determinado que sólo hay pérdidas significativas de producción cuando el animal tiene más de 10 ó 30 fasciolas; el modelo de carga parasitaria mostró que los animales con 1 a 10 parásitos tardan en promedio 31 días más en alcanzar el peso de sacrificio, mientras que los animales con más de 10 fasciolas al sacrificio toman 77 días más para alcanzar el peso. Los modelos de fibrosis y carga estiman un mayor retraso

en alcanzar el peso de sacrificio que el modelo de inspección en rastro (Mazeri, *et.al.*, 2017).

Taxonomía

Fasciola hepatica, referida comúnmente como duela del hígado (liver fluke) (Andrews 1999), es un parásito perteneciente al Phylum Platyhelminthes, Clase Trematoda, Orden Digenea (Rodríguez, *et.al.*, 2014). Una clasificación moderna basada en datos moleculares no reconoce la Clase Trematoda (que abarca tanto a Monogeneos como a Digeneos); en su lugar establece un Súper Grupo denominado Neodermata, que abarca a todos los parásitos conocidos como gusanos planos, incluyendo a los Digenea (Schmid 2011). Otros autores señalan a los Neodermata como un Subphylum del Phylum Platyhelminthes (Keiser, *et.al.*, 2009).

Morfología

El adulto tiene una forma foliácea, es aplanado dorso ventralmente, mide 18-51mm. x 4-13 mm. Carece de sistema circulatorio, los nutrientes llegan a todas sus células mediante difusión. El tegumento es metabólicamente activo, está cubierto por numerosas espinas dirigidas hacia atrás (Fig.1), y juega un importante papel en la absorción e intercambio de iones y nutrientes. Las espinas pueden facilitar el movimiento del parásito y su mejor sujeción a los tejidos del hospedador. Carece de algún órgano masticador, pero tiene una gran faringe muscular. Posee dos ventosas, la ventral más grande que la oral. El aparato digestivo y reproductor son muy ramificados especialmente los ciegos que son largos y con numerosos divertículos laterales. Es hermafrodita; los dos testículos ocupan la parte media corporal; el cirro está bien desarrollado y la bolsa del cirro

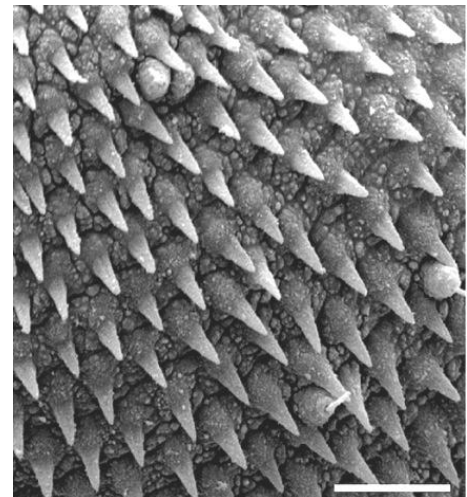


Fig 1. Espinas en tegumento de fasciolas de 2 semanas de edad (barra de escala 5µm). Microscopio electrónico de barrido, McCusker, *et.al.*, 2016.

incluye a la próstata y a la vesícula seminal. El ovario y el útero están localizados anteriormente a los testículos. Las glándulas vitelinas formadas por finos folículos ocupan los márgenes laterales del trematodo (Fig. 2), (Rojo y Ferré, 1999; McCusker, *et.al.*, 2016; Gunn y Pitt, 2012).

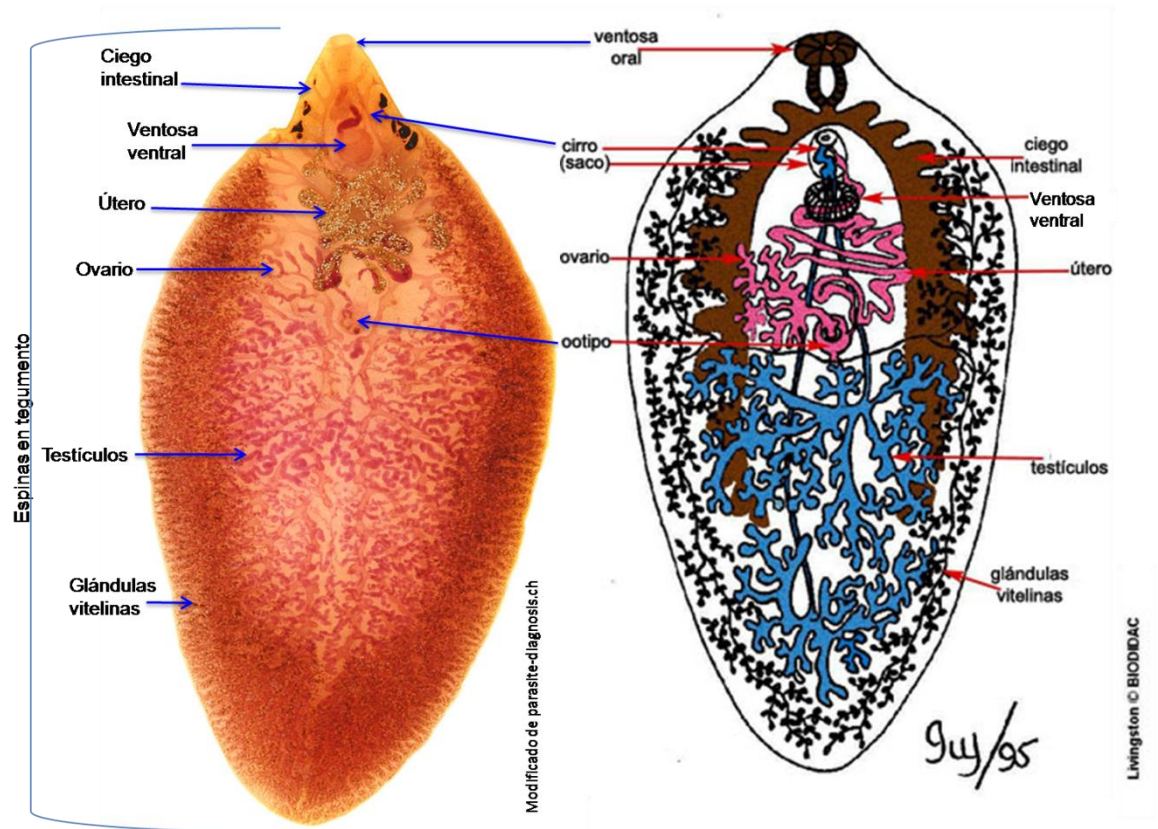


Fig. 2. Morfología de *Fasciola hepatica*.

Ciclo biológico

Los parásitos Digenea se caracterizan por tener un complejo ciclo de vida de uno o más hospedadores intermediarios. El ciclo de *F. hepatica* involucra la presencia de un caracol como hospedador primario o intermediario, en el cual ocurre la multiplicación larval; y de un mamífero como hospedador final o definitivo, donde ocurre la reproducción sexual (Andrews 1999; Moazeni y Ahmadi, 2016).

- a.** El **adulto** de *F. hepatica* (Fig. 3-a) es hermafrodita, pudiendo ocurrir auto fertilización, así como reproducción sexual por fertilización cruzada (Andrews 1999). Se localiza en hígado y conductos biliares de su hospedador final, comúnmente rumiantes y otros mamíferos herbívoros, aunque también puede habitar en omnívoros como cerdos y humanos, y ocasionalmente en carnívoros (Gunn y Pitt, 2012).
- b.** Los **huevos** (Fig. 3-b) son depositados por el parásito maduro en las vías biliares y llegan al duodeno junto con la bilis, para ser expulsados al ambiente con la materia fecal (Vera 2011).
- c.** El **embrión** (Fig. 3-c) se desarrolla si llega al agua dulce con las condiciones adecuadas (alrededor de 26°C y 80% de humedad), (Vera 2011).
- d.** El **miracidio** (Fig. 3-d) se libera por el opérculo del huevo. Es una larva ciliada, ovalada, con una papila, y con un par de manchas marrón que actúan como organelo fotoreceptor. Revestido de cilios que le permiten nadar activamente con fototropismo positivo y geotropismo negativo. Vive en el agua hasta 24 h, pero luego de 3-6 horas de su eclosión, pierde la capacidad de penetrar al caracol susceptible (Género *Lymnaea spp*, Fig. 3-k). El miracidio vierte una secreción histolítica que facilita su entrada al caracol (Vera 2011; Cruz 1986).
- e.** El **esporocisto** (Fig. 3-e) se desarrolla a partir de que el miracidio pierde los cilios; convirtiéndose en una larva oval alargada que forma masas germinales de células (Cruz 1986).
- f.** Las **redias** (Fig. 3-f) se generan de 5 a 8 por cada esporocisto. Cada redia da origen a redias hijas y cercarias (Vera 2011). Según las condiciones nutricionales y ambientales del caracol, se producen 1 ó 2 generaciones de redias (Cruz 1986).
- g.** La **cercaria** (Fig. 3-g) abandona la redia durante la noche. La luz y temperatura son factores que regulan su emergencia (Cruz 1986).
- h.** La **metacercaria** (Fig. 3-h) se forma luego de que la cercaria pierde la cola, se adhiere en cualquier superficie (incluso en el agua), y segrega a su alrededor un

quiste de doble pared. Es redonda, blanquecina con 4 membranas, mide 0.2mm de diámetro. Requiere 24 h para madurar y poder ser infectante en el hospedador final (Vera 2011).

i. Transmisión (Fig. 3-i, Fig. 4-5). El agua o las plantas acuáticas como el berro (*Nasturtium officinale*) y el pápalo (*Porophyllum ruderale*) contaminados con metacercarias, son ingeridos por el hospedador final (Cruz 1986).

j. La adolescencia (Fig. 3-j) es la forma juvenil del parásito. Sale del quiste en el duodeno y en el yeyuno, causando lesiones traumáticas y necróticas por su migración a través de la pared intestinal, cavidad peritoneal y cápsula hepática. En el parénquima hepático, los gusanos jóvenes (3-5mm de longitud) migran activamente y penetran los conductos biliares. Luego de un mes alcanzan la madurez sexual y comienzan a producir huevos (Cruz 1986; Gunn y Pitt, 2012).

Actualmente han surgido ideas alternas sobre la migración del parásito dentro del hospedero definitivo. Se considera la posibilidad de que algunas de las formas juveniles migrantes entren a los ductos biliares inmediatamente después de haber penetrado el parénquima hepático, cuando aún son muy pequeñas; o que quizás algunas de las fasciolas recién desenquistadas, después de atravesar la pared intestinal, entren directamente a los ductos biliares mediante el colédoco, sin atravesar el hígado, y ahí maduren. Estos supuestos surgen a partir de hechos como el que los ductos biliares son ricos en colágeno, difícil de penetrar por fasciolas de más de una semana de edad. Además de que existen hallazgos de la presencia de *F. hepatica* en los ductos biliares, sin daño en el parénquima hepático (Moazeni y Ahmadi, 2016).

En condiciones ambientales óptimas para el trematodo, su ciclo biológico completo dura aproximadamente 6 meses desde su ingestión por el hospedador final, hasta la formación de la metacercaria en medio hídrico (Cuadro 1).



Figura 3 (a-k). Ciclo biológico de *Fasciola hepatica*.



Fig.4. Metacercarias enquistadas en superficie de plantas acuáticas



Fig. 5. Metacercaria. Barra de escala 0.05mm.

Cuadro 1. Duración del ciclo biológico de *F. hepatica* en los diferentes medios que requiere para su desarrollo completo. Datos tomados de Vera (2011); Cruz (1986).

| Medio para su desarrollo | Fase del ciclo biológico | Duración* |
|---|--|----------------------------------|
| Dentro del mamífero (Hospedero final) 93-98 días | Alcanza el parénquima hepático post ingestión | 3-8 d |
| | Penetración en conductos biliares | 60 d |
| | Madurez sexual/Inicio de postura de huevos | 30 d |
| | Producción de huevos /evacuación con las heces | Hasta 11 años |
| En agua 15-23 días | Desarrollo del embrión | 14-21 d |
| | Movimiento activo del miracidio al salir del huevo | 6-8-h |
| | Sobrevivencia del miracidio fuera del huevo | 12-24 h |
| Dentro del caracol (Hospedero intermediario) 38-45 días | Transformación a esporocisto | 14 d |
| | Desarrollo de redias (1 a 2 generaciones) | 20-30 d |
| | Emergencia de las cercarias | 4-11 d (38-45 d pos penetración) |
| En agua 1 día | Enquistamiento sobre plantas o agua (metacercaria) | 20 a 30 minutos |
| | Maduración a forma infectante | 24 h |
| | Sobrevivencia de la metacercaria | 70 d a 4°C, 7 d a 33°C |

* d=días, h=horas

Patogénesis

La intensidad de la infección puede variar de acuerdo con la cantidad de metacercarias ingeridas, la fase de desarrollo del parásito en hígado, la especie y estado nutricional del hospedero (ovinos son más susceptibles que bovinos), si es primera infestación o reinfestación; incluso varía entre cada individuo. Antes de ingresar al hígado, las fasciolas recién desenquistadas no producen signos clínicos. La enfermedad ocurre en dos fases, la parenquimal durante la migración de las fasciolas a través del parénquima hepático, y la etapa biliar que coincide con su residencia en los ductos biliares. En los ovinos, la etapa biliar es común. En bovinos y humanos, sólo unas cuantas fasciolas sobreviven a la etapa migratoria (Taylor, *et.al.*, 2007; Quiroz 2011; Behm y Sangster, 1999). La presentación de la enfermedad puede ser aguda, subaguda y crónica. La enfermedad aguda ocurre a las 2-6 semanas luego de la ingestión de un gran número de metacercarias (alrededor de 2000 en ovinos). Hay hemorragias severas debido a que la migración simultánea de fasciolas jóvenes provoca ruptura de vasos sanguíneos. La destrucción del parénquima hepático es severa (Fig. 6), la abrasión causada por las espinas y la acción prensil de las ventosas parece ser responsable en mayor medida de este daño; y la muerte puede ocurrir repentinamente. En la enfermedad subaguda, las metacercarias son ingeridas por un periodo más largo, y mientras algunas ya alcanzaron los ductos biliares causando colangitis, otras migran por el parénquima hepático provocando lesiones menos graves. El hígado está agrandado con numerosas áreas necróticas o hemorrágicas (Fig. 7). Se presenta a las 6-10 semanas después de la ingestión de 500-1500 metacercarias. La presentación más común de la enfermedad es la crónica; ocurre a los 4-5 meses de haber ingerido unas 200-500 metacercarias. Las fasciolas adultas se alimentan repetidamente de la misma región, hasta provocar úlceras en el revestimiento del conducto biliar. Los principales efectos son la anemia e hipoalbuminemia. Pérdidas adicionales de proteínas plasmáticas ocurren por la fuga a través de la mucosa biliar hiperplásica (Fig. 8), y el efecto se exagera si el animal tiene un bajo nivel de nutrición. Los parásitos pueden tener un impacto en

la producción debido al deterioro del apetito y su efecto en la absorción de las proteínas, carbohidratos y minerales. En bovinos hay calcificación de los ductos biliares y agrandamiento de la vesícula biliar. No hay evidencia de que los ovinos adquieran resistencia a esta infección. (Taylor, *et.al.*, 2007; Gunn y Pitt, 2012; Behm y Sangster, 1999).



Fig 6. Izq: Hígado con lesiones por *F. hepatica*. Der: Hígado sano.

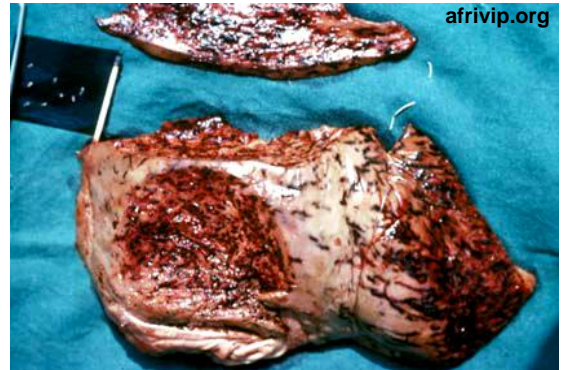


Fig 7 Hígado de ovino. Lesiones producidas por fasciolas juveniles (en rectángulo negro).



Fig 8. Fasciolosis crónica: hipertrofia de conductos biliares en hígado de cabra.



Fig. 9. Migración aberrante de fasciolas hacia los pulmones, causando hemorragia localizada.

Los ductos biliares pueden no ser la última estadía de las fasciolas migrantes; éstas pueden quedar encapsuladas en granulomas; entrar a la cavidad abdominal o a otros órganos como un parásito aberrante, morir y ser fagocitado por macrófagos; o continuar su migración y madurar. Se han reportado hallazgos del

parásito fuera del hígado, en los más diversos órganos y en distintos hospederos definitivos: en tejido subcutáneo, piel, tejido adiposo, ganglios linfáticos, páncreas, epidídimo, útero, pulmones (Fig. 9), cerebro, médula espinal, ojos, ciego, colon, y abdomen (compilado por Moazeni y Ahmadi, 2016). Las fasciolas con migración aberrante (infección ectópica) son más comunes en los bovinos. Si migran a los pulmones pueden generar neumonía, pleuritis fibrosa, y fluidos pleurales. En vacas gestantes infectadas pueden migrar hacia el feto, resultando en infecciones prenatales (Taylor, *et.al.*, 2007; Behm y Sangster, 1999).

Diagnóstico

La fasciolosis debe considerarse cuando hay muertes, anemia o mal estado en ovejas o ganado pastando en una región propensa a la enfermedad (Boray 2017). El diagnóstico se basa inicialmente en los signos clínicos, ocurrencia estacional, patrones climáticos prevalecientes (Fig. 10), y una historia previa de fasciolosis en la granja o la identificación de hábitats de caracoles hospederos (Taylor, *et.al.*, 2007). Los animales que sufren fasciolosis aguda podrían no presentar signos clínicos obvios; en algunos casos puede notarse debilidad, mucosas pálidas, disnea, hígado agrandado y palpable, asociado con dolor, y ascitis. Comúnmente ocurre una muerte abrupta. La enfermedad subaguda se caracteriza por la ictericia debida a una rápida y severa anemia hemorrágica con hipoalbuminemia; si no es tratada, la tasa de mortalidad es alta (a las 8-10 semanas), aunque no tan rápida como la aguda, ya que una o dos semanas antes de la muerte, puede mostrar un hígado engrandecido y palpable, edema facial, así como algunos de los signos que se presentan en la enfermedad crónica, la cual es la más frecuente y se caracteriza por una progresiva baja de condición, pérdida de apetito, anemia, hipoalbuminemia, emaciación, palidez de mucosas, edema submandibular (mal de botella, Fig. 11), ascitis; y en el laboratorio se diagnostica que la anemia está acompañada de eosinofilia. En infecciones leves, la baja productividad del animal puede confundirse con una nutrición inadecuada. (Boray 2017; Taylor, *et.al.*, 2007).



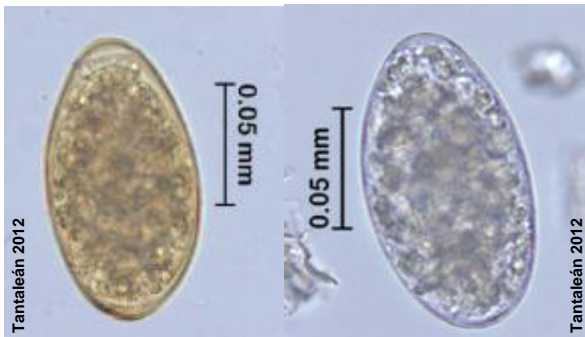
De Haro 2017

Fig 10. Laguna de Zupitlán, Tulancingo, Hidalgo, Mex. Zona endémica a fasciolosis.



afrivip.org

Fig 11. Edema submandibular (mal de botella).



Tantaleán 2012

Tantaleán 2012

Fig 12. Diagnóstico diferencial. Huevos ovalados, simétricos, operculados. Tantaleán 2012: Izq. Huevo de *F. hepatica*, mide 114-145(126) x 60-78 (65) μ m, color amarillo oro. Der: Huevo de *Paramphistomum spp.*, mide 112-136(128) x 65-75(70) μ m, color amarillo pálido. Ibarra 2011 caracteriza el huevo de *Paramphistomum spp* con longitud de 112-175 μ m y de color gris plateado.



moredun.org.uk

Fig 13. Presencia de fasciolas adultas en ductos biliares de hígado de ovino.

Los métodos más utilizados para el diagnóstico directo de la fasciolosis han sido los exámenes coprológicos y la necropsia (Rojo y Ferré, 1999). En animales vivos, la fasciolosis crónica se diagnostica por presencia de huevos de *F. hepatica* en muestras fecales (Fig. 12). Otras pruebas (ELISA, Coproantígenos) buscan antígenos en suero y en heces del hospedero, son más sensibles (detectan mejor los verdaderos positivos), y detectan infecciones por formas maduras e inmaduras (Boray 2017); sin embargo Mazeri, *et.al.* (2016), señalan que el conteo de huevos en heces tiene mayor especificidad que las pruebas serológicas de ELISA y Coproantígenos; además de que puede dar alguna idea de la carga parasitaria.

Así mismo, las pruebas inmunológicas, así como el diagnóstico molecular por PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), resultan costosos y requieren de laboratorios mayormente equipados; por lo que la técnica de Sedimentación (detección de huevos en heces), y la inspección del hígado a la necropsia, son los métodos mayormente utilizados para diagnosticar la enfermedad (Vera 2011). En el hígado se buscan fasciolas adultas o inmaduras (Fig. 13), así como las lesiones características (Boray 2017).

Epidemiología

Los dos requerimientos principales para el establecimiento de *F. hepatica*, son un caracol adecuado (el hospedero intermediario), y un ambiente apropiado para los huevos y las larvas de *F. hepatica*, así como para los caracoles susceptibles; tales como manantiales, corrientes lentas con bancos pantanosos, canales de riego y filtraciones (Boray 2017). Las especies de caracoles que se han registrado en México como hospederos intermediarios de *F. hepatica*, según datos recopilados por Cruz, *et.al.* (2010), pertenecen a la familia Lymnaeidae: *Lymnaea humilis*, *L. obrussa*, *L. truncatula*, *L. bulimoides*, *L. cubensis*, *L. tomentosa* (*Austropeplea tomentosa*), *L. viatrix* (*L. viator*), *L. attenuata* (*Stagnicola elodes*), *L. palustris*, *L. columella*, *L. cousini*, y *Fossaria modicella* (Sinonimias en Thompson 2008). Los caracoles de la familia Lymnaeidae presentan el giro de la concha hacia la derecha (concha *dextrógira* o *dextrosa*, García 1981), (Fig. 14); característica que los distingue de los caracoles de la familia Physidae, que no han sido reconocidos como hospederos intermediarios de *F. hepatica*, y cuya espiral de la concha gira hacia la izquierda (concha *levógira* o *sinestrosa*, García 1981), (Fig. 15).



Fig. 14. *Lymnaea cousini*. La concha de los caracoles hospederos intermediarios de *F. hepatica*, es dextrógira.



Fig. 15. *Physa acuta*. La concha de los Physidos es levógira. No son hospederos intermediarios de *F. hepatica*.

Los estadios larvales (esporocistos, redias), sobreviven dentro de esos caracoles durante largos periodos y reanudan su desarrollo cuando mejoran las condiciones climáticas (temperatura, lluvia), (Boray 2017). Las condiciones ambientales óptimas para la sobrevivencia del miracidio son: temperatura de 25-34°C, poca turbidez, pH 7-9 (5 o 10 son letales), salinidad NaCl al 5% es bien tolerado (7% los mata). Si las condiciones son adversas, disminuyen su actividad y orientación (Cruz 1986). Un único miracidio que eclosiona de un huevo de *F. hepatica*, puede producir hasta 4000 quistes infecciosos (Boray 2017).

Los principales factores ambientales que influyen en la producción de grandes números de metacercarias son: un adecuado hábitat para caracoles con suficiente humedad, como zanjas y arroyos, fuertes lluvias o inundaciones; una temperatura media de 10°C tanto para caracoles como para el desarrollo de las fases larvares dentro y fuera del caracol; a 5°C cesa su desarrollo, así como el de los huevos de *F. hepatica* (Taylor, *et.al.*, 2007). Las metacercarias requieren un 70% de humedad relativa para sobrevivir; a 12-14°C puede sobrevivir hasta el 100% de ellas por 6 meses, mientras que sólo el 5% sobrevive por 10 meses (Torgerson y Claxton, 2009).

La producción de huevos de *F. hepatica* en su fase adulta, es responsable del grado de contaminación de los pastizales. Pone entre 20,000 y 50,000 huevos al día. Sobrevive hasta por 11 años en el hígado de las ovejas infectadas. En los bovinos, la producción de huevos disminuye a medida que el animal desarrolla una resistencia natural a las infecciones crónicas (Boray 2017; Quiroz 2011). La epidemiología de la enfermedad está influenciada por los hábitos de pastoreo de los animales (Fig. 16). Los bovinos a menudo pastan en las zonas húmedas, lodosas, favorecidas para el caracol; por lo que los huevos se depositan en un ambiente adecuado. En cambio los ovinos y las cabras prefieren pastar lejos de pastos lodosos, sin embargo en periodo seco, después de una estación húmeda, son más propensos a ingerir grandes cantidades de quistes, al verse obligados a pastar en áreas lodosas, lo que resulta en una infección intensa (Boray 2017).



Fig. 16. Zona de pastoreo adecuada para el establecimiento de la fasciolosis.

F. hepatica tiene una distribución mundial, pero predomina en zonas templadas (Andrews 1999). Las largas estaciones húmedas suelen asociarse con una mayor tasa de infección (Boray 2017). En México, algunos estudios han encontrado prevalencias que van del 73-100% en Hidalgo, Tabasco, Estado de México, Michoacán, y Veracruz; del 31-70 en Guanajuato, Tlaxcala, Morelos, Puebla, Jalisco, Durango, Aguascalientes, y Oaxaca; del 2-21.5% en Sonora, Chiapas, Chihuahua, Coahuila, Tamaulipas, Zacatecas y San Luis Potosí. Baja California Sur, Yucatán y Quintana Roo se reportan como libres (Vera 2011).

Control

Los beneficios económicos precisos del control de la fasciolosis son difíciles de cuantificar debido a las interacciones entre factores fisiológicos, nutricionales, y factores climáticos/geográficos (Fig. 17). La interacción entre estos factores causa una tremenda variación en la infectividad de los pastos y las consecuencias fisiológicas de la infección de año en año y de rancho a rancho. Estos factores, combinados con diferencias en el diseño experimental, causan una gran variación entre los estudios con respecto a los beneficios que conlleva el control de la

fasciolosis. Sin embargo, la mayoría de los estudios demuestran que los beneficios económicos son sustanciales (Kaplan 2001).

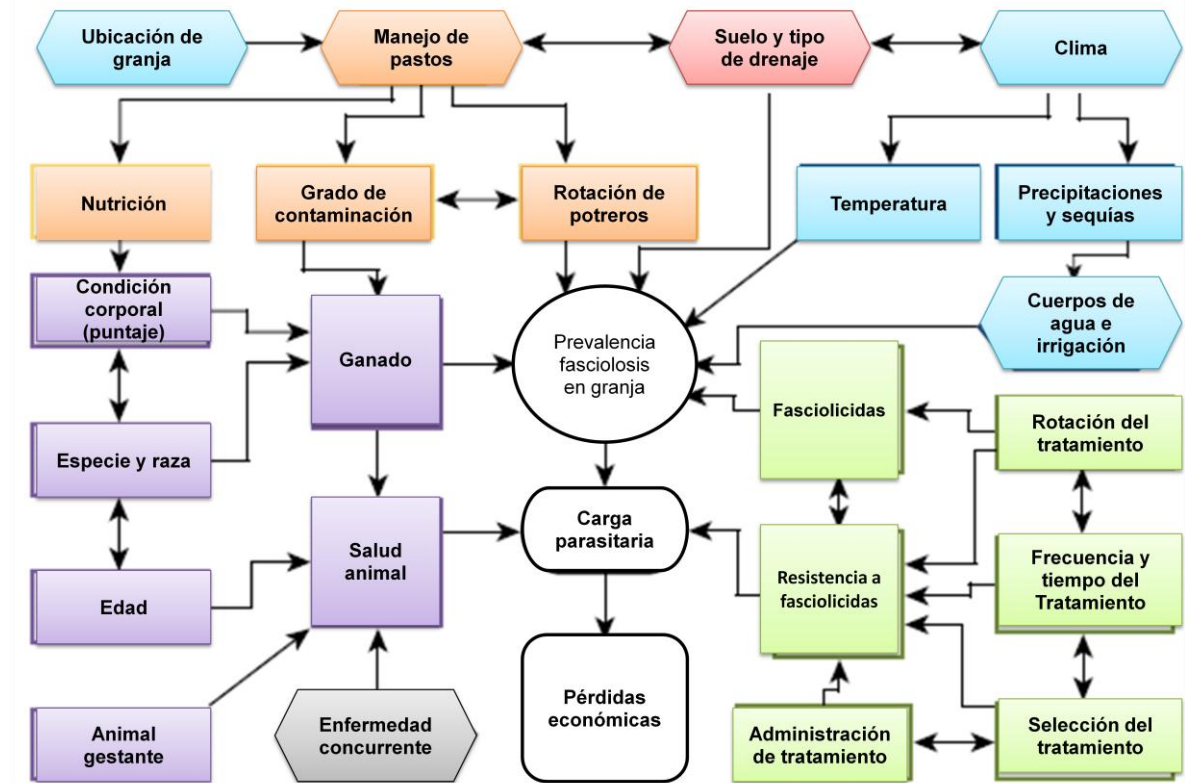


Fig. 17 Manejo parasitario integral. Factores que influyen la prevalencia de *F. hepatica* en una granja. (Modificado de Kelley, *et.al.*, 2016).

Se sabe que en la producción extensiva de ganado, la presencia y porcentaje de fasciolas es mayor que en la producción intensiva, probablemente por su esquema de manejo y medicina preventiva (Hernández, *et.al.*, 2013). Por lo tanto, el control de la fasciolosis debe enfocarse más en medidas preventivas que curativas, tales como el uso estratégico de tratamiento antihelmíntico para reducir tanto el número de fasciolas en el hospedero como el número de huevos de *F. hepatica* en el pasto; reducir las poblaciones del caracol que funge como hospedero intermediario; y manejar las áreas propensas a *F. hepatica* para reducir la exposición a la infección (Boray 2017; Taylor 2007). El tratamiento del ganado puede disminuir la frecuencia e intensidad de la infección en caracoles (Cruz, *et.al.*, 2011).

Quimioterapia

Durante varias décadas, la quimioterapia, tanto en México como a nivel mundial, ha sido la forma habitual de control de la fasciolosis, en virtud de haber demostrado ser, hasta el momento, el método más eficaz para eliminar los parásitos cuando se encuentran en el hospedero definitivo (Ibarra 2010). Su control se realiza generalmente mediante el uso de fasciolicidas de estos grupos químicos: Salicilanilidas, Benzimidazoles, Sulfonamidas, Fenoxialquenos, y Fenoles halogenados (Ibarra, *et.al.*, 2011). En México se comercializan solos o combinados los fasciolicidas closantel, rafoxanida (salicilanilidas); albendazol, triclabendazol (benzimidazoles); clorsulon (sulfonamida), nitroxinil (fenol halogenado), (PEV 2017).

Las funciones que preservan la vida del parásito están basadas principalmente en mantener un sitio de alimentación ventajoso y en utilizar el alimento ingerido para generar energía necesaria para la realización de sus procesos vitales. Además, el parásito requiere de una adecuada coordinación muscular para estar adherido al sitio de alimentación. Por lo tanto, las bases farmacológicas del modo de acción de la mayoría de los antihelmínticos, generalmente involucran la interferencia de las funciones del parásito relacionada con los procesos de: obtención de energía, coordinación neuromuscular, y reproducción (Pérez 2010).

Nitroxinil

Fenol halogenado con fórmula química 4-hidroxi-3-yodo-5-nitroben-zonitrilo (Fig.18), utilizado por primera vez a fines de la década de los 60s como un fasciolicida inyectable para uso en ovinos y bovinos, haciendo ventajoso su manejo respecto a otros antiparasitarios administrados por vía oral; sin embargo, aunque la

tolerancia en el sitio de inyección es satisfactoria, un edema inflamatorio de carácter transitorio se observa ocasionalmente en bovinos. Es efectivo contra *F. hepatica* y algunos nematodos. Se ha propuesto que el mecanismo de acción de

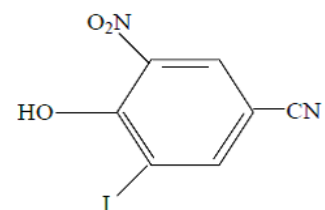


Fig. 18. Estructura química del Nitroxinil.

los fenoles halogenados, consiste en el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa (inhiben la actividad de las enzimas succinato deshidrogenasa y fumarato reductasa). A través de este mecanismo desconectan las reacciones mitocondriales responsables del transporte de electrones durante la generación de energía necesaria para mantener el metabolismo y la actividad muscular del parásito; provocándole una rápida parálisis espástica que lo separa de su sitio de sujeción y lo lleva a la desnutrición, por lo que tiene que hacer un consumo de sus reservas energéticas como un intento de supervivencia, y esto produce algunos cambios químicos que lo afectan. Debido a que estos compuestos inhiben también la fosforilación oxidativa de las células del hospedero, su margen de seguridad no es muy amplio, aunque sí lo suficientemente adecuado para utilizarlo en niveles de dosificación correctos (Pérez 2010; Ibarra 2010). La dosificación en ovinos y bovinos, es de 10mg/kg vía subcutánea; dosis más altas pueden presentar mayor actividad frente a estados larvarios, sin embargo, aumenta la susceptibilidad del hospedero a la acción tóxica. Se elimina muy lentamente a través de la orina y heces durante un período de 30 días, que es el periodo de retiro. También se elimina por la leche, por lo que no debe administrarse en animales lactando (Pérez 2010). El nitroxinil no es efectivo administrado por vía oral, ya que es degradado por los microorganismos ruminales (Boray 2017).

Closantel

Es un antihelmíntico del grupo de las salicilanilidas, descubierto en los 70s (Janssen y Sipido, 1977). Su nombre químico es N-(5 Cloro-4-Clorofenil)-Cianometil) 2 Metilfenil)-2- Hidroxi-3,5

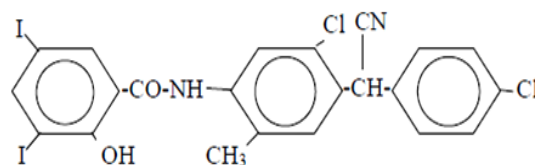


Fig. 19 Estructura química del Closantel

diyoduro benzamida (Fig. 19). Es efectivo contra fasciolas de más de 8 semanas de edad, y contra algunos cestodos y artrópodos. Se considera que el mecanismo de acción de las salicilanilidas (closantel, rafoxanida), es el mismo que el de los fenoles halogenados (desacoplamiento de la fosforilación oxidativa), (Pérez 2010).

La presentación inyectable del closantel al 5% (Closantil[®]-Chinoín veterinaria) se dosifica a 1ml/10kg, aplicación única, subcutánea (5mg/kg), (PEV 2017). Se han detectado concentraciones del fármaco dentro de rangos superiores a 0.1ug/ml de plasma por períodos de hasta 112 días (Pérez 2010). En estudios comparativos de eficacia con base en la reducción de huevos de *F. hepatica*, el closantel ha presentado de 92% hasta >97% de eficacia (Ibarra, *et.al.*, 2002; Romaniuk, *et.al.*, 1995).

Clorsulon

Es un derivado sulfonamida, su fórmula química es 4-amino-6-tricloroetiril-1,3-benceno-disulfonamida (Fig. 20). Tiene elevada eficacia contra fasciolas adultas. Se ha propuesto que el mecanismo de acción de las sulfonamidas consiste en la interrupción de la glucólisis, por inhibición de la

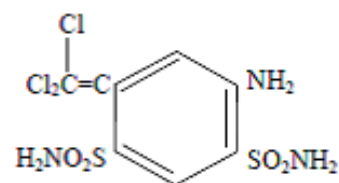


Fig. 20. Estructura química del Clorsulon.

enzima glucolítica fosfoglicerato quinasa y la fosfoglicero mutasa, lo que trae como consecuencia una inhibición selectiva de la utilización de glucosa, acetato y formación de propionato; es decir, disminuye la producción de energía del parásito, así como su motilidad (Martín 1997). El clorsulon comercializado como preparado inyectable asociado a Ivermectina, tiene una menor eficacia comparada con la forma de dosis oral, sobre todo para estadios inmaduros, debido a que la dosificación vía subcutánea es menor; sin embargo, esta asociación de fármacos tiene una actividad antiparasitaria contra nematodos, trematodos y ectoparásitos (Kaplan 2001). El medicamento Ivomec-F[®]-Merial, (Clorsulon 100mg/1ml, Ivermectina 10mg/1ml) se dosifica a 1ml/50kg, subcutánea, con una concentración de 100mg/1ml; por lo que está administrando 2mg/kg de clorsulon (PEV 2017). Estudios indican que el trematodo ingiere el clorsulon después de 21.6 h (t max.), con una vida de eliminación de 30 h (Pérez 2010). Algunos reportes presentan datos del 90 hasta >99% de eficacia contra etapas adultas, y de 85 a 95% contra estados inmaduros de 8 a 12 semanas de edad. Sin embargo, se ha discutido si

en realidad presenta buena eficacia contra estados inmaduros desde las 8 semanas de edad (Kaplan 2001; Ibarra 2010; Boray 2017; Pérez 2010).

Benzimidazoles

El descubrimiento del tiabendazol en 1961 marcó el inicio del desarrollo comercial de los benzimidazoles y propició la síntesis de nuevos compuestos (Sumano y Ocampo, 2006). Los nuevos derivados han aportado una mayor seguridad de uso, un espectro más amplio de actividad, y una considerable eficacia contra diversos estados inmaduros de *F. hepatica*. Todos los benzimidazoles comparten una estructura básica central común, constituida por un grupo carbamato (Fig. 21-A). Las diferencias de eficacia y farmacocinética que existen entre los distintos compuestos, se explican por modificaciones químicas que experimenta el núcleo básico. De este grupo, se consideran fasciolicidas el albendazol contra estados adultos y el triclabendazol contra estados adultos e inmaduros del parásito (Pérez 2010). Los benzimidazoles actúan en el citoesqueleto a nivel de la tubulina, una proteína estructural de los microtúbulos (organelos involucrados en la motilidad, la división y los procesos de secreción de las células de todo organismo viviente). La unión selectiva con la tubulina (enlazan la β -tubulina con la α -tubulina), evita su polimerización a microtúbulos, interrumpiendo los procesos vitales del parásito como la alimentación y digestión. Dado que su mecanismo de producción de energía está bloqueado, decrece la absorción y digestión de glucosa, y como inhiben la fumarato reductasa, limitan la utilización de la glucosa ya presente en el parásito. El uso de las vías fermentativas y del metabolismo anaeróbico a que recurre el parásito, difieren de las vías aeróbicas principales del hospedador. Es por ello que este grupo de fármacos es activo únicamente frente a los parásitos, sin verse afectadas las células del hospedador. Por su parte, los pro-benzimidazoles, deben ser metabolizados en el organismo del hospedero hacia benzimidazoles verdaderos y ejercer así su acción antiparasitaria (Kelley, *et.al.*, 2016; Sumano y Ocampo, 2006; Ibarra 2010; Pérez 2010). A diferencia de otros fasciolicidas, los benzimidazoles son rápidamente metabolizados en el organismo

a metabolitos sulfóxidos, los cuales son responsables de su actividad sobre las fasciolas. Presentan una mayor absorción intestinal y una elevada tasa de unión a las proteínas del plasma; factores que determinan una mayor persistencia en la sangre del hospedero, lo que facilita la captación del antihelmíntico por parte de las fasciolas. Cuentan con escasa toxicidad y amplio índice terapéutico. Sin embargo, tienen una limitada solubilidad en agua, por lo que sólo se administran por la vía oral (Pérez 2010).

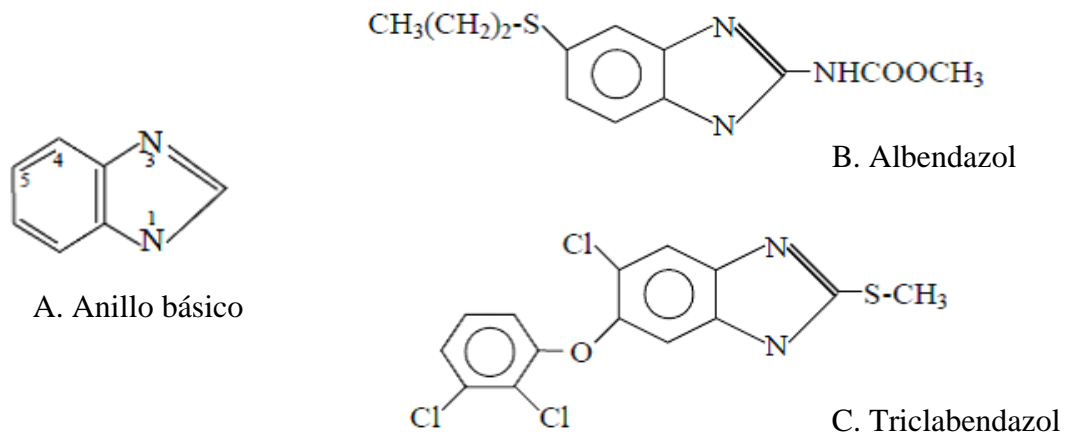


Fig. 21. Estructura química de los benzimidazoles. A. Anillo básico de donde se obtienen los benzimidazoles. Los lugares 2, 5 y 6 son los que casi siempre se modifican. B. Albendazol (benzimidazol carbamato). C. Triclabendazol (benzimidazol halogenado).

Albendazol

El albendazol pertenece al grupo de los benzimidazoles carbamatos, su nombre químico es metil-5-(propiltio)-2-benzimidazol-carbamato (Fig. 21-B). Se administra vía oral; también es eficaz contra nematodos y cestodos. Como fasciolicida, la dosis antihelmíntica debe incrementarse de 5 mg/kg a 7,5-10 mg/kg. Presenta mayor eficacia en cuadros crónicos contra fasciolas de más de 12 semanas de edad; se ha reportado un rango variable que va de 76%-92%, a 95-100% de

eficacia. Contra estados inmaduros su actividad es pobre, al igual que el clorsulon, no mata la etapa juvenil migratoria (<8 semanas de edad). En dosis altas, puede presentar actividad teratógena (Kaplan 2001; Pérez 2010).

Triclabendazol

El triclabendazol es un benzimidazol halogenado introducido en los años 80s. Su nombre químico es 6-cloro/5-(2,3 diclorofenoxi)-2-metil-tiobenzimidazol (Fig. 21-C). Ha demostrado una elevada actividad contra estadios inmaduros y adultos de *F. hepatica*, tanto en estudios experimentales como en ensayos de campo (Kelley 2016; Pérez 2010). En ovinos se ha reportado una eficacia de 93-98% en fasciolas de una semana de edad y de 99-100% en fasciolas de más de 4 semanas de edad (Boray, *et.al.*, 1983). En otros estudios esta eficacia disminuye un poco (Turner, *et.al.*, 1984), pero en general, la mayoría de las investigaciones establecen porcentajes de 99%-100% contra fasciolas adultas y datos muy similares contra estadios inmaduros. Esta eficacia fasciolicida está asociada principalmente a su metabolito sulfóxido, y a la concentración de éste en el hígado y en la bilis. Este metabolito se inactiva en gran medida por oxidación a sulfona antes de la excreción (Pérez 2010). Su actividad antiparasitaria es específica contra *F. hepatica*, por lo que suele asociarse con ivermectina para ampliar su espectro contra nematodos y ectoparásitos. Fasimec[®]-Novartis, combinado de triclabendazol 120g/1000ml, con ivermectina 2g/1000ml, se dosifica a 5ml/50kg, vía oral; a una concentración de 120g/1000ml, por lo que se está administrando 12mg/kg (PEV 2017). El triclabendazol tiene un índice de seguridad de 40 en dosis de 5mg/kg, y de 20 en dosis de 10mg/kg; es decir, una dosis máxima tolerada de 200mg/kg (Boray y Happich 1967; Wolff, *et al.*, 1983); lo cual indica un alto índice de seguridad. El tiempo de absorción en ovinos se estima en un máximo de 25 h; y la concentración plasmática de los metabolitos se halla en un valor máximo de 120 h (Formentini, *et.al.*, 2004). A las 8 h de administrado oralmente, más del 95% del fármaco es eliminado con las heces, aproximadamente un 2% con la orina, y menos del 1% con la leche; el tiempo de retiro es de 28 días (Eckert, *et.al*, 1984).

El mecanismo de acción preciso del triclabendazol aún no está claro a pesar de años de investigación, sin embargo, es el mayormente utilizado como fasciolicida, por ser el único fármaco que mata tanto formas adultas como inmaduras de *F. hepatica* (Kelley, *et.al.*, 2016). Por esta característica, el triclabendazol es el fármaco de elección contra la fasciolosis aguda, administrado a una sola dosis (rotando a potrero libre de fasciolas, o drenando adecuadamente los potreros), (Taylor 2007). Los casos crónicos pueden ser tratados con triclabendazol, nitroxinil, closantel, albendazol (Taylor 2007), o clorsulon (Pérez 2010). La eficacia contra estadios larvarios y adultos de *F. hepatica*, se resume en el cuadro 2.

Cuadro 2. Eficacia antihelmíntica comparativa y seguridad de fármacos adecuados para el tratamiento de la fasciolosis en ovinos y bovinos. (Modificado de Boray 2017).

| Ingrediente activo | Índice de seguridad ¹ a la dosis recomendada | Eficacia de más del 90% a la dosis recomendada | | | | | | |
|-------------------------|---|--|---|---|---|----|-----|----|
| | | Semanas de edad de las fasciolas | | | | | | |
| | | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 | 14 |
| Triclabendazol | 20 | + | + | + | + | + | + | + |
| Closantel | 5.3 | | | | + | + | + | + |
| Nitroxinil ² | 4.0 | | | | | + | + | + |
| Albendazol | 6.0 | | | | | | +/- | + |
| Clorsulon + Ivermectina | 20 | | | | | | + | + |

¹Índice de seguridad=Dosis tolerada máxima dividida por la dosis recomendada. ²Nitroxinil (como Trodax®-Merial, es un fármaco discontinuado en México, según informes de Labs.Merial-Toluca, Edo.Mex, Junio 2017).

Fosfatriclaben

Se sintetizó un nuevo compuesto derivado del triclabendazol, denominado fosfatriclaben. Es un profármaco diseñado con un grupo fosfonoximetilo ionizable en la posición 1 del núcleo benzimidazol (Flores, *et.al.*, 2017), (Fig. 22).

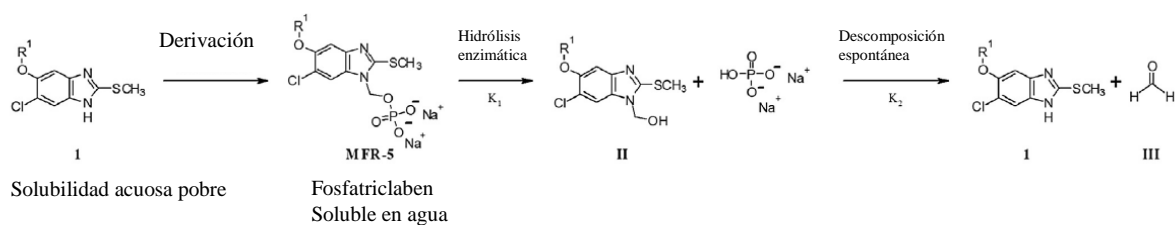


Fig. 22. La bioconversión del fosfatriclaben (MFR-5) a triclabendazol, sucede en dos pasos. Primero, una completa defosforilación con una enzima fosfatasa alcalina para generar el intermediario hydroxymetilol (II=2,3-diclorofenil) y en un segundo paso, la descomposición química espontánea de II para obtener triclabendazol y formaldehído (Flores, *et.al.*, 2017).

Este compuesto obtuvo un aumento de solubilidad acuosa de 88.000 veces más que la de su precursor, el triclabendazol; y permitió la formación de una solución acuosa para su administración parenteral gracias a su pH neutro de 7, ideal para esta vía de administración desde el punto de vista fisiológico, facilitando también su aplicación y manejo veterinario. Mostró una excelente estabilidad acuosa (>95% después de 26 horas). Es decir, el fosfatriclaben tiene suficiente estabilidad acuosa para garantizar que el compuesto administrado *in vivo* como solución inyectable, es el profármaco y no el compuesto original (Flores, *et.al.*, 2017). Así mismo, el fosfatriclaben cuenta con ciertas características que, desde el punto de vista terapéutico, debe presentar un antihelmíntico ideal; tales como un amplio margen de seguridad, facilidad de administración y estabilidad química (Pérez 2010).

1.2. JUSTIFICACIÓN

La fasciolosis no ha disminuido, por lo que se manifiesta la necesidad de producir compuestos fasciolicidas eficaces contra todos los estadios evolutivos de *F. hepatica*, y que resulten competitivos con el triclabendazol, que está considerado como el mejor químico a nivel mundial (Ibarra 2010); e incluso ha sido aprobado para su uso en humanos (Villegas, *et.al.*, 2012).

Por otro lado, se sabe que los benzimidazoles (incluido el triclabendazol), tienen baja solubilidad en agua, lo que limita su absorción por vía gástrica y por tanto su distribución (Sumano y Ocampo, 2006). De tal manera que es necesaria su

solubilización en los fluidos gastrointestinales, para facilitar la absorción a través de la mucosa digestiva y lograr una adecuada biodisponibilidad plasmática (Pérez 2010). Es por ello que se han sintetizado una serie de compuestos análogos al triclabendazol, como parte de un programa de síntesis de nuevos compuestos antihelmínticos y con el fin de obtener más información acerca de los requerimientos estructurales para la actividad antihelmíntica; entre ellos el denominado compuesto Alfa (Ibarra 2010; Hernández, *et.al.*, 2002), un derivado benzimidazólico que se administra vía oral, de gran eficacia fasciolicida, pero baja solubilidad en agua; por lo que su solubilización constituyó la alternativa para obtener la formulación inyectable (Munguía, *et.al.*, 2010); ya que la administración oral no siempre es práctica para grandes grupos de animales. Además, la vía parenteral tiene otras ventajas como un efecto más rápido, una biodisponibilidad elevada y no se ve afectada por el metabolismo, por lo que el profármaco permanece perfectamente estable hasta alcanzar el objetivo, y luego se convierte rápida y cuantitativamente en el fármaco activo (Flores, *et.al.*, 2017).

Está bien establecido que cuando un fármaco no se puede tomar por vía oral debido a sus limitaciones de absorción, la administración parenteral es la vía de administración deseada. La mayoría de los ésteres fosfato utilizados en formulaciones parenterales son profármacos solubles de los fármacos primarios poco solubles en agua. Los profármacos de éster fosfato presentan varias ventajas para la formulación y desarrollo de compuestos poco solubles en agua. Son químicamente estables, y mejoran considerablemente la solubilidad en agua para permitir la administración oral o parenteral; se hidrolizan fácilmente mediante fosfatasas endógenas para liberar los compuestos primarios farmacológicamente activos y fosfatos (Ates y Adejare, 2012). Además, desde una perspectiva económica y ecológica, la vía parenteral reduce los costos porque se administra una menor cantidad de fármaco; y a su vez, contribuye a la mejora del medio ambiente en virtud de que el fármaco eliminado en heces y orina, es menor que aquél que se libera de animales tratados por la vía oral.

1.3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis

El tratamiento con fosfatriclaben reducirá en 95% el porcentaje de huevos y de formas adultas de *Fasciola hepatica* en ovinos infectados experimentalmente.

Objetivos

Objetivo general: Comparar y evaluar la eficacia fasciolicida del fosfatriclaben con tres fasciolicidas comerciales, en ovinos infectados en forma experimental.

Objetivos específicos:

- a. Determinar el porcentaje de reducción de huevos de *Fasciola hepatica* en los grupos tratados con referencia al testigo sin tratamiento.
- b. Determinar el porcentaje de reducción de fasciolas adultas en los ovinos de estudio.
- c. Determinar posibles diferencias estadísticamente significativas entre grupos y tratamientos.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

Localización: El estudio se realizó en el Centro Nacional de Investigación Disciplinaria Fisiología (CENID-Fisiología) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), ubicado en Ajuchitlán Querétaro (Fig. a).



Fig. a. CENID-Fisiología.

Animales: Se adquirieron 30 ovinos criollos, provenientes de los alrededores del CENID-Fisiología, de sexo indistinto, con un peso promedio de 25 kg, los cuales fueron alojados en corrales cubiertos, con piso de cemento, con agua a libre acceso y



Fig. b. Corrales de ovinos

alimentados con alfalfa y alimento concentrado para ovinos, producidos en el CENID (Fig. b). Fueron tratados con Fenbendazol (Actuol 10% suspensión® Senosiain Lab.) a la dosis recomendada por el fabricante (5ml/100kgpv, dosis única, oral), para eliminar parásitos nematodos.

SICUAE: Se contó con aprobación del Subcomité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales Experimentales (SICUAE), protocolo MC-2017/2-2.

Análisis fecal e infección: En el día -8 se colectaron muestras fecales de cada ovino para corroborar mediante la técnica de sedimentación espontánea (Magaró, *et.al.*, 2017), que estaban libres de huevos de *F. hepatica*. En el día 0, cada ovino recibió por vía oral, 200 metacercarias de *F. hepatica* con 15 días de enquistadas y conservadas en refrigeración a 5°C

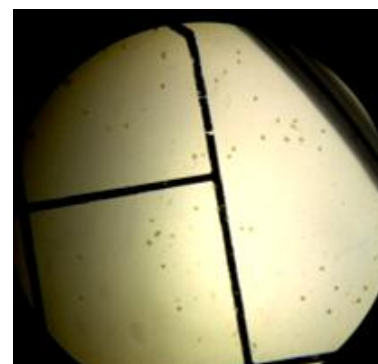


Fig. c. Conteo de metacercarias. Microscopio estereoscópico.

(Fig. c). En el día 50 se administraron otras 200 metacercarias de *F. hepatica* a cada ovino. En el día 80 se tomaron muestras fecales de los ovinos para comprobar que todos estaban infectados por *F. hepatica*. Dado que las condiciones de alojamiento fueron controladas (dentro de corrales, no en pastoreo), no hubo riesgo de reinfección.

Conducción del estudio: En el día 80 los ovinos se dividieron aleatoriamente en 5 grupos de 6 animales cada uno, para realizar los tratamientos (Fig. d-f), de acuerdo con el siguiente esquema:

El **Grupo 1** recibió Closantel inyectable al 5% (Closantil[®]-Chinoín veterinaria) a la dosis recomendada por el fabricante (1ml/10kg, dosis única, subcutánea).

El **Grupo 2** recibió Clorsulon (Ivomec-F[®]-Merial, combinado Clorsulon 100mg/1ml con Ivermectina 10mg/1ml) a la dosis recomendada (1ml/50kg, subcutánea).

El **Grupo 3** se trató con Triclabendazol (Fasimec[®]-Novartis, combinado Triclabendazol 120g/1000ml con Ivermectina 2g/1000ml) a la dosis recomendada (5ml/50kg, oral).

Al **Grupo 4** se le administró una dosis única de fosfatriclaben a razón de 6mg/kg, intramuscular.

El **Grupo 5** se utilizó como testigo infectado sin tratamiento.



Fig. d. Tratamientos.



Fig. e. Pesaje de ovinos para cálculo de dosificación.



Fig. f. Aplicación de tratamientos.

En el día 110 se tomaron muestras fecales para determinar el porcentaje de reducción de huevos después del tratamiento; y los ovinos fueron sacrificados humanitariamente en el Rastro Tipo Inspección Federal (TIF) de Santiago de Querétaro. Se colectaron los hígados, todas las fasciolas presentes fueron extraídas de los conductos biliares y de la vesícula biliar, y después los hígados fueron trozados en pequeñas porciones para una búsqueda exhaustiva. Se registró el número total de fasciolas presentes en cada hígado, así como la longitud de cada fasciola para determinar si existía una posible disminución en el tamaño de los parásitos hallados en los grupos tratados, con respecto al grupo testigo.

Evaluación: La eficacia fue medida como porcentaje de reducción de fasciolas adultas, y como porcentaje de reducción de huevos; con referencia al grupo testigo sin tratamiento, utilizando la fórmula sugerida por Wood, *et.al.*, (1995):

$$\text{Eficacia} \begin{matrix} \text{(\% de reducción de fasciolas adultas)} = \frac{\text{Promedio de fasciolas en el grupo testigo} - \text{Promedio de fasciolas en el grupo tratado}}{\text{Promedio de fasciolas en el grupo testigo}} \times 100 \end{matrix}$$

$$\text{Eficacia} \begin{matrix} \text{(\% de reducción de huevos de } F. \text{ hepatica)} = \frac{\text{Promedio de huevos en el grupo testigo} - \text{Promedio de huevos en el grupo tratado}}{\text{Promedio de huevos en el grupo testigo}} \times 100 \end{matrix}$$

Análisis estadístico: Los resultados fueron analizados con el paquete estadístico IBM® SPSS® Statistics (versión 23-2015). Se aplicaron pruebas de homogeneidad de varianzas (Estadístico de Levene); así como pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk). Cuando las diferencias fueron significativas, la comparación de medias se realizó con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, con la finalidad de determinar si había diferencias significativas entre los cuatro grupos tratados (grupos experimentales 1-4), y entre estos grupos con respecto al grupo testigo no tratado (grupo 5). Un valor de $p < 0.05$ fue considerado como el nivel crítico de significancia para todos los procedimientos.

III. RESULTADOS

La eficacia del fosfatriclaben contra *Fasciola hepatica* adulta, se resume en el cuadro A, y se presenta gráficamente en la figura A. Se demostró que todos los ovinos del grupo testigo (no tratados), infestados con 200 metacercarias por 2 ocasiones, tenían una infestación promedio de 31 fasciolas cada ovino. Mientras que en los 4 grupos tratados, infestados con el mismo número de metacercarias, la media no fue mayor a 2 fasciolas por ovino. El porcentaje de eficacia de los 4 medicamentos fue arriba del 90%. El fosfatriclaben mostró una eficacia fasciolicida de 95.7%.

El porcentaje de reducción de huevos de *Fasciola hepatica*, se presenta en el cuadro B, y se grafica en la figura B. Se demostró que en las heces de todos los ovinos del grupo testigo, se mantuvo e incrementó de manera importante el número de huevos de *F. hepatica*, teniendo un promedio inicial de 28 huevos por ovino, hasta llegar a una media final de 204 huevos. Mientras que en los 4 grupos tratados hubo una baja en el número de huevos después del tratamiento. En este caso, el clorsulon presentó mejor eficacia que el closantel, en tanto que en la reducción de fasciolas, el resultado fue inverso. El fosfatriclaben mostró una eficacia de 97.3% en la reducción de huevos de *F. hepatica*.

La longitud de las fasciolas se resume en la figura C. En el grupo testigo se encontraron fasciolas con un rango de longitud de 14-27mm, con una moda de 20mm de longitud. Los 4 grupos tratados se distribuyeron dentro del mismo rango de longitud, aunque con menor frecuencia con respecto al grupo testigo, lo cual es relativo y consistente con el gran número de fasciolas colectadas en el grupo testigo y el bajo número de fasciolas que se aislaron de los 4 grupos tratados. Cabe señalar que las medidas más bajas (14-20mm) fueron para el grupo tratado con fosfatriclaben, en tanto, las medidas más altas, aparte del testigo, fueron para el grupo tratado con closantel (24-27mm).

Cuadro A. Eficacia medida como porcentaje de reducción de *F. hepatica* adulta en ovinos criollos infectados en forma experimental*.

| Grupo/dosis | Ovino No. | Peso (Kg) | Dosis (ml) | No. Fasciolas día 110 | Eficacia % |
|--|-----------------|--------------|------------|-----------------------|-------------|
| 1 Closantel 5% [50mg/1ml] Dosis 5mg/kg 1ml/10kg SC | 1791 | 42 | 4.20 | 0 | 96.2 |
| | 1789 | 42 | 4.20 | 1 | |
| | 1792 | 39 | 3.90 | 0 | |
| | 1790 | 36 | 3.60 | 0 | |
| | 1795 | 42 | 4.20 | 0 | |
| | 1794 | 49 | 4.90 | 6 | |
| | Total | 250 | | 7 | |
| | Promedio | 41.67 | | 1.17 | |
| 2 Clorsulon [100mg/1ml] Dosis 2mg/kg 1ml/50kg SC | 1787 | 45 | 0.90 | 0 | 91.9 |
| | 1782 | 45 | 0.90 | 5 | |
| | 1776 | 48 | 0.96 | 0 | |
| | 1781 | 46 | 0.92 | 0 | |
| | 1786 | 50 | 1.00 | 4 | |
| | 1750 | 38 | 0.76 | 6 | |
| | Total | 272 | | 15 | |
| | Promedio | 45.33 | | 2.50 | |
| 3 Triclabendazol [120g/1000ml] Dosis 12mg/kg 1ml/10kg Oral | 1779 | 43 | 4.30 | 0 | 99.4 |
| | 1784 | 52 | 5.20 | 0 | |
| | 1735 | 46 | 4.60 | 0 | |
| | 1751 | 47 | 4.70 | 0 | |
| | 1740 | 43 | 4.30 | 0 | |
| | 1775 | 38 | 3.80 | 1 | |
| | Total | 269 | | 1 | |
| | Promedio | 44.83 | | 0.17 | |
| 4 Fosatriclaben Dosis 6mg/kg | 1774 | 52 | 2.38 | 0 | 95.7 |
| | 1711 | 35 | 1.60 | 0 | |
| | 1709 | 40 | 1.83 | 6 | |
| | 1730 | 38 | 1.74 | 2 | |
| | 1729 | 38 | 1.74 | 0 | |
| | 1718 | 35 | 1.60 | 0 | |
| | Total | 238 | | 8 | |
| | Promedio | 39.66 | | 1.33 | |
| 5 Testigo Sin tratamiento | 1796 | 36 | --- | 11 | 0 |
| | 1719 | 38.2 | --- | 30 | |
| | 1721 | 37 | --- | 49 | |
| | 1797 | 39 | --- | 33 | |
| | 1724 | 30 | --- | 42 | |
| | 1793 | 47 | --- | 18 | |
| | Total | 227.2 | | 186 | |
| | Promedio | 37.86 | | 31 | |

*200 metacercarias el día 0 y 200 más el día 50.

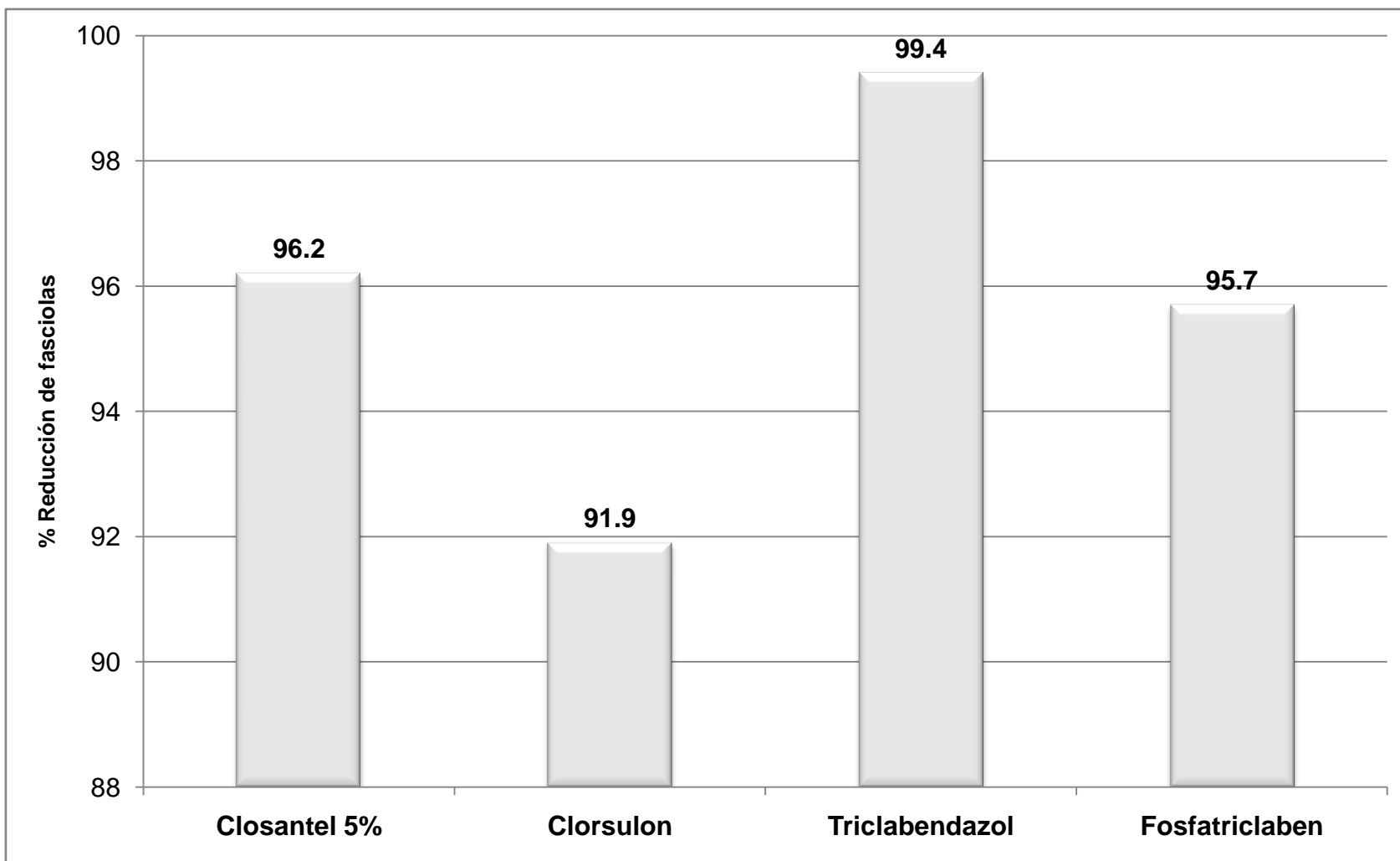


Fig. A. Eficacia contra fascioliasis adultas en ovinos criollos infectados en forma experimental.

Cuadro B. Porcentaje de reducción de huevos de *F. hepatica*, antes y después del tratamiento con los fasciolicidas en ovinos criollos infectados en forma experimental.

| Tratamiento Día 80 | Ovino No. | No. huevos, día 75 (Antes del Tx.) | No. huevos, día 105 (Después del Tx.) | % Reducción de huevos* |
|---------------------------------|-----------------|---------------------------------------|--|---------------------------|
| 1 Closantel 5% SC | 1791 | 75 | 13 | 86.8 |
| | 1789 | 208 | 89 | |
| | 1792 | 144 | 0 | |
| | 1790 | 37 | 0 | |
| | 1795 | 110 | 0 | |
| | 1794 | 13 | 60 | |
| | Total | 587 | 162 | |
| | Promedio | 97.83 | 27.00 | |
| 2 Clorsulon SC | 1787 | 17 | 13 | 90.5 |
| | 1782 | 13 | 24 | |
| | 1776 | 28 | 0 | |
| | 1781 | 27 | 6 | |
| | 1786 | 19 | 32 | |
| | 1750 | 56 | 41 | |
| | Total | 160 | 116 | |
| | Promedio | 26.67 | 19.33 | |
| 3 Triclabendazol Oral | 1779 | 16 | 0 | 98.4 |
| | 1784 | 36 | 0 | |
| | 1735 | 129 | 0 | |
| | 1751 | 12 | 0 | |
| | 1740 | 28 | 20 | |
| | 1775 | 29 | 0 | |
| | Total | 250 | 20 | |
| | Promedio | 41.67 | 3.33 | |
| 4 Fosfatriclaben IM | 1774 | 12 | 0 | 97.3 |
| | 1711 | 17 | 11 | |
| | 1709 | 14 | 0 | |
| | 1730 | 15 | 22 | |
| | 1729 | 18 | 0 | |
| | 1718 | 36 | 0 | |
| | Total | 112 | 33 | |
| | Promedio | 18.67 | 5.50 | |
| 5 Testigo Sin tratamiento | 1796 | 16 | 79 | 0.0 |
| | 1719 | 18 | 472 | |
| | 1721 | 12 | 39 | |
| | 1797 | 9 | 29 | |
| | 1724 | 5 | 508 | |
| | 1793 | 111 | 98 | |
| | Total | 171 | 1225 | |
| | Promedio | 28.5 | 204.17 | |

*Utilizando la fórmula sugerida por Wood *et al.* 1995.

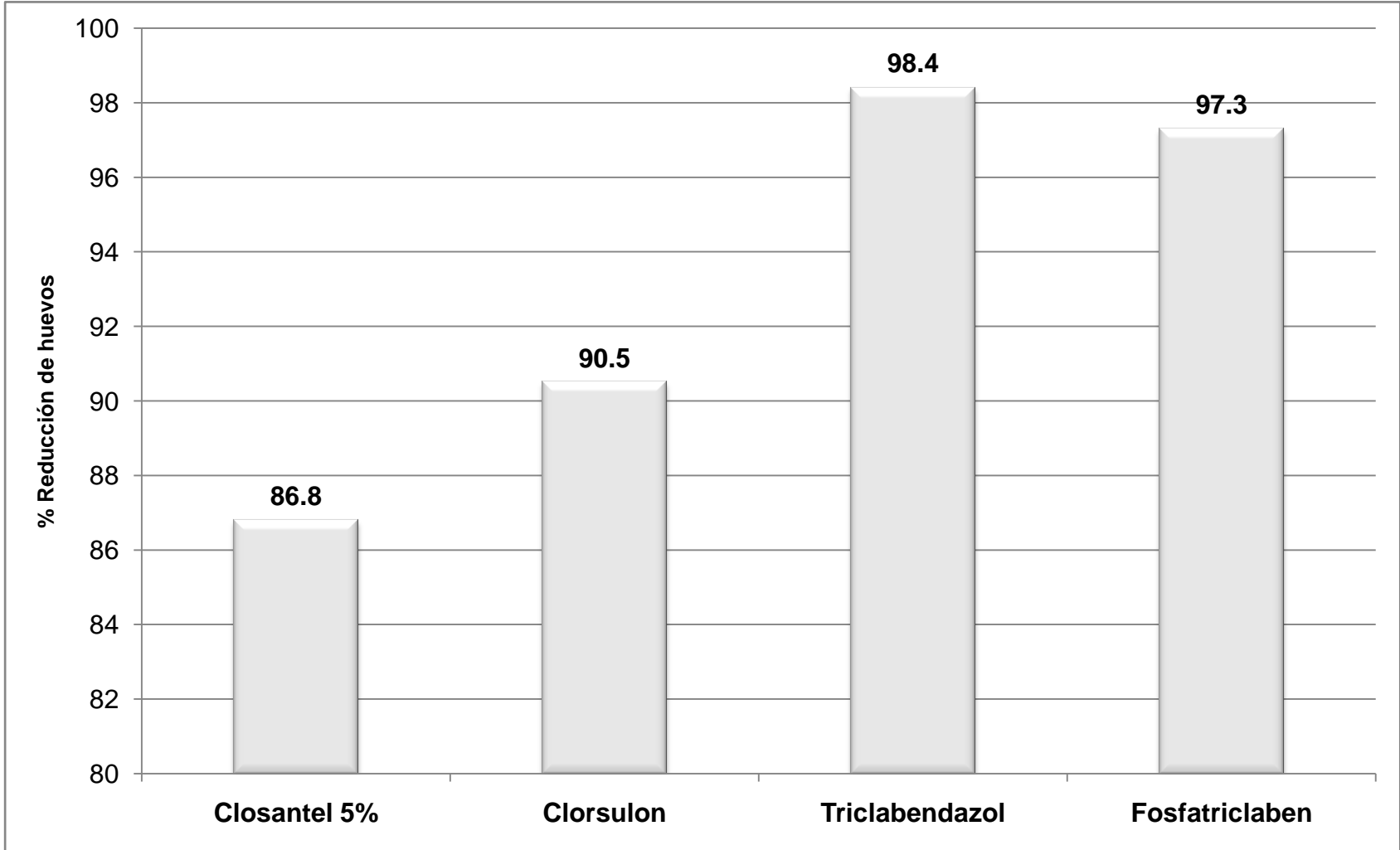


Fig B. Porcentaje de reducción de huevos de *F. hepatica* pos tratamiento con cuatro fasciolicidas en ovinos criollos infectados experimentalmente.

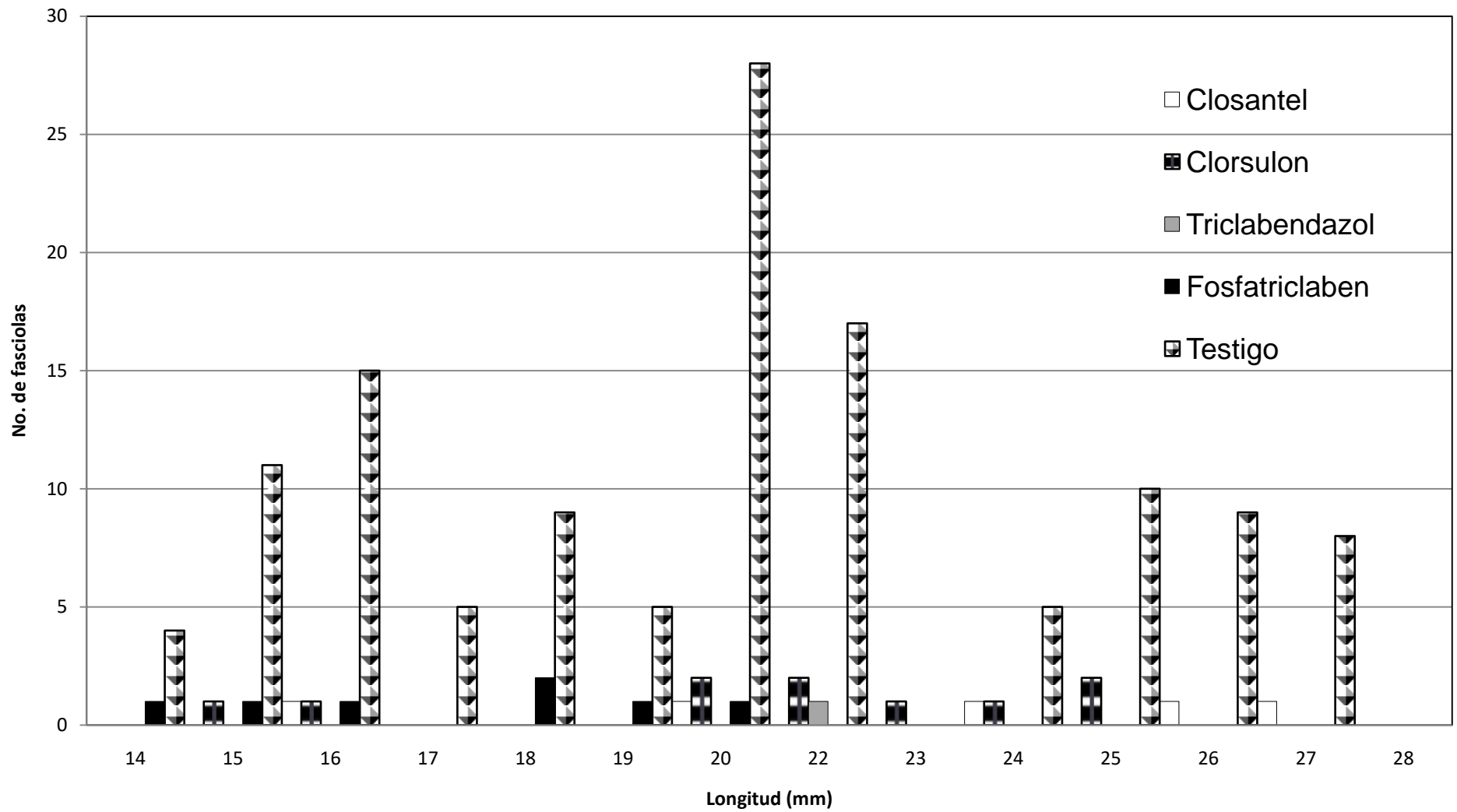


Fig. C. Longitud promedio de fasciolas adultas colectadas de los grupos experimentales.

El **análisis estadístico** rechazó la homogeneidad de varianzas, así como la normalidad en la distribución, tanto del número de fasciolas, como del número final de huevos. Por lo que en ambos casos se llevó a cabo la prueba de Kruskal-Wallis. A continuación se presenta un resumen de estos resultados.

A. Número de fasciolas colectadas de hígados de ovinos de los 5 grupos experimentales.

Prueba de homogeneidad de varianzas

No. de fasciolas

| Estadístico de Levene | gl1 | gl2 | Sig. |
|-----------------------|-----|-----|-------------------|
| 7.917 | 4 | 25 | .000 ^a |

a. Ha: No hay homogeneidad de varianzas $p < 0.05$

Interpretación: Se encuentra significación estadística ($p < 0.05$), lo que lleva a aceptar la hipótesis alternativa y asumir la no-homogeneidad de varianzas.

Prueba de normalidad

| Grupo | Shapiro-Wilk | | |
|--|--------------|----|-------------------|
| | Estadístico | gl | Sig. |
| 1. Closantel | .594 | 6 | .000 ^a |
| 2. Clorsulon | .798 | 6 | .056 |
| No. fasciolas 3. Triclabendazol | .496 | 6 | .000 ^a |
| 4. Fosfatriclaben | .666 | 6 | .003 ^a |
| 5. Testigo | .971 | 6 | .900 |

a. Ha: No se distribuye normal $p < 0.05$

Interpretación: Se encuentra significación estadística ($p < 0.05$) en los grupos 1,3,4; lo que lleva a aceptar la hipótesis alternativa y asumir la no-normalidad en la distribución de la variable No. de fasciolas.

Prueba de Kruskal-Wallis para los grupos tratados (1-4)

Estadísticos de prueba^{a,b}

| | No. fasciolas |
|-----------------|-------------------|
| Chi-cuadrado | 2.072 |
| gl | 3 |
| Sig. asintótica | .558 ^c |

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: tx

c. Ho: No hay diferencias significativas $p > 0.05$

Interpretación: $0.558 > 0.05$. No tenemos pruebas para rechazar la hipótesis nula; se concluye que no existe evidencia suficiente que indique que hay diferencias significativas en el número de fasciolas halladas en los hígados de borregos tratados con los 4 fármacos (grupos experimentales 1-4), con un nivel de significancia del 5% ($P > 0.05$).

Prueba de Kruskal-Wallis para el grupo testigo (5) con relación a los grupos tratados (1-4)

Estadísticos de prueba^{a,b}

| | No. fasciolas |
|-----------------|-------------------|
| Chi-cuadrado | 17.548 |
| Gl | 4 |
| Sig. asintótica | .002 ^c |

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: tx

c. Ha: Existen diferencias significativas $p < 0.05$

Interpretación: Se encuentra significación estadística ($p < 0.05$), lo que lleva a aceptar la hipótesis alternativa y asumir que existe evidencia suficiente que indica que hay diferencias significativas entre el grupo testigo y los 4 grupos tratados (1-4), en cuanto al número de fasciolas halladas en los hígados de los ovinos no tratados y tratados.

B. Número de huevos en heces de los ovinos de los 5 grupos experimentales.

Prueba de homogeneidad de varianzas

Número de huevos en heces

| Estadístico de Levene | gl1 | gl2 | Sig. |
|-----------------------|-----|-----|-------------------|
| 28.822 | 4 | 25 | .000 ^a |

a. Ha: No hay homogeneidad de varianzas $p < 0.05$

Interpretación: Se encuentra significación estadística ($p < 0.05$), lo que lleva a aceptar la hipótesis alternativa y asumir la no-homogeneidad de varianzas.

Prueba de normalidad

| Grupo | Shapiro-Wilk | | |
|---------------------------------------|--------------|----|-------------------|
| | Estadístico | gl | Sig. |
| 1. Closantel | .773 | 6 | .033 ^a |
| 2. Clorsulon | .965 | 6 | .854 |
| No. huevos en heces 3. Triclabendazol | .496 | 6 | .000 ^a |
| 4. Fosfatriclaben | .701 | 6 | .006 ^a |
| 5. Testigo | .747 | 6 | .019 |

a. Ha: No se distribuye normal $p < 0.05$

Interpretación: Se encuentra significación estadística ($p < 0.05$) en los grupos 1,3,4; lo que lleva a aceptar la hipótesis alternativa y asumir la no-normalidad en la distribución de la variable No. de huevos.

Prueba de Kruskal-Wallis para los grupos tratados (1-4)

| | No. huevos en heces |
|-----------------|---------------------|
| Chi-cuadrado | 4.138 |
| Gl | 3 |
| Sig. asintótica | .247 ^c |

- a. Prueba de Kruskal Wallis
- b. Variable de agrupación: tx
- c. Ho: No hay diferencias significativas $p > 0.05$

Interpretación: $0.247 > 0.05$. No tenemos pruebas para rechazar la hipótesis nula; se concluye que no existe evidencia suficiente que indique que hay diferencias significativas en el número de huevos hallados en las heces de los ovinos tratados con los 4 fasciolidas (grupos experimentales 1-4), con un nivel de significancia del 5% ($p > 0.05$).

Prueba de Kruskal-Wallis para el grupo testigo (5) con relación a los grupos tratados (1-4)

| | No. huevos en heces |
|-----------------|---------------------|
| Chi-cuadrado | 15.868 |
| Gl | 4 |
| Sig. asintótica | .003 ^c |

- a. Prueba de Kruskal Wallis
- b. Variable de agrupación: tx
- c. Ha: Existen diferencias significativas $p < 0.05$

Interpretación: Se encuentra significación estadística ($p < 0.05$), lo que lleva a aceptar la hipótesis alternativa y asumir que existe evidencia suficiente que indica que hay diferencias significativas entre el grupo testigo (5) y los grupos experimentales (1-4), en cuanto al número de huevos hallados en heces de los ovinos no tratados y tratados.

Conclusión estadística: No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los 4 grupos tratados (grupos experimentales 1-4) en cuanto al número de fasciolas y en cuanto al número de huevos colectados después de la aplicación de los fármacos, con un nivel de significancia de 5% ($p > 0.05$). Se encontraron diferencias significativas entre el grupo testigo (5) con respecto a los demás grupos experimentales (1-4) en cuanto al número de fasciolas y en cuanto al número de huevos, con un nivel de significancia de 5% ($p < 0.05$).

Otros resultados

No se observaron efectos secundarios o de toxicidad inducidos por el fosfatriclaben y los animales no mostraron dolor durante su administración intramuscular. Por otro lado, en todos los ovinos del grupo testigo se observaron signos de infestación en el hígado, caracterizados por lesiones en el parénquima hepático y fibrosis temprana (Fig. D).



Fig. D. Arriba: Hígado de ovino del grupo tratado con fosfatriclaben, sin presencia de *F. hepatica*. Abajo: Hígado de ovino del grupo testigo, presentando lesiones características de fasciolosis como engrosamiento de conductos biliares (flecha).

IV. DISCUSIÓN

En este estudio se acepta la hipótesis planteada, comprobando que el tratamiento con fosfatriclaben reduce en más del 95% el porcentaje de huevos y de formas adultas de *Fasciola hepatica*, en ovinos criollos infectados experimentalmente. Utilizando una dosis de 6mg/kg IM de fosfatriclaben, se obtuvo una eficacia del 97.3% y del 95.7%, contra huevos y adultos, respectivamente. Estos resultados concuerdan con los mostrados en un estudio previo de evaluación del fosfatriclaben contra fasciolas adultas en ovinos Rambouillet; donde se obtuvo una actividad fasciolicida excelente a una dosificación de 4, 6 y 8 mg/kg IM, con una tasa de reducción de fasciolas de 96.8%, 98.3% y 99.2%, respectivamente. Importa señalar que con las 3 diferentes dosis, se eliminó el 100% de los huevos de *F. hepatica* (Flores, *et.al.*, 2017).

Por otro lado, el fosfatriclaben muestra una eficacia bastante aproximada a la ejercida por los mejores fasciolicidas comerciales, incluyendo a la de su precursor el triclabendazol, que sigue siendo el único fármaco que mata tanto formas adultas como inmaduras de *F. hepatica* (Kelley, *et.al.*, 2016). Esta ventaja queda también manifiesta al comparar el fosfatriclaben con closantel y clorsulon, en virtud de que estos dos fasciolicidas comerciales tienen excelente eficacia pero sólo a partir de fasciolas de 8 semanas de edad (Boray 2017). Se espera contar con más evaluaciones de campo y pruebas controladas para establecer un intervalo de eficacia con mayor precisión; como sucedió con la introducción del triclabendazol, cuyos estudios reportaron eficacia variable que iba de 93-100%, hasta porcentajes más cerrados de 99% o 100%, utilizando la misma dosis por vía oral y los mismos estadios de fasciolas (Smeal y Hall, 1984; Boray, *et.al.*, 1983). Cabe aclarar que como se trata de un derivado del triclabendazol, existe una equivalencia a los valores establecidos para éste; como un alto índice de seguridad (Boray y Happich, 1967; Wolff, *et.al.*, 1983); y el tiempo de retiro de 28 días (Eckert, *et.al.*, 1984); término que fue considerado en esta investigación para realizar el sacrificio de los grupos experimentales en el día 30 pos tratamiento; lo cual también fue

consistente con el lapso de tiempo que se considera adecuado para medir la eficacia de un fasciolicida (14 semanas post infección), (Dorchies, *et.al.*, 1983; Turner, *et.al.*, 1984).

El concepto profármaco ha encontrado un número de aplicaciones útiles en la investigación y desarrollo de fármacos (Ates y Adejare, 2012), mayormente en medicina humana. Por ejemplo, el fosfluconazol es un profármaco con un grupo fosfato que hace más soluble a su precursor fluconazol (antifungal de amplio espectro), y disminuye considerablemente el volumen de medicamento a aplicar vía intravenosa (Bentley, *et.al.*, 2002; Sobue, *et.al.*, 2004). La fosfenitoína es un profármaco ester fosfato que se desarrolló como una alternativa a la fenitoína intravenosa para tratamiento de convulsiones, sus ventajas incluyen una administración intravenosa más rápida, disponibilidad de la vía intramuscular, y un bajo potencial de reacciones locales adversas en el sitio de inyección (Fischer, *et.al.*, 2003). En el caso del fosfatriclaben, su pH neutro, alta solubilidad y estabilidad acuosa, lo hacen conveniente para la administración parenteral; los animales no muestran dolor en el sitio de inoculación, ni aparecen efectos secundarios o de toxicidad (Flores, *et.al.*, 2017), tal como se corroboró en esta investigación. Su aplicación intramuscular tiene las ventajas de facilitar la administración a grandes grupos de animales, y de tener un impacto ambiental menor al usar una dosis más baja que la del triclabendazol; además de estar mostrando una alta eficacia contra huevos y estadios adultos de *F. hepatica*.

El presente estudio, es una contribución muy importante que complementa y ayuda a dilucidar la actividad fasciolicida de este profármaco experimental diseñado para administración intramuscular.

Futuros estudios de evaluación biológica, farmacocinéticos y de toxicidad, determinarán el real potencial del compuesto para su posible utilización en el control de la fasciolosis en ovinos y bovinos.

V. CONCLUSIÓN

El Fosfatriclaben aplicado a 6mg/kg/IM, mostró alta eficacia contra huevos y adultos de *Fasciola hepatica* en ovinos infectados en forma experimental. El compuesto generó una eficacia similar a los fasciolicidas comerciales, confiriendo ventaja a su antecesor (triclabendazol) al usar la mitad de la dosis requerida para remover fasciolas en los ovinos en estudio.

REFERENCIAS

1. MARTÍNEZ SR, DOMENECH CI, MILLÁN MJC, PINO SA. Fascioliasis, revisión clínico-epidemiológica y diagnóstico. Rev Cubana Hig Epidemiol, La Habana, Cuba, 2012; 50(1).
2. IBARRA VF, VERA MY, MUNGUÍA XJ. Epidemiología de la fasciolosis animal y humana. En QUIROZ RH *et al* (editores). Epidemiología de enfermedades parasitarias en animales domésticos. México: FMVZ-UNAM, 2011: 137-172.
3. ASHRAFI K., MAS-COMA S. *Fasciola gigantica* transmission in the zoonotic fascioliasis endemic lowlands of Guilam, Iran: Experimental assessment. Vet Parasitol. 198, 2014: 96-105.
4. BORAY JC. Liver fluke disease in sheep and cattle. Australia: NSW Department of Primary Industries, 2017:14pp. Disp. en: www.dpi.nsw.gov.au/factsheets
5. RANGEL RLJ, MARTÍNEZ DE. Pérdidas económicas por decomiso de hígados y distribución geográfica de la fasciolosis bovina en el estado de Tabasco. Vet Mex. México, 25 (4), 1994: 327- 31.
6. CARRADA BT. *Fasciola hepatica*: Ciclo biológico y potencial biótico. Rev Mex Patol Clin, Gto. México., Vol. 54, Núm. 1, 2007: 21-27.
7. RODRIGUEZ VRI, GRISI L, PÉREZ DLAA, SILVA VH, TORRES AJFJ, FRAGOSO SH, ROMERO SD, ROSARIO CR, SALDIERNA F, CARRASCO D. Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico. Review. Rev Mex Cienc Pecu, 8(1); 2017: 61-74.
8. HERNÁNDEZ HJ, CARREÓN LL, CAMACHO RJC, UTRERA F, VILLARREAL EO, GALENO HD. Fasciolosis presente en rebaños ovinos con impacto productivo en la región centro-norte del estado de Puebla. RedVet, Vol 14, N.11B, 2013:8.
Disp.en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n11113B.html>
9. MAZERI S, RYDEVIK G, HANDEL I, BRONSVOORT BMC, SARGISON N. Estimation of the impact of *Fasciola hepatica* infection on time taken for UK beef cattle to reach slaughter. Weight Scientific Reports [7:7319] DOI:10.1038/s41598-017-07396-1, 2017:15.
10. ESPINOZA JR, TERASHIMA A, HERRERA VP, MARCOS LA. Fasciolosis humana y animal en el Perú: impacto en la economía de las zonas endémicas. Rev Perú Med Exp Salud Pública, 27(4), 2010:604-612.
11. MAZERI S, SARGISON N, KELLY RF, BRONSVOORT BMC, HANDEL I. Evaluation of the performance of five diagnostic tests for *Fasciola hepatica*. Infection in naturally infected cattle using a Bayesian no gold standard approach. PLOS ONE [DOI:10.1371/, 2016: 1-22.

12. RANGEL LJ, RUIZ RM, IZQUIERDO GB, NOGUEIRA. Bovine fasciolosis in Tabasco, México. *Veterinary Parasitology*. Vol 81, Issue 2, 1999:119-127.
13. CAWDERY MJ, STRICKLAND KL, CONWAY A, CROWE PJ. Production effects of liver fluke in cattle. I. The effects of infection on liveweight gain, feed intake and food conversion efficiency in beef cattle. *Br Vet J.*, 133(2), 1977: 145-59.
14. VERA MY. Fasciolosis. En IBARRA VF, FIGUEROA CJA, QUIROZ RH. (Editores), *Parasitología veterinaria Vol. II. Helmintos*. México (DF): Castdel, 2011:51-73.
15. TORGERSON P, CLAXTON J. Epidemiology and control. En DALTON JP. (Editor). *Fasciolosis*. UK (Londres): CABI publishing, 1999: 113-149.
16. BEHM CA, SANGSTER NC. Pathology, pathophysiology and clinical aspects. En DALTON JP. (Editor). *Fasciolosis*. UK (Londres): CABI publishing, 1999: 185-225.
17. KAPLAN RM. *Fasciola hepatica*: A review of the economic impact in cattle and considerations for control. *Veterinary Therapeutics*, Vol. 2, No. 1, 2001: 40-50.
18. ANDREWS SJ. The life cycle of *Fasciola hepatica*. En DALTON JP. (Editor). *Fasciolosis*, UK (Londres): CABI publishing, 1999.
19. RODRÍGUEZ DJG, OLIVARES OJL, CORTÉS SS. Taxonomía y términos más utilizados en Parasitología Veterinaria. CENSA-La Habana, Cuba; UAM-X CdMex: 2014: 106pp.
20. SCHMID HP. *Evolutionary Parasitology*. Oxford University Press, NY, 2011: 41-47.
21. KEISER J., UTZINGER J. Food-Borne Trematodiasis. *Clin. Microbiol. Rev.* Jul 2009: 466–483.
22. McCUSKER P., McVEIGH P., RATHINASAMY V., TOET H., McCAMMICK E., O'CONNOR A., MARKS NJ., MOUSLEY A., BRENNAN GP., HALTON DW., SPITHILL TW., MAULE AG. Stimulating neoblast-like cell proliferation in juvenile *Fasciola hepatica* supports growth and progression towards the adult phenotype in vitro. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, DOI:10.1371/journal.pntd.0004994 Sep 13, 2016:1-26.
23. ROJO VFA, FERRÉ PI. Parasitosis hepáticas: Fasciolosis. En CORDERO DCM y ROJO VFA (editores), *Parasitología Veterinaria*. Mc Graw Hill, España (Madrid), 1999: 260.
24. GUNN A, PITT SJ. *Parasitology An Integrated Approach*. UK: Willy-Blackwell, 2012:41-47, 89-92.
25. MOAZENI M., AHMADI A. Controversial aspects of the life cycle of *Fasciola hepatica*. *Experimental Parasitology* 169, 2016: 81-89.

26. CRUZ RA. Ciclo evolutivo. En FLORES CR, QUIROZ RH, IBARRA VF. (Editores), Fasciolosis. México (DF): INIFAP, 1986:91-111.
27. TAYLOR MA, COOP RL, WALL RL. Veterinary Parasitology. 3ª ed., UK: Blackwell Publishing, 2007:84-90, 201-210.
28. QUIROZ RH. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. México (DF): Limusa, 2011: 232-259.
29. TANTALEÁN VM, ANGULO TJ, QUISPE HM, DÍAZ MS. Morphological differentiation of eggs from three trematode species in ruminants from Perú. Peruvian journal of parasitology. Vol. 20, No. 2, 2012: 78-82.
30. IBARRA VF. Paranfistomosis. En IBARRA VF, FIGUEROA CJA, QUIROZ RH. (Editores), Parasitología veterinaria Vol. II. Helmintos. México (DF): Castdel, 2011:63-73.
31. CRUZ MI, NARANJO GE, QUINTERO MMT, CORREA D, QUIROZ RH. Primeras aportaciones al conocimiento de los hospederos intermediarios de *Fasciola hepatica* en México. En QUIROZ RH, FIGUEROA CJA (editores), Estudios de la Fasciolosis en México de 1879 a 2006. México (DF): UNAM, 2010: 163-180.
32. THOMPSON FG. An annotated checklist and bibliography of the land and freshwater snails of México and Central America. Universidad de Florida, Museo de Historia Natural de Florida. USA. 2008: 903pp.
33. GARCÍA CA. Moluscos de un sistema lagunar tropical en el sur del Golfo de México (Laguna de términos, Campeche). México: Publicaciones especiales, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM, 1981. Disp. en: <http://biblioweb.tic.unam.mx/cienciasdelmar/especiales/1981-5/articulo458.html>
34. KELLEY JM., ELLIOTT TP., BEDDOE T., ANDERSON G., SKUCE P., SPITHILL TW. Current Threat of Triclabendazole Resistance in *Fasciola hepatica*. Trends Parasitol. 2016 Jun; 32 (6):458–469.
35. IBARRA VF. Quimioterapia y estudios terapéuticos sobre fasciolosis en México. En QUIROZ RH, FIGUEROA CJA (editores), Estudios de la Fasciolosis en México de 1879 a 2006. México (DF): UNAM, 2010: 253-271.
36. Prontuario de Especialidades Veterinarias (PEV). Página electrónica, México, Consulta: 25 abr 2017. Disp en: <http://www.diccionarioveterinariopl.com/>
37. PÉREZ FR. Farmacología Veterinaria. Texto de apoyo a la docencia. Chile: Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, 2010: 347-402.
38. JANSSEN, M.A.C., SIPIDO, V.K. 1977. Antiparasitic salicylanilide derivatives. Patente Número: US4005218 A.
39. IBARRA VF., NATIVIDAD MC., VERA MY., CASTILLO BR., HERNÁNDEZ CA., OCHOA GP. Eficacia comparativa de un fasciolicida experimental,

triclabendazol y closantel en bovinos infectados en forma natural con *Fasciola hepatica*. Vet.Méx., 33 (3), 2002: 237-245.

40. ROMANIUK K., LIPINSKY Z., BAB M. Flukiver (Closantel) effective anthelmintics for treatment of fascioliasis and gastrointestinal parasitosis in sheep and cattle. Mag. Vet. 4, 1995: 444-447.
41. MARTÍN RJ. Modes of action of anthelmintic drugs. Vet.J.154 (1),1997:11-34.
42. SUMANO LHS, OCAMPO CL. Farmacología veterinaria, 3ª ed., McGrawHill. México (DF): 2006: 451-526.
43. BORAY JC., CROWFOOT PD., STRONG MB., ALLISON JR., SCHELLENBAUM M., SARASIN G. Treatment of immature and mature *Fasciola hepatica* infections in sheep with triclabendazole. Veterinary Record, 113(14), 1983: 315-317.
44. TURNER K., AMOUR J., RICHARDS RJ. Anthelmintic efficacy of triclabendazole against *Fasciola hepatica* in sheep. Veterinary Record, 114(2); 1984:41-42.
45. BORAY JC, y HAPPICH FA. Proceedings of the 2nd International Liverfluke Colloquium. Wageningen. Merck, Sharp and Dohme, International Rahway, 1967:22.
46. WOLFF K., ECKERT J., SCHNEITER G., LUTZ H. Efficacy of triclabendazole against *Fasciola hepatica* in sheep and goats. Veterinary Parasitology, 13 (2), 1983:145-150.
47. FORMENTINI EA, MESTORINO N., PESOA JM., LUCAS M., REGGIARDO E., MARTI DIAZ M., REUTEMANN SH., ERRECALDE JO. Estudio farmacocinético comparativo de triclabendazole en bovinos y ovinos. Rev FAVE, Ciencias Veterinarias, 3 (1-2) 2004: 39-53.
48. ECKERT J., SCHNEITER, WOLFF K. Fasinex (triclabendazole)--a new fasciolicide. Berl. Münch. Tierärztl. 97(10), 1984: 349-356.
49. FLORES RM, IBARRA VF, JUNG CH, HERNÁNDEZ CA, VERA MY, CASTILLO BR. Novel triclabendazole prodrug: A highly water soluble alternative for the treatment of fasciolosis. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 27, 2017: 616–619.
50. VILLEGAS F, ANGLES R, BARRIENTOS R, BARRIOS G, VALERO MA, HAMED K, GRUENINGER H., AULT SK., MONTRESOR A., ENGELS D., MAS-COMA S., GABRIELLI AF., Administration of triclabendazole is safe and effective in controlling fascioliasis in an endemic community of the Bolivian Altiplano. PLoS Negl Trop Dis 6(8), 2012: e1720. doi:10.1371/journal.pntd.0001720

51. HERNÁNDEZ CA., IBARRA VF., VERA MY, RIVERA FN, CASTILLO BR. Synthesis and fasciolicidal activity of 5-chloro-2methylthio-6-(1-naphthoxy)-1*H*benzimidazole. *Chem Pharm Bull*; 50(5), 2002:649-652.
52. MUNGUÍA XJA., IBARRA VF., VERA MY., ROSILES MR., ROMO MA., CANTÓ AJ., DUCOING WA. Solubilidad de un compuesto con actividad fasciolicida: evaluación de eficacia *in vitro* y en ovinos experimentalmente infectados con *Fasciola hepatica*. *Vet. Méx.*, 41 (1) 2010:1-11.
53. ATES AZ, ADEJARE A. Prodrugs. En LOYD VAJ (editor) Remington, The science and practice of pharmacy (22 ed), Vol 1, USA (Philadelphia): Pharmaceutical Press 2012.
54. MAGARÓ H., UTTARO A., SERRA E., PONCE DE LEON P., ECHENIQUE C., NOCITO I., VASCONI MD., BERTORINI G., BOGINO B., INDELMAN P. Técnicas de Diagnóstico Parasitológico. Universidad Nacional del Rosario, Argentina. Consulta 24 abril 2017. Disp. en: www.fbiof.unr.edu.ar/evirtual/mod/resource/view.php?id=10964
55. WOOD IB, AMARAL NK, BAIRDEN K, DUNCAN JL, KASSAI T, MALONE JB JR, PANKAVICH JA, REINECKE RK, SLOCOMBE O, TAYLOR SM, *et al*. 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(3); 1995: 181-213.
56. SMEAL MG, HALL CA. The activity of triclabendazole against immature and adult *Fasciola hepatica* infections in sheep. New South Wales Veterinary Research Station, Glenfield, New South Wales, Australia. *Aust.vet.J.* 60, (11); 1984: 329-331.
57. DORCHIES P., FRANC M., DUCOS DE LAHITTE J. A study of triclabendazole (DC1) efficiency on *Fasciola hepatica* on lambs. *Revue med.vet.*, 134 (4), 1983: 231-234.
58. BENTLEY A., BUTTERS M., GREEN SP., LEARMONTH WJ., MACRAE JA., MORLAND MC., O'CONNOR G., SKUSE J. The discovery and process development of a commercial route to the water soluble prodrug, Fosfluconazole. *Org. Proc. Res. Dev.*, 6 (2), 2002:109–112.
59. SOBUE S., SEKIGUCHI K., SHIMATANI K., TAN K. Pharmacokinetics and safety of Fosfluconazole after single intravenous bolus injection in healthy male Japanese volunteers. *J Clin Pharmacol*. 44(3) 2004:284-92.
60. FISCHER JH, PATEL TV, FISCHER PA. Fosphenytoin: clinical pharmacokinetics and comparative advantages in the acute treatment of seizures. *Clin Pharmacokinet*. 42(1); 2003:33-58.
61. LOMBARDERO OJ. Los nombres científicos de los parásitos y su significado. Argentina: Ed. Universitaria de Buenos Aires: 1977.

Gráficos

- <http://www.parasite-diagnosis.ch/fascioliasisessentials>
- <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/fasciolosis.html>
- Gráficos modificados para figura 3 (ciclo), tomados de:
 - <http://biblioteca.uaa.mx/index.php/component/joomgallery/2-patologia-sistemica/24-higado?page=4> (adulto)
 - http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_4546_Prepelitchi.pdf (huevo, metacercaria)
 - <http://parasitologiafac.blogspot.mx/> (huevo embrionado)
 - <http://www.southampton.ac.uk/~ceb/Insideafluke/Liverfluke.htm> (miracidio, juvenil)
 - <http://ncvptest.weebly.com/trematodes.html> (esporoquiste, redia)
 - <http://idtools.org/id/mollusc/factsheet.php?name=lymnaeidae> (caracol)
 - CARRADA BT. *Fasciola hepatica*: Ciclo biológico y potencial biótico. Rev Mex Patol Clin, Gto. México., Vol. 54, Núm. 1, 2007: 21-27. (cercaria)
 - <https://plus.google.com/+Tozapping/posts/ECZ5eLjkU1k> (ingestión de berros)
- PHALEE A, WONGSAWAD C, ROJANAPAIBUL A, CHAI JY. Experimental Life History and Biological Characteristics of *Fasciola gigantica* (Digenea: Fasciolidae). Korean J Parasitol Vol. 53, No. 1: 59-64, Feb. 2015:59-64.
- <http://www.nadis.org.uk/bulletins/liver-fluke-control-in-sheep.aspx>
- <http://www.afrivip.org/sites/default/files/Helminths-ruminants/liver.html>
- https://en.wikipedia.org/wiki/Fasciolosis#/media/File:F._hepatica_hypertrophica_of_bile_duct.jpg
- De Haro 2017 en: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/fasciolosis.html>
- <http://www.moredun.org.uk/news/moredun-expands-fluke-work>
- VELÁSQUEZ LE. Synonymy between *Lymnaea bogotensis* Pilsbry, 1935 and *Lymnaea cousini* Jousseau, 1887 (Gastropoda: Lymnaeidae). Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 101(7):2006:795-799.
- NÚÑEZ V. Revisión de dos especies de Physidae. Revista Mexicana de Biodiversidad 82: 93-108, 2011.
- <http://inta.gob.ar/noticias/deteccion-de-fasciolosis-en-el-sudeste-bonaerense>

ANEXO I

GLOSARIO

Adolescencia. Del latín *adolescere* (crecer, desarrollarse). Se le llama al estadio que sigue a la metacercaria de muchos trematodos, conocido también como “distoma joven” (Rodríguez, *et.al.*, 2014).

Digenea. Del griego *di* (dos) + *genéa* (progenitor), (Lombardero 1977). Que requiere de uno o más hospederos intermediarios en su ciclo biológico (Schmid 2011). Orden de trematodos que se caracteriza por su gran especificidad de hospedador intermediario representado por moluscos, mientras que en general son poco específicos en los hospederos definitivos. Parásitos de las vísceras, como conductos biliares y pancreáticos, tracto digestivo, pulmón, aparato genitourinario, circulatorio y formas aberrantes en ojos y útero (Rodríguez, *et.al.*, 2014).

Distoma. Del griego *di* (dos) + *stoma* (boca). Se le llama así a los trematodos que presentan dos ventosas (Rodríguez, *et.al.*, 2014).

Eficacia antiparasitaria. La efectividad de un fármaco para matar parásitos en un animal infectado (Kelley, *et.al.*, 2016).

Fasciola hepatica. Diminutivo del latín *fascia* (faja, banda); *hepatica*, referente al hábitat del adulto en el hígado del hospedador. Género y especie establecidos por Linneo en 1758 (Lombardero 1977).

Hermafrodita. Del latín *Hermaphroditus*. El término proviene de los nombres de Hermes (Mercurio) y Afrodita (Venus); personaje mitológico que participaba de los dos sexos. Se le denomina a los organismos que poseen los dos sexos (Rodríguez, *et al.*, 2014).

Manejo parasitario integral. El uso de una serie de metodologías para manejar la incidencia de parásitos en el rebaño (Kelley, *et.al.*, 2016).

Platelmintos. Phylum al que pertenecen helmintos aplanados. La mayoría están deprimidos dorso ventralmente. No poseen cavidad corporal, sino los órganos se encuentran incluidos en una especie de parénquima esponjoso o un tejido de relleno; carecen de formaciones esqueléticas y de aparato circulatorio y respiratorio. La mayoría son hermafroditas, la fecundación puede ser cruzada (Rodríguez, *et al.*, 2014).

Prevalencia parasitaria. El porcentaje de animales en el rebaño infestados por el parásito (Kelley, *et.al.*, 2016).

Profármaco. Compuesto farmacológicamente inactivo que podría ser usado para modificar las propiedades fisicoquímicas de un fármaco, con el fin de aumentar su utilidad y/o disminuir la toxicidad asociada (Ates y Adejare, 2012).

Tegumento de *F. hepatica*. El estrato superficial de tejido de un organismo, en este caso, de *F. hepatica* (Kelley, *et.al.*, 2016).

Trematodo. Del griego *tremos* (orificio) + *eidos* (aspecto). Clase de platelmintos establecida por Rudolphi en 1808, referida a que poseen orificios (ventosas) en número variable (Lombardero 1977). El cuerpo, generalmente, es aplanado dorso ventralmente, de forma foliácea, lanceolada, conoide, cilindriforme o filariforme; sin segmentos; regularmente con dos ventosas; oral y ventral o acetábulo; mayormente hermafroditas (Rodríguez, *et al.*, 2014).