

01672



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

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

11

EVALUACION DE LA EFICACIA DEL
COMPUESTO ALFA CONTRA *Fasciola hepatica*
DE DIVERSAS EDADES EN OVINOS

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTADA POR

MVZ NORMA RIVERA FERNANDEZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. FROYLAN IBARRA VELARDE



MEXICO, D. F.

2000



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

Agradezco de manera especial al Dr. Froylán Ibarra Velarde por su gran apoyo para la realización de este estudio.

Agradezco también a:

Biol. M en C Yolanda Vera Montenegro

MVZ. SPV Héctor Quiroz Romero

MVZ. M en C Irene Cruz Mendoza

Estudio parcialmente financiado por el proyecto K0004 SAGAR-CONACyT y proyecto No. IN 227998 PAPIIT-UNAM.

CONTENIDO	PAGINA
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODOS	22
RESULTADOS	25
DISCUSION	27
CONCLUSION	33
LITERATURA CITADA	34
CUADROS	40

RESUMEN

Rivera Fernández Norma. Evaluación de la eficacia del compuesto Alfa contra *Fasciola hepatica* de diversas edades en ovinos.

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la eficacia del 6-cloro-5-(1-naftiloxi)-2-metiltiobencimidazol (compuesto Alfa) contra fasciolas de 3 días, 2, 4, 6, 8 y 10 semanas de edad, en ovinos infectados experimentalmente. El estudio, se llevó a cabo en las instalaciones del Campo Experimental Pecuario del estado de Puebla (CIPEP) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Se utilizaron 60 ovinos de raza pelibuey de sexo indistinto, entre 6 meses y un año de edad, libres de infección por *F. hepatica*. En el día cero todos los animales se infectaron con 150 metacercarias de *F. hepatica* por borrego, administradas por vía oral, en cápsulas de gelatina con pinza dosificadora mismas que se obtuvieron en condiciones de laboratorio a partir de la infección de caracoles limnéticos. Como siguiente paso los 60 animales fueron aretados y se dividieron en 12 grupos de 5 animales cada uno. A la tercera semana postinfección se realizó la prueba de ELISA indirecta comprobando con ésta la positividad a anticuerpos anti *F. hepatica* en todos los animales infectados. Los grupos 1, 3, 5, 7, 9 y 11 se trataron con el compuesto Alfa en suspensión a una dosis única de 15mg/Kg/oral a los 3 días, 2, 4, 6, 8 y 10 semanas postinfección, respectivamente. Los grupos 2, 4, 6, 8, 10 y 12 fungieron como testigos sin tratamiento. A las cuatro semanas postratamiento, todos los animales fueron sacrificados para colectar y contar en hígado el número de fasciolas presentes. La eficacia fue medida con base en el número de trematodos presentes en los grupos tratados con respecto a los grupos testigo sin tratamiento. Los resultados indicaron un 100% de eficacia del compuesto Alfa en todos los grupos tratados. Los grupos testigo tuvieron un promedio de 188.83 fasciolas a la necropsia. El máximo de fasciolas colectadas por animal fue de 59 y el mínimo de 15 en los grupos no tratados. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza mediante la prueba de Mann y Whitney U Wilcoxon para comparar la diferencia estadística entre grupos tratados y no tratados, demostrando que el fármaco administrado a los grupos tratados redujo el número de vermes en forma significativa $p(0.0053)$. Asimismo, mediante el método de Kruskal-Wallis, se determinó que no hubo diferencia significativa ($p>0.05$) entre el número de fasciolas colectadas en los grupos testigo. Se concluye que bajo las condiciones en que se llevó a cabo el presente estudio, el compuesto Alfa fue efectivo en un 100% contra diversas edades de *F. hepatica* en ovinos.

Palabras clave: *Fasciola hepatica*, ovinos, trematodos, compuesto Alfa, fasciolicidas

INTRODUCCIÓN

La fasciolosis es la enfermedad parasitaria más importante en los rumiantes, la cual se debe a la presencia y acción del trematodo *Fasciola hepatica* en el parénquima hepático, conductos biliares y vesícula biliar. Esta enfermedad es de distribución mundial y es considerada en el mundo como una de las parasitosis más comunes de los rumiantes domésticos. Se ha estimado que un cuarto de la población mundial de ovinos y bovinos pastorean en áreas donde *F. hepatica* está presente y el medio ambiente es favorable para su mantenimiento y dispersión. Puede presentarse también en caprinos, cerdos, equinos, conejos, ratas, el hombre y varios mamíferos silvestres. Como parásito errático se puede encontrar en pulmón, tejido subcutáneo y útero ^{1,2}.

La presencia del parásito en el hombre no debe de ser subestimada. En los últimos años 2,594 casos humanos fueron diagnosticados en 42 países entre los que se incluyen Argentina, Bolivia, Cuba, Perú y Puerto Rico. Este aumento de la prevalencia hace que se la considere como una zoonosis emergente ³.

Clasificación taxonómica

Phylum	Plathelminthes
Clase	Trematoda
Orden	Digenea
Familia	Fasciolidae
Subfamilia	Fasciolinae
Género	<i>Fasciola</i>
Especie	<i>hepatica</i>

Morfología

El parásito tiene forma de hoja, llegan a medir hasta cinco cm de largo, es de color grisáceo, el cuerpo es aplanado dorsoventralmente; externamente esta cubierto

por una cutícula o tegumento espinoso; posee dos ventosas como órgano de adhesión, es hemafrodita y presenta ciegos ramificados^{4,5}.

Ciclo biológico

Para completar su ciclo biológico, *F. hepatica* necesita invariablemente dos huéspedes, uno intermediario(caracol) y uno definitivo (mamífero). En ambas poblaciones del parásito pueden aumentar en número; dentro del definitivo por la postura de huevos y dentro del intermediario por la producción de cercarias. Cada parásito adulto puede llegar a producir 20,000 **huevos** por día, éstos son arrastrados por la bilis hasta el duodeno y son evacuados con la materia fecal. Dentro del huevo, dependiendo de la humedad y temperatura ambiente, se desarrolla el **miracidio** que es la fase evolutiva que penetrará en el caracol para dar origen, a los estadios de **esporocisto**, **redias** y **cercarias**. El resultado de una infección exitosa de un miracidio a un caracol suele ser la producción de 400 a 1,000 cercarias. Posteriormente las cercarias abandonan el molusco y se enquistan en el medio como **metacercarias** (fase infectante) que son ingeridas con el pasto por el huésped definitivo y al llegar al intestino el quiste es digerido dando lugar a **fasciolas juveniles** que atraviesan la pared intestinal y migran hacia el hígado a través de la cavidad peritoneal. Finalmente perforan la cápsula hepática y continúan migrando durante seis a siete semanas a través del tejido hepático hasta llegar a los conductos biliares, donde con la puesta de huevos, 8 a 12 semanas postinfección, complementan el ciclo^{3,5}.

Epizootiología

De la fasciolosis deben considerarse en primer lugar los aspectos epidemiológicos y clínicos; el carácter enzoótico de esta enfermedad que se presenta regularmente bajo condiciones favorables al desarrollo de los hospederos intermediarios que son caracoles del género *Lymnaea*. La forma aguda de la fasciolosis tiende a presentarse con cierta estacionalidad y es durante otoño e invierno cuando se observa principalmente en animales jóvenes, no obstante en zonas enzoóticas puede haber casos esporádicos bajo esta fase. La fasciolosis aguda, solo se puede determinar en casos de muerte repentina, precedida de un

cuadro endémico más o menos marcado. La forma aguda es menos frecuente en bovinos que en ovinos. La presentación más común y típica en ovinos es la forma crónica. Las primeras manifestaciones se presentan a principios de septiembre y se acentúan durante el invierno ^{1,6}.

En las diversas etapas mencionadas *F. hepatica* produce daños en sus huéspedes, pero también esta expuesta a ellos y a las condiciones ambientales. El resultado de estas interacciones huésped-parásito, define los aspectos epidemiológicos de la enfermedad :

Huésped intermediario. Es mundialmente aceptado que las especies del género *Lymnaea* son los únicos intermediarios de *F. hepatica*. Estos caracoles tienen como característica común el ser anfibios, vivir en lodo o lugares de aguas poco profundas y se adaptan a condiciones de sequía enterrándose en el lodo, donde disminuyen su actividad metabólica pudiendo sobrevivir varios meses. Las aguas salobres y duras, con gran concentración de cloruro de calcio y magnesio, constituyen una barrera natural para este género y por ende para la introducción y difusión de *F. hepatica* ⁷.

En ambientes favorables, se calculan poblaciones de hasta 24 millones de caracoles por hectárea, determinándose que el 30% de ellos se encuentran infectados con formas larvianas de *F. hepatica* ³.

Huésped definitivo. El desarrollo de la infección tiene diferencias marcadas entre huéspedes, por ejemplo, muy rara vez la fasciolosis aguda causa muerte en bovinos, mientras que en ovinos esto ocurre con mayor frecuencia. Los bovinos son más resistentes a la infección, llegando a ser autolimitante entre cinco y ocho meses postinfección. Algunos estudios epidemiológicos han demostrado que los ovinos infectados son los que contribuyen en forma continua a la contaminación de las pasturas, llegando a tener una excreción de dos millones de huevos por animal por día. Comparativamente con el ovino, en bovinos se aprecia con mayor intensidad la reacción tisular, consistente en fibrosis y calcificación del tejido hepático e hiperplasia de los conductos biliares a partir de las 19 semanas

postinfección. Esta reacción, produce en el caso de infecciones crónicas, la eliminación de los trematodos y una barrera contra la reinfección. Debido a que la migración de las fasciolas juveniles se realizan preferentemente por el lóbulo izquierdo del hígado, las reinfecciones se encuentran con la barrera mecánica creada por la reacción tisular. Por otro lado se produce la hipertrofia del lóbulo hepático derecho, con abundancia de tejido sano que facilita la sobrevivencia del huésped³.

Relación huésped- parásito. El nivel de ingestión de metacercarias depende de: densidad de pastoreo, disponibilidad y calidad de pasturas, grado de infección de las pasturas. No es fácil de cuantificar el efecto de cada uno de ellos, pero se ha comprobado que en la época de secas, con poca disponibilidad de forraje, los huéspedes buscarán alimento en manantiales y lugares húmedos. Por otro lado, en época de lluvias el aumento de la población de caracoles y su dispersión en áreas mas amplias, favorece la distribución de metacercarias. A mayor cantidad de metacercarias, menor es el porcentaje de recuperación de parásitos adultos. Al realizar infecciones desde 1,500 hasta 15,000 metacercarias la recuperación es inversamente proporcional a la dosis de infección. El desarrollo de los huevos es inhibido por temperaturas menores a 10° C y mayores a 30° C. Con humedad constante pueden desarrollarse en 12 días a 26° C, 40 días a 15° C y 60 días o mas a temperatura menores a 12°C⁸.

La coincidencia del miracidio con el caracol huésped juega un papel importantísimo en la transmisión del parásito. Esto está regulado por una serie de factores que actúan entre sí para determinar el encuentro. Este proceso tiene un modelo de frecuencia que es debido a la adaptación de las respuestas del miracidio al caracol huésped y al estímulo del medio. El fototropismo positivo y el geotropismo negativo del miracidio lo inducen a una distribución en el medio que corresponde a la del caracol huésped, la localización y penetración al caracol se rige por la quimiosensibilidad del miracidio por el huésped⁸.

Es importante el conocimiento adecuado de los estadios evolutivos del parásito dentro del huésped, ya que esto ayudará en forma efectiva a romper quimioterapéuticamente el ciclo del trematodo²:

ESTADO DE DESARROLLO	EDAD OVINOS	EDAD BOVINOS
INMADURO TEMPRANO	1-4 SEMANAS	1-6 SEMANAS
INMADURO	4-8 SEMANAS	6-10 SEMANAS
ADULTO	8 SEMANAS	10 SEMANAS

Importancia económica

La relevancia de *Fasciola hepatica* radica en cuantiosas pérdidas económicas que año con año merman en forma considerable la producción pecuaria. Las pérdidas directas se deben a la muerte de los animales y las indirectas que rebasan por mucho a las primeras, son la causa de bajas en la producción láctea (15-40%), retraso en el crecimiento, problemas en la reproducción por baja en la fertilidad, baja en la producción de lana y carne y un parámetro cuantificable sería el decomiso del hígado cuando los animales van al rastro para su sacrificio⁶.

El control de esta enfermedad se puede llevar a cabo mediante tres formas:

1. Tratamientos químicos contra el parásito
2. Medidas de manejo
3. Tratamientos químicos contra el huésped intermediario (molusquicidas)

En México generalmente se utiliza el tratamiento químico contra el parásito, cuando éste se encuentra dentro del huésped definitivo. Es importante saber que la patogenia de la fasciolosis se manifiesta mas frecuentemente cuando el estado juvenil del parásito va migrando por el parénquima hepático y no cuando el verme se encuentra alojado en los conductos biliares en su estado adulto, de ahí la importancia de contar con compuestos indicados contra los estadios inmaduros tempranos del parásito⁶.

El tratamiento con fasciolicidas es la práctica más común empleada en campo. El objetivo del tratamiento es el de eliminar el agente causal de la enfermedad, interrumpir la excreción de los huevos y prevenir así la infección de caracoles. Debe tomarse en cuenta el espectro de los antiparasitarios disponibles en el mercado sobre los diferentes estadios de los trematodos, para su uso en los programas de control. En la mayoría de las áreas endémicas, el verano es el período óptimo para el desarrollo del caracol y para la presentación de la fasciolosis aguda. También es importante al finalizar el invierno para combatir la infección adquirida en el otoño-invierno y así evitar la liberación de huevos, que se activará en primavera-verano iniciando un nuevo ciclo de contaminación. Este esquema de tratamiento debería ser adecuado para animales adultos, mientras que probablemente, un tratamiento adicional en verano podría ser beneficioso para los animales más susceptibles (jóvenes sin experiencia previa a la infección, hembras preñadas y animales con pobre condición nutricional o con otras enfermedades concurrentes como ostertagiasis). Las realidades de manejo en la mayoría de las explotaciones, limitan el uso de antiparasitarios a épocas en que regularmente se juntan los animales, por lo que nuevos métodos de dosificación masiva a través del agua de bebida o con bolos de liberación lenta, usando nuevos fármacos de espectro más amplio, permitirían una substancial flexibilidad en las estrategias de control⁹.

En los últimos años el advenimiento de fasciolicidas de mayor efectividad, permitió la programación de tratamientos profilácticos, tendientes a evitar totalmente la contaminación de las pasturas eliminando *F. hepatica* del huésped definitivo durante el período prepatente. La continuidad de estos tratamientos, permite la erradicación en un ambiente controlado⁹.

Son cruciales para la eficiencia de los sistemas productivos los programas de control antiparasitario. La importancia económica del parasitismo en producción animal ha sido ampliamente demostrada y es quizá por esta razón, que los

avances más significativos en quimioterapia antiparasitaria han surgido del área de salud animal, en lugar de provenir de medicina humana ¹⁰.

Las pérdidas por parasitismo clínico y subclínico representan solo una parte del impacto económico total de la enfermedad parasitaria en la producción animal. Una porción significativa de estas cuantiosas pérdidas económicas, está dada por la inversión en medidas de control. El fracaso en el control antiparasitario tiene una importancia de enorme trascendencia en países con economías ganaderas y donde las condiciones climáticas y características de explotación favorecen una elevada incidencia del parasitismo. El entendimiento del comportamiento farmacológico de las drogas antihelmínticas y su integración con la información epidemiológica disponible, son fundamentales para optimizar la eficiencia del control antiparasitario ³.

El descubrimiento y posterior desarrollo de agentes químicos que pueden ser utilizados para combatir helmintos, sin causar efectos indeseables en el animal hospedador, es muy lento, complejo y requiere una inversión económica muy significativa. Las limitantes mas importantes para los fármacos desarrollados inicialmente, fueron la baja eficacia antihelmíntica y el gran número de efectos secundarios. Desde el descubrimiento de la fenotiazina en 1938, el primer gran avance en terapia antihelmíntica, mucho esfuerzo ha sido volcado en la búsqueda del antihelmíntico ideal ¹¹. Un antihelmíntico ideal deberá reunir las siguientes propiedades: a) amplio espectro de actividad antiparasitaria, a un costo razonablemente bajo y a una dosis que no produzca efectos indeseables en los animales tratados (amplio margen terapéutico), b) flexibilidad para su formulación y fácil administración, c) bajos residuos tisulares ³.

El efecto antihelmíntico no solo depende de la selectiva afinidad que el fármaco activo tenga sobre un receptor específico en el parásito, sino también de la capacidad de este para alcanzar concentraciones elevadas y sostenidas en el sitio de localización del parásito. Esto a su vez depende exclusivamente, del

comportamiento farmacocinético y metabólico de ese fármaco en el animal hospedador³.

Diferencias en los sistemas enzimáticos involucrados en los procesos de respiración celular y producción de energía entre el hospedador y el parásito, ofrecen un blanco muy interesante para el desarrollo de fármacos con buen margen de seguridad, que puedan interferir con los mencionados procesos en el parásito, sin afectar al huésped. Dada la dificultad de ataque químico a los estadios de huevo y larva, ya sea por sus bajas tasas de actividad metabólica como por su sitio de localización en el huésped, el principal blanco para la mayoría de los fármacos antihelmínticos es el parásito adulto. Los requerimientos fisiológicos de los helmintos adultos están restringidos a la obtención de energía vía catabolismo de hidratos de carbono y al mantenimiento de una correcta coordinación neuromuscular para permanecer en un sitio de localización que les resulte ventajoso para su alimentación¹¹. Los fármacos antihelmínticos disponibles ejercen sus efectos sobre el parásito interfiriendo con el metabolismo energético, con la coordinación neuromuscular y con la dinámica microtubular. Los sitios específicos de interferencia con el metabolismo energético, incluyen el transporte de glucosa hacia el citosol del parásito, la actividad de enzimas mitocondriales como la fumarato reductasa (los benzimidazoles actúan modificando, quizá secundariamente los procesos mencionados) y la fosforilación oxidativa (salicilanilidas como closantel, niclosamida y rafoxanide). Los benzimidazoles y probenzimidazoles, alteran la estructura microtubular, uniéndose a la tubulina, favoreciendo la despolimerización y alterando la estructura de los microtubulos. Estas estructuras están involucradas en diversos procesos vitales para la función celular, tales como transporte de nutrientes, mitosis, estructura celular, etc¹².

Los fármacos antihelmínticos llegan al parásito por vía oral o a través de la cutícula. La vía oral es muy importante en helmintos hematófagos; está bien establecido que *F. hepatica* y *Haemonchus contortus* son particularmente susceptibles a fármacos antihelmínticos que se unen en alta proporción a las

proteínas del plasma, como closantel, luxabendazol y triclabendazol. A nivel farmacodinámico, el mecanismo de acción de un compuesto antihelmíntico, determina la velocidad con que se logra el efecto antiparasitario y los riesgos del desarrollo de resistencia ³.

La resistencia hacia los benzimidazoles en ovinos y bovinos, es de notable importancia económica en todos los países. En consecuencia, se han logrado avances significativos en la caracterización bioquímica de los mecanismos de resistencia hacia estos fármacos. El mecanismo de resistencia está basado en una alteración entre el benzimidazol y la tubulina del parásito. Estos fármacos administrados a dosis terapéuticas, causan la desaparición de los microtubulos de las células intestinales del parásito, pero no sucede lo mismo en mutaciones del mismo parásito resistente a los benzimidazoles ¹³.

A pesar de los importantes avances alcanzados en la caracterización bioquímica y de genética poblacional de la resistencia de los parásitos a la acción de fármacos antihelmínticos, se tienen aún muchas dificultades para proponer soluciones concretas, tendientes a frenar el desarrollo del fenómeno de resistencia en condiciones prácticas. A pesar de los intentos por introducir un control parasitario integral, las medidas de control continúan basándose en el tratamiento químico ³.

La farmacocinética comprende la caracterización de los procesos de absorción, distribución, metabolismo y eliminación de fármacos y sus efectos terapéuticos y tóxicos ¹³. La biodisponibilidad indica la fracción de la dosis administrada de un fármaco que tras absorberse alcanza la circulación sistémica. La máxima disponibilidad se logra cuando un fármaco es administrado por vía intravenosa o por vía extravascular y se absorbe completamente desde su sitio de administración. La administración de un fármaco por cualquier vía enteral, parenteral o tópica resulta en una fracción disponible de la misma, que es menor a la administrada. Mayor biodisponibilidad indica mayor efecto farmacológico. La liberación del principio activo desde su formulación farmacéutica y absorción,

preceden la llegada del fármaco a la circulación sistémica, que actúa como medio de transporte para que las moléculas sean distribuidas a los diferentes tejidos. En el plasma, una fracción del fármaco se une reversiblemente a las proteínas y la fracción libre, interviene simultáneamente en los procesos de distribución tisular, metabolismo y eliminación. El paso de las moléculas al espacio intracelular depende de su capacidad para atravesar el endotelio capilar y la bicapa lipídica de la membrana celular. La mayoría de los fármacos utilizados son ácidos o bases débiles cuando están disueltas a pH fisiológicos, encontrándose como fracciones ionizada y no ionizada ¹⁴. La ionizada es poco soluble por lo que tiene dificultad para penetrar al interior de la célula y la no ionizada es altamente lipofílica y difunde pasivamente a través de la membrana celular, hasta que se alcanza un equilibrio de concentraciones. La proporción de las formas ionizadas y no ionizadas, esta definida por el pKa (constante de disociación) del fármaco y depende del pH del fluido en el cual el fármaco está disuelto; el gradiente del pH entre el plasma y los diferentes tejidos determinan la concentración de una droga/metabolitos a ambos lados de una membrana celular. Los fármacos que se encuentran poco ionizados en el plasma tienen mayor posibilidad de atravesar membranas celulares, por lo que se distribuyen más homogéneamente en los diferentes tejidos, alcanzando sus sitios activos en concentraciones que permitan obtener una adecuada respuesta farmacológica ³.

Actualmente dos principios básicos están en uso para la administración de antihelmínticos en ganado: a) el tratamiento basado en una dosis terapéutica única que puede ser administrada por diferentes vías, según el fármaco en cuestión y su formulación y b) la administración de formas de liberación prolongada. La baja solubilidad en agua de los principios activos, ha sido una de las limitantes más importantes en el diseño de formulaciones estables y no irritantes para la administración parenteral de antihelmínticos en ganado. En su mayoría son administrados en forma oral por su fácil administración y por evitar

que el fármaco eluda el rumen y pase directamente al abomaso por cierre reflejo de la canaladura esofágica ¹⁵.

Variaciones en la dieta pueden resultar en diferentes pH ruminales, en distintos tiempos de tránsito GI, lo cual podría afectar la absorción, conversión metabólica y posterior eficacia antihelmíntica. La prolongada retención ruminal de benzimidazoles por unión de éstas a la fibra cruda, podría ser otro factor importante en la farmacocinética de estos compuestos ¹⁶.

Con base en su estructura química los fasciolicidas se dividen en cuatro grupos:

1. Hidrocarburos halogenados (tetracloruro de carbono, hexacloroetano, tetraclorodifluoretano, hexacloroparaxileno).
2. Compuestos bisofenólicos (hexaclorofeno, sulfóxido de bitionol, bromsalan, oxyclosanida, cicloxanida).
3. Compuestos nitrofenólicos (disofenol, niclofolan, nitroxinil).
4. Benzimidazoles(triclabendazol, albendazol, mebendazol) Probenzimidazoles (netobimin).

Algunos de los fármacos del último grupo, poseen actividad ovicida, lo cual puede tener cierta trascendencia epidemiológica cuando los animales tratados son llevados a pastos no infectados, ya que los huevos eliminados serán probablemente estériles. Los compuestos benzimidazólicos (BZD) pueden ser clasificados de la siguiente manera:

- a) BZD tiazólicos.
- b) BZD metilcarbamatos : albendazol.
- c) BZD halogenados : triclabendazol.
- d) Pro-BZD: netobimin.

La pobre absorción intestinal y la falta de solubilidad en agua son limitantes para la formulación, biodisponibilidad y eficacia de BZD metilcarbamatos. Los pro-BZD son prodrogas inactivas, la presencia de una molécula de ácido sulfónico en la estructura del netobimin, aumenta notablemente su hidrosolubilidad, lo cual permite su formulación como suspensión o solución acuosa, para administrar oral o parenteralmente. Los BZD son muy poco hidrosolubles y variaciones menores

en la solubilidad, pueden tener un significativo impacto en la absorción gastrointestinal y la eficacia clínica resultante, por lo que solo se formulan en forma de suspensión, pastas o gránulos para administrarse oralmente ¹⁷.

La tasa de distribución de un fármaco o sus metabolitos, cuantificada por su volumen de distribución, está influenciada por el peso molecular, liposolubilidad y unión a proteínas plasmáticas. En general la mayoría de los BZD se unen a proteínas plasmáticas en un 50%, tienen un elevado volumen de distribución y una rápida eliminación del organismo. Los BZD halogenados (triclabendazol) se unen fuertemente a las proteínas plasmáticas (90-95%), especialmente en la albúmina, lo cual resulta en una prolongada permanencia de este fármaco en el animal tratado. Esto resulta en prolongadas vidas medias de eliminación que favorecen el efecto sobre fasciolas inmaduras localizadas en el tejido hepático, al permitir un mayor tiempo de contacto entre el parásito y el fármaco ¹⁸.

La mayoría de los BZD poseen un pK entre 6.8 y 7.8. Así, estas moléculas se encuentran en forma no ionizada (liposolubles), lo cual favorece su distribución del plasma a diferentes tejidos ¹⁹.

Estudios económicos muestran que los productos más utilizados en México son: Nitroxinil (Trodat, Rhone Merieux), Closantel (Flukiver, Janssen), Rafoxanide (Ranide, M.S.D.) y Triclabendazol (Fasinex, Ciba Geigy). El más reciente introducido en el mercado es el Clorsulon (Ivomec-F) ⁶.

CARACTERÍSTICAS DE LOS FASCIOLICIDAS MÁS COMÚNES A NIVEL MUNDIAL

NITROXINIL.

Trodax

(4-hidroxi-3-yodo-5-nitrobenzoniitrilo)

Cristales amarillos de benceno poco solubles en agua y solubles en disolventes orgánicos. Tienen dos sales: nitroxinil meglumina y nitroxinil eglumina, el nitroxinil

en sal es soluble en agua y tiene un pH neutro, precipita con calcio y otras sales. Se conoce desde 1960 como fasciolicida inyectable para ovinos y bovinos^{20,21}.

Actúa inhibiendo la fosforilación oxidativa, cese de contracciones musculares (bloqueador neuromuscular). Su absorción en tracto gastrointestinal es pobre, por lo que se administra parenteralmente por vía I.M. o S.C., siendo mas utilizada esta última. Se elimina en orina y heces 30 días después de su aplicación. Es retenido en la leche (10 a 25 días) por lo que no se recomienda tratar a hembras lactantes. Su eliminación total puede durar hasta 57 días. Efectivo contra estadios maduros de fasciolas y puede utilizarse también para tratar *Haemonchus spp.* No es útil para tratar fasciolas jóvenes²¹.

RAFOXANIDE

Ranide

(3,5-Diiodo-3-cloro-4-(p-clorofenoxil)-salicilanida)

Sólido cristalino e incoloro, poco soluble en acetona, insoluble en agua y con peso molecular de 168-170. Es un derivado del ácido salicílico. Interfiere con la formación de compuestos de alta energía como ATP, ADP y otros nucleótidos. Interfiere con el transporte activo de oxígeno a través de la membrana y la síntesis de ATP. Así disminuye drásticamente la cantidad de fosfoenolpiruvato disponible para el parásito con lo cual se induce una carencia mortal para éste en un lapso de 24 hrs. Por tal motivo los parásitos aparecen en la vesícula biliar e intestino del hospedador al desprenderse de los conductos biliares. En los estadios juveniles el crecimiento disminuye bruscamente y aunque permite su desarrollo completo los destruye una vez que son adultos. Se observa la falta de contenido cecal posiblemente por la incapacidad de alimentarse. Se absorbe muy bien por el tracto gastrointestinal, aunque también por forma S.C., los niveles plasmáticos máximos se alcanzan a las 24 hrs, declinando gradualmente a los 14 días. No es metabolizado a ningún metabolito detectable en ovinos y bovinos. Tiene una vida media de cinco a 10 días. Se excreta por orina, leche y heces. Puede alcanzar niveles terapéuticos en la mucosa nasal. Se eliminan completamente en 28 días. La efectividad es del 100% en fasciolas de 12 semanas, del 86-99% a las seis

semanas y del 50-98% a las cuatro semanas. Se utiliza también para nematodos gastrointestinales ²¹.

Su dosis es de 7.5-10 mg/Kg oral. Tiene un índice de seguridad de 5, no se ven efectos tóxicos con dosis de 58 mg/Kg en bovinos y 45 mg/Kg en ovinos. A 80mg/Kg se aprecia inapetencia y diarrea en bovinos. Dosis mayores a 45 mg/Kg en ovinos causan signos nerviosos, cataratas, degeneración del nervio óptico y ceguera en ovinos ²².

Se puede utilizar en dosis terapéuticas en todas las edades y simultáneamente con benzimidazoles y organofosforados. Esta contraindicado en hembras lactantes. Puede combinarse con el tiabendazol para tratar nematodos gastrointestinales. ²¹

CLORSULON

Ivomec F

(4-amino-6-tricloroetenil-1,3-bencenodisulfonamida)

Es uno de los fármacos más nuevos en el mercado. Se utiliza oral y SC combinado con ivermectina, la administración oral a dosis de 3.75 mg/Kg es efectivo y de una eficacia del 100% contra fasciolas adultas de 14 a 16 semanas de edad en ovinos y bovinos. La dosis tiene que aumentar para tratar formas juveniles a 15 mg/Kg para ocho y seis semanas con una eficacia de 92 –99.5%, 30 mg/Kg para fasciolas de 3 semanas con eficacia de 99.7% y para fasciolas de dos semanas la eficacia es de 85.3% a la dosis anterior. Basándose en estos datos, una dosis oral de 7 mg/Kg es recomendada y predice un 99% de eficacia para estadios inmaduros. La dosis SC es de 2 mg/Kg. En áreas endémicas como en Florida donde los caracoles se presentan en los meses de diciembre a junio, se recomienda usar clorsulon a fines de otoño y repetir el tratamiento a principios de primavera. Entra rápidamente al torrente circulatorio y alcanza niveles plasmáticos a las cuatro hrs después de administrado, 75% del fármaco se encuentra en plasma y 25% en eritrocitos. Su concentración máxima, coincide cuando los animales dejan de alimentarse. El modo de acción del clorsulon ha sido estudiado

mediendo el efecto directo de este en las enzimas glicolíticas de *F. hepatica*. La 3 fosfoglicerato quinasa y fosfogliceromutasa son inhibidas, esta acción inhiibitoria bloquea a su vez la glicólisis por lo que priva al parásito de su principal fuente de energía. La DL50 es de 761 mg/Kg en ratones. Se ha probado dosis hasta de 100mg/Kg en ovejas sin reacciones adversas. Puede utilizarse en hembras gestantes y lactantes. No es teratogénico ni embriotóxico y tampoco afecta la fertilidad.²²

CLOSANTEL

Flukiver

(N-(5-cloro-4(4-clorofenil)cianometil)-2-metifenil-2-hidroxi-3-5-diyodobenzamina)

Es un salicilanídico estable a temperatura ambiente o más baja. Su vida media en almacén oscuro es de dos años. Actúa a nivel mitocondrial del parásito. Se une a una proteína plasmática y su acción la realiza estimulando la actividad enzima adenosiltrifosfatasa. Por lo tanto, desacopla la oxidación y se interrumpe la fosforilación y el transporte de electrones a través de la cadena respiratoria. La máxima concentración del closantel en el plasma de ovinos después de una administración SC de 5 mg/Kg se obtiene de las 24 a 48 hrs. En este tiempo se alcanzan las concentraciones de 50 a 51 microgramos/ml, luego disminuye gradualmente su concentración inicial en un lapso de 15.4 días hasta desaparecer de la circulación y probablemente del organismo. Se ha utilizado el closantel para tratar varias especies de nematodos intestinales resistentes a benzimidazoles, encontrando una eficacia de 99% en todos los estadios de infección. Una característica de este compuesto es, como se mencionó anteriormente, que se une a una proteína plasmática permaneciendo en ella y protegiendo a los animales contra reinfecciones^{21,22}.

TRICLABENDAZOL

Fasinex

(5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-2-metiltiobenzeno imidazol)

Este fármaco es hasta la fecha el más reciente y eficaz contra *F. hepatica*, pero al igual que el clorsulon tiene un precio bastante elevado. Se ha investigado últimamente en bovinos, ovinos y caprinos en Europa y los E.U. A. ²¹.

Derivado del benzimidazol, soluble en metanol y agua, olor fenólico. Interfiere con la fumarato reductasa y las funciones microtubulares, retarda la maduración del parásito y ocasiona muerte lenta. Se biotransforma en el hígado y su metabolito principal es el sulfóxido que es el que realiza la actividad fasciolicida. Interfieren con la fumarato reductasa, pero se sigue investigando su farmacocinética. Tiene una buena absorción por vía oral y se elimina por sangre y por leche ²¹.

Estudios realizados en ovejas y cabras demuestran que la administración oral de 10 mg/Kg ocasiona una máxima concentración sanguínea de 15 ppm en 10 días. Se alcanza un nivel estable en 48 hrs y la curva de depleción tiene una vida media de 22 a 34 hrs. Mas del 95% de la dosis se elimina en las heces, 2% en la orina y 1% en la leche. Hay residuos detectables en ppm en músculos, hígado, riñón y grasa. El período de eliminación es de 28 días ^{23,24,25}.

El triclabendazol posee una actividad específica contra fasciolas inmaduras desde una semana de edad. En ovinos a dosis terapéuticas es eficaz de 80 a 95% para fasciolas de una a tres semanas de edad y de cuatro a 12 semanas es efectivo un 95 a 100%. En bovinos la eficacia se distribuye de la siguiente manera: una a tres semanas, 80-95%, cuatro a cinco semanas 78-80%, seis a ocho semanas 80-95 % y de nueve semanas en adelante 95-100%. Es bastante efectivo para tratar también *F. gigantica* ^{26,27,28}.

La dosis y vía de administración es de 10 mg/Kg oral para ovinos y 12 mg/Kg oral para bovinos. Tiene un margen de seguridad de 16 ²¹.

El triclabendazol, a diferencia de otros benzimidazoles, presenta una extensa unión a proteínas, mayor a 99% a concentraciones de 6, 9, 12, 22, y 30 mg/ml. Se une a la albúmina y es lentamente liberado en el hígado, la unión no es covalente por lo que los metabolitos pueden ser fácilmente disociados por disolventes orgánicos como la acetona ^{29,30}.

El siguiente cuadro muestra la eficacia promedio observada en algunos fasciolicidas en ovinos ⁶:

PORCENTAJE DE EFICACIA DE FASCIOLICIDAS EN OVINOS												
FARMACO	EDAD DE FASCIOLAS EN SEMANAS											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
TRICLABENDAZOL 10mg/Kg/oral	80-99%		95-100%									
RAFOXANIDE 7.5mg/Kg/oral						95-100%						
CLOSANTEL 7.5mg/Kg/oral						80-99%		95-100%				
NITROXYNIL 10mg/Kg/oral								86%		95-100%		
OKYCLOZANDE 10-13mg/Kg/oral										95-100%		
ALBENDAZOL 7.5mg/Kg/oral										95-100%		

ANTECEDENTES DEL COMPUESTO ALFA

En virtud de la importancia que reviste la fasciolosis en nuestro país, la industria farmacéutica ha introducido a nuestro mercado un considerable número de compuestos fasciolicidas, mismos que, o son de importación o si se producen en México es con materias primas importadas, razón por la que se considera necesario desarrollar un compuesto fasciolicida de producción nacional.

Desde 1985 se ha estado trabajando en el diseño, síntesis y evaluación biológica de diversos compuestos con miras a evaluar la eficacia fasciolocida, reflejando los esfuerzos de una colaboración entre el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) y la Facultad de Química de la UNAM³¹ Entre los compuestos evaluados, surgieron el Fasciolinip 1 y 2, los cuales mostraron porcentajes de eficiencia considerados casi dentro del rango de aceptables ^{32,33,34}.

Posteriormente, a través de la modificación de la estructura química del triclabendazol, se logró sintetizar y evaluar biológicamente la eficacia fasciolicida del 6-cloro-5-(1-naftiloxi)-2-methyltiobencimidazol, denominado compuesto "ALFA" el cual ha mostrado un alto potencial a la dosis de 15mg/Kg/oral contra fasciolas de 10 semanas de edad en ovinos. También se evaluó el compuesto 6-cloro-5-(2-naphtoxy)-2-methyltiobencimidazol, denominado compuesto BETA, obteniéndose un 0.0% de eficacia con este a dosis de 10 y 15 mg/Kg/oral en ovinos, a comparación del producto alfa con el que se obtuvo una eficacia de 80.6 y 86.9 % a las dosis respectivas ³⁵.

En otro estudio posterior, se evaluó la eficacia fasciolicida del compuesto alfa, contra fasciolas de cuatro y ocho semanas de edad en ovinos. Se utilizaron 50 ovinos criollos, los cuales se infectaron oralmente con 200 metacercarias de *F. hepatica*. Cuatro semanas después de la infección, todos los ovinos fueron reinfectados cada uno con 200 metacercarias. Ocho semanas después de la infección inicial, cuando todos los animales estaban positivos a huevos del parásito, fueron divididos al azar en cinco grupos de 10 animales cada uno. Los grupos uno al cuatro, fueron tratados oralmente con el compuesto a una dosis de 10, 15, 22 y 30 mg/Kg/oral respectivamente. El grupo cinco permaneció como testigo sin tratamiento. Dos días después del tratamiento, todos los ovinos fueron sacrificados con el fin de colectar y contar las fasciolas presentes en el hígado. La eficacia se determinó como porcentaje de reducción de fasciolas en los grupos tratados, en comparación con el testigo. Los resultados mostraron que a dosis de 10, 15, 22.2 y 30 mg/Kg/oral, el compuesto alfa eliminó fasciolas de cuatro semanas de edad en un 82.2%, 87.2%, 90.8% y 94.3% y fasciolas de ocho semanas en 81.7%, 88.1%, 87.2% y 90% respectivamente ³⁶.

En virtud de que el compuesto Alfa era dosificado con DMSO en dilución al 5%, se decidió evaluar otros vehículos con miras a mejorar el transporte del compuesto al hígado. Por ello Ibarra y colaboradores, seleccionaron de entre cuatro vehículos el idóneo para formular el compuesto alfa infectando 25 ovinos con 200 metacercarias de *F. hepatica* cada uno, dosificados vía oral con 15 mg/Kg del

compuesto experimental. Los resultados indicaron que el compuesto alfa formulado con los vehículos 1 y 2, mostró una eficacia del 100% contra fasciolas de cuatro y 10 semanas de edad³⁷.

COMPUESTO ALFA

6-cloro-5-(1-naftiloxi)-2-metiltiobencimidazol

Estudios de relación estructura química- actividad farmacológica muestran que se requiere un anillo benzimidazólico y el grupo metilo en posición 2 para la actividad fasciolicida, por lo que a partir de una síntesis de compuestos análogos al triclabendazol, donde el grupo 1,2-diclorofenoxi de este, fue substituido por un equivalente isostérico, el grupo 1 naftiloxi. Es un polvo blanco cristalino con ligero olor característico, su fórmula condensada es $C_{18}H_{13}ClN_2OS$. Su peso molecular es de 340.86 g/mol y tiene un punto de fusión de 171-179°C. Presenta un pKa de 2.87, por lo que presenta características de base débil por lo que la absorción se lleva a cabo en el intestino. Es insoluble en agua y ligeramente soluble en disolventes orgánicos, por lo que su absorción en el tracto gastrointestinal es lenta. En Dimetil sulfóxido la solubilidad es de 0.210mg/ml. Su coeficiente de partición octanol-agua es de 27.63 ($\log P=1.44$) con un coeficiente de variación de 3.54, lo cual demuestra que el compuesto es de carácter liposoluble. Dado que es bien conocido que fármacos con valor de $\log P$ entre 1 y 2 son factibles de ser absorbidos, los resultados muestran que la poca cantidad de fármaco que se encuentra disuelta y no ionizada es fácilmente absorbida. Se metaboliza rápidamente a sulfóxido, presenta una vida media de 6.17 ± 1.12 h, los niveles máximos se alcanzan a las 11 horas y su vida media de eliminación oscila entre las 13.54 y 24.99 horas²⁹.

JUSTIFICACIÓN

En la búsqueda de un nuevo fármaco, es necesario realizar un intenso escrutinio de compuestos que demandan una gran inversión de tiempo y dinero. En el caso del compuesto alfa se tomó la ventaja de la estructura del triclabendazol (TCB), fármaco reconocido mundialmente por su eficacia contra fasciolas juveniles y adultas. Todas las dosis del compuesto alfa que han sido empleadas, han resultado eficaces a nivel estadísticamente significativo ($P < 0.01$) para reducir la carga de fasciolas en porcentajes aceptables en los animales tratados con referencia a los testigos. Con base en los resultados obtenidos en otros trabajos, se manifiesta importante determinar, si el compuesto alfa muestra alta eficacia contra todos los estadios evolutivos de *F. hepatica* en ovinos³⁶.

HIPÓTESIS

El compuesto alfa es efectivo en un porcentaje mayor al 90% contra diversas edades de *F. hepatica* en ovinos.

OBJETIVO

Evaluar la eficacia fasciolicida del 6-cloro-5-(1-naftiloxi)-2-metiltiobencimidazol (compuesto alfa) contra fasciolas de 3 días y 2, 4, 6, 8 y 10 semanas de edad en ovinos infectados experimentalmente.

META

Evaluar la eficacia fasciolicida del compuesto alfa a 15 mg/Kg/oral contra diversas edades del parásito en ovinos, que será del 90%.

MATERIAL Y METODOS

Localización del estudio. El estudio se realizó en las instalaciones del Campo Experimental Pecuario del Estado de Puebla (CIPEP) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).

Animales. Se utilizaron 60 ovinos de raza Pelibuey, de sexo indistinto entre seis meses y un año de edad, libres de infección por *F. hepatica*. Los animales fueron infectados por vía oral con 150 metacercarias de *F. hepatica* por borrego, mismas que se obtuvieron en el laboratorio a partir de la infección de caracoles limnéticos mediante el método descrito por Vera *et al*³⁸ y se administraron en cápsulas de gelatina con ayuda de una pinza dosificadora de 35 cm de longitud.

Compuesto experimental. Se utilizó el compuesto experimental "alfa", el cual se administró en suspensión a la dosis única de 15 mg/Kg/oral. Vehículo: pectina 1.5g, carboximetilcelulosa (baja viscosidad) 0.5g, carboximetilcelulosa (media viscosidad) 0.5g, sacarina USP 0.2g, metilparabeno 0.5g, propilparabeno 0.03g.

Desarrollo del estudio

En el día 0, todos los ovinos se infectaron cada uno con 150 metacercarias de *F. hepatica*. A continuación estos fueron aretados y a su vez divididos en 12 grupos de cinco animales cada uno para realizar los tratamientos como se muestra en el esquema del siguiente diseño experimental:

DISEÑO EXPERIMENTAL				
GRUPOS (n=5)	No.de metacercarias por ovino	Tratamiento compto.ALFA (15mg/Kg/oral)	Serodiagnóstico (ELISA) semanas postinfección	Sacrificio semanas postratamiento
1	150	3 DÍAS	3	4
2	150	testigo	3	4
3	150	2 sem	3	4
4	150	testigo	3	4
5	150	4 sem	3	4
6	150	testigo	3	4
7	150	6 sem	3	4
8	150	testigo	3	4
9	150	8 sem	3	4
10	150	testigo	3	4
11	150	10 sem	3	4
12	150	testigo	3	4

Evaluación. Los ovinos fueron sacrificados de acuerdo a las fechas señaladas en el diseño experimental. A cada animal se le extrajo el hígado para colectar y contar el número de vermes presentes y así determinar el porcentaje de reducción de trematodos con respecto a su testigo. La eficacia del compuesto se midió con base en el número de fasciolas presentes en los grupos tratados con respecto al número de trematodos presentes en su respectivo grupo testigo, siguiendo la metodología de Wood *et al* ³⁹.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza mediante la prueba de Mann-Whitney U Wilcoxon para justificar la diferencia estadística entre

grupos tratados y grupos testigo y al método de Kruskal Wallis para determinar la diferencia en el número de fasciolas entre los grupos testigo⁴⁰.

RESULTADOS

La determinación de la eficacia se realizó a las cuatro semanas postratamiento con el compuesto alfa, con base en el porcentaje de fasciolas presentes en los hígados de animales tratados con referencia al número de trematodos colectados en los hígados de cada grupo testigo.

La colecta de fasciolas por grupos (valores individuales), se aprecia en los cuadros 1 y 1a, donde los grupos tratados (1, 3, 5, 7, 9 y 11) fueron negativos a *F. hepatica*, lo cual indica una eficacia del 100% para todos los grupos tratados.

Con referencia a los grupos testigo (2, 4, 6, 8, 10 y 12), todos fueron positivos al hallazgo de fasciolas a la necropsia y los números de trematodos correspondientes por cada grupo se describen como a continuación se indica:

Máximo de fasciolas colectadas por grupo.

El número máximo de fasciolas colectadas por grupo fue de 59, 47, 41, 58, 51 y 52 para los grupos 2, 4, 6, 8, 10 y 12 respectivamente. (Cuadro 2).

Mínimo de parásitos colectados en los grupos testigo.

El número mínimo de trematodos obtenidos fue de 31, 21, 15, 19, 27 y 25 fasciolas para los grupos 2, 4, 6, 8, 10 y 12 respectivamente. (Cuadro 2)

Total de fasciolas colectadas en los grupos testigo.

Los números correspondientes a este rubro fueron de 197, 163, 165, 197, 215 y 196 fasciolas para los grupos 2, 4, 6, 8, 10 y 12 respectivamente. (Cuadro 2).

Promedio de fasciolas en los grupos testigo.

Grupo 2, 38.4 (± 14.4); grupo 4, 32.6 (± 10.1); grupo 6, 33 (± 10.6); grupo 8, 39.4 (± 14.5); grupo 10, 43 (± 10.3) y grupo 12, 39.2 (± 10.1). (Cuadro 2).

El cuadro número 3, muestra la eficacia conferida por el compuesto alfa para cada uno de los grupos tratados, la cual fue del 100%.

Análisis estadístico

Los datos analizados a través de un análisis de varianza (ANDEVA), mostraron que el compuesto alfa administrado a los tres días, 2, 4, 6, 8 y 10 semanas de edad de *F. hepatica*, redujo el número de trematodos en forma considerable en los

grupos tratados con respecto a los grupos testigo, con una significancia de 0.0053. No hubo evidencia estadística significativa ($p > 0.05$) en el número de fasciolas presentes entre los grupos testigo.

DISCUSIÓN

En el presente estudio, al utilizar el diagnóstico serológico (ELISA indirecta) para comprobar la infección de *F. hepatica* en los 60 borregos a la tercera semana postinfección, la positividad fue del 100% resultados que concuerdan con los obtenidos por Boulard *et al*⁴¹, quienes observaron que esta prueba detecta anticuerpos contra este parásito desde la tercera semana después de la infección. Sin embargo, Malone y Craig⁴², señalan que esta prueba presenta como limitante la dificultad para diferenciar el momento en el que se presenta la infección primaria en animales que han permanecido por un período de tiempo expuestos al trematodo. Esta observación no es válida en este trabajo ya que en el municipio de Hueytamalco Puebla donde se llevó a cabo este estudio, el pH del suelo y la cantidad de calcio y magnesio presentes en éste, hace imposible para los caracoles limnéticos el establecer un hábitat bajo estas condiciones, motivo por el cual los animales jamás habían estado en contacto con *F. hepatica*⁷.

Con base en los resultados obtenidos, se determinó que el compuesto alfa es 100% efectivo contra fasciolas de diversas edades en ovinos. Este porcentaje de eficacia es el mayor que se ha obtenido a partir del inicio de diversos estudios de este compuesto en ovinos. García, en 1977⁴³, realizó un estudio para evaluar la eficacia *in vivo* del compuesto Alfa en 45 ovinos criollos infectados con *F. hepatica* en forma experimental, en fasciolas de ocho semanas de edad, el porcentaje de eficacia fue apenas del 80% a dosis de 10 mg/Kg y 86% con 15 mg/Kg. El vehículo en el que se administró el compuesto Alfa en los últimos estudios, mejoró la eficacia al aumentar su absorción, por lo que en este experimento la eficacia fue del 100%, lo que concuerda con Ibarra *et al*, quienes lograron el 100% de eficacia contra fasciolas de cuatro y 10 semanas de edad en ovinos infectados en forma experimental³⁷.

La eficacia del compuesto Alfa puede compararse con otros fármacos con los resultados obtenidos por otros autores. Calderon y Quiroz,⁴⁴ evaluaron la eficacia

del rafoxanide en borregos a dosis de 10 mg/Kg/oral, obteniendo una eficacia del 81.2% contra fasciolas adultas.

Armour y Corba ⁴⁵ administraron en ovinos dosis de 7.5, 10 y 15 mg/Kg/oral de rafoxanide contra fasciolas de cuatro semanas de edad obteniendo una eficacia del 99, 93 y 96%, respectivamente. Ponikarov, ⁴⁶ evaluó el mismo fármaco en forma intramuscular en solución al 2.5% a 2.5 mg/Kg con una eficacia del 94.2% contra fasciolas inmaduras. En un estudio posterior fue evaluado a esta misma dosis mostrando una eficacia de 85% contra fasciolas de cuatro semanas de edad.

Campbell y Hostson⁴⁷, utilizaron rafoxanide contra fasciolas de 12 semanas de edad a dosis de 2.5 mg/Kg/oral y obtuvieron una eficacia del 97%. En un estudio posterior, los mismos autores evaluaron la oxiclozanida a dosis de 20 mg/Kg/oral y la eficacia fue del 99% contra fasciolas adultas y a dosis de 40 mg/Kg obtuvieron 95% contra fasciolas de siete semanas.

El meniclofolán fue evaluado por Knap *et al*,⁴⁸ a dosis de 3 y 6 mg /Kg/oral eliminando el 93 y 100% de fasciolas adultas en ovinos y con dosis de 8 mg/Kg obtuvieron 95% de eficacia contra fasciolas de cuatro a seis semanas de edad, aunque se encontraron efectos tóxicos con esta dosis.

Por otro lado, el albendazol fue evaluado en tabletas a dosis de 15 mg/Kg/oral produciendo una eficacia del 100% para trematodos adultos y 71.5% contra fasciolas de ocho semanas de edad con 2 tabletas de 76 mg/30Kg/animal.⁴⁹

En otro estudio, combinaciones de diamfenetida y rafoxanide en ovinos administrados a la mitad de la dosis recomendada por el fabricante mostraron una eficacia contra fasciolas juveniles y adultas del 98.1% y la combinación de diamfenetida con albendazol produjo una eficacia del 96.5% contra los mismos estadios ⁵⁰.

En los últimos años se ha estado trabajando en la experimentación de medicamentos nuevos, con los cuales se tiende a reducir los efectos tóxicos y aumentar la eficacia y el costo-beneficio. Dentro de estos medicamentos esta el

closantel, el clorsulon y el triclabendazol. Este último ha demostrado porcentajes muy aceptables de eficacia.

El closantel a dosis de 5 mg/Kg/sc muestra una eficacia de entre 97.5 y 100% contra estadios inmaduros y adultos de *F. hepatica* ⁵¹.

Recientemente se evaluó la eficacia del clorsulon en ovinos a 0.5 ml/25Kg vía subcutánea dando una eficacia del 98.5% a 99% para estadios inmaduros de fasciolas ⁵².

Turnery y Armour, ⁵³ utilizaron el triclabendazol en ovinos a dosis de 5 mg/Kg encontrando una eficacia de 99.7% contra fasciolas adultas.

Boray *et al*, ⁵⁴ mencionan que al administrar el triclabendazol por vía oral en ovinos a dosis de 5 mg/Kg o mayores la eficacia contra los estadios inmaduros parenquimales de seis semanas y adultas de 12 semanas en los conductos biliares es mayor al 99%, pero en estadios inmaduros de 2 a 4 semanas responsables de la fasciolosis aguda en ovinos, no hay resultados satisfactorios. En un estudio posterior, se demostró que el triclabendazol a dosis de 10mg/Kg/oral fue de 93 a 100% eficaz contra fasciolas de cuatro a 12 semanas de edad.

El triclabendazol es el único fasciolicida que es efectivo contra diferentes estadios de *F. hepatica* en ovinos. Se ha demostrado que a dosis de 5 mg/Kg/oral puede eliminar el 97.5% de fasciolas adultas y a 10 mg/Kg/oral el 100% de inmaduras ^{55,56,57}.

Mediante estos estudios puede observarse que la mayoría de los fármacos no son eficaces para las formas juveniles y adultas de *F. hepatica*, o si los son, la dosis tiene que aumentar para tratar estadios inmaduros de esta y al aumentar la dosis aumenta la toxicidad del compuesto. El triclabendazol es el único que muestra una eficacia satisfactoria contra todos los estadios de las fasciolas a dosis de 10 mg/Kg/oral, a diferencia del compuesto Alfa que es 100% efectivo contra todas las edades de *F. hepatica* pero a dosis de 15 mg/Kg/oral. La diferencia de costo por la dosis requerida de uno y otro medicamento, quizá pueda reducirse por ser el

compuesto Alfa producido con materias primas nacionales y evaluarlo en estudios futuros a dosis menores.

En cuanto a la colecta de fasciolas, es bien sabido que la recuperación es proporcional al tratamiento, por lo que en los grupos testigo sin tratamiento, la recuperación fue aproximadamente de un tercio del total de metacercarias dosificadas, resultados que concuerdan con los obtenidos por Vera en 1994⁵⁸. La recuperación de fasciolas en los grupos testigo no alcanzó el 30% probablemente porque la mayoría de las metacercarias dosificadas tenían más de 2.5 meses de almacenados. Sin embargo, el número de fasciolas implantadas fue suficiente para evaluar la eficacia del compuesto alfa.

No existe duda que para nuestro país, el tratamiento químico del ganado es el método de elección para controlar la fasciolosis, por lo que es necesario seguir experimentado en fármacos de producción nacional para bajar costos por tratamiento. Asimismo, es de importancia el evaluar el modo de acción y los márgenes de seguridad de este compuesto y no dejar en segundo término la epidemiología de la enfermedad ya que es herramienta fundamental para elaborar un exitoso programa de desparasitación y realizar campañas rurales.

La fasciolosis animal en zonas endémicas puede presentar tasas de mortalidad de hasta del 50%, por lo que las pérdidas ocasionadas en la eficiencia reproductiva del ganado merma entre un 8% hasta un 39% la producción de carne y lana por lo que la búsqueda de mejores fármacos guiados por estudios de mecanismo de acción y de bioquímica deben de continuar, ya que la FDA y el Japanese Ministry of Health and Welfare, solicitan para su registro estudios farmacocinéticos exhaustivos en diferentes especies animales. Asimismo, al ser el compuesto alfa producido casi en su totalidad con materias primas nacionales, ofrece a corto plazo reducir el costo por tratamiento por animal a comparación de tratamientos con triclabendazol. El compuesto alfa como ya se mencionó, ha demostrado una alta efectividad contra estadios desde inmaduros tempranos hasta adultos de *F. hepatica* en ovinos, sin embargo, se están realizando pruebas de toxicidad y farmacocinética para demostrar que es un producto seguro, poco tóxico y

accesible. En términos de economía, el alfa al igual que el triclabendazol tienen una vida media de eliminación de aproximadamente 25 hrs, la ventaja del triclabendazol es que presenta estos valores a dosis de 10 mg/Kg/oral y el alfa a 15mg/Kg/oral, por lo que para concluir los trabajos de investigación de este compuesto en ovinos, es necesario tratar de disminuir la dosis por animal para bajar costos por tratamiento y así tener la pauta para continuar con las investigaciones en bovinos.

La inhibición química de procesos que son específicos para los trematodos, sin que existan riesgos para el huésped y disminuyan su producción, son líneas de potencial aplicación en el control de estos parásitos. El descubrimiento y el desarrollo comercial de nuevas moléculas con actividad fasciolicida es un proceso excesivamente caro y prolongado pero es herramienta fundamental para la terapia antiparasitaria en medicina veterinaria. Para optimizar la eficacia de los fasciolicidas, debe quedar clara la relación entre la formulación farmacéutica, vía de administración y perfiles farmacocinéticos. El fasciolicida ideal aún no existe, por lo que este estudio es una contribución que aporta resultados promisorios que deben tener continuidad para demostrar que el compuesto alfa puede posicionarse como un fasciolicida seguro en el mercado de fasciolicidas.

El compuesto alfa ofrece un potencial altamente promisorio para controlar y eliminar infecciones por fasciolas adultas y juveniles. Junto con el triclabendazol serían los únicos a nivel mundial capaces de remover todos los estadios evolutivos de *F. hepatica*, es importante hacer notar que el compuesto alfa sería el primero de creación nacional con estas características. Al producir un fasciolicida nacional, se contribuirá a abastecer la demanda de dosis requeridas para el tratamiento contra fasciolosis de bovinos y ovinos, se contará con un producto que tiene eficacia contra estadios juveniles y adultos, característica sumamente deseable ya que el parásito es más patógeno cuando migra de cuatro a seis semanas en el parénquima hepático (etapa juvenil), con lo que se beneficiará grandemente la producción de carne y leche, reduciendo pérdidas económicas por los conceptos anteriormente citados y se disminuirán las importaciones por concepto de

CONCLUSION

Bajo las condiciones en las que se llevó a cabo el presente estudio, se concluye que el compuesto alfa administrado en suspensión a dosis única de 15 mg/Kg/oral fue efectivo en un 100% contra estadios inmaduros y adultos de *F. hepatica* en ovinos infectados en forma experimental.

LITERATURA CITADA

1. Soulsby E.J.L. Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. México, D.F.: Interamericana, 1988.
2. Quiroz R.H. Memorias de zoonosis parasitarias. México D.F.: Fac. de Med. Vet. Y Zootec. UNAM, 1991.
3. Nari A, Fiel C. Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos. Bases epidemiológicas para su prevención y control. Argentina:hemisferio sur, 1988.
4. Quiroz R.H. Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. México : Limusa, 1990.
5. Georgi J.R. Parasitology for veterinarians. 5th edition N.Y.: W.B. Saunders, 1990.
6. Quiroz R.H. Diagnóstico y control de parásitos de animales y el hombre. México D.F.: Fac. de Med. Vet. y Zootec. UNAM, 1991.
7. Mattos MJT, Veno H. Manutencao de Lymnaea vicatrix em condicoes laboratorias. A Hora Veterinaria 1985; 26:48-50.
8. Christensen N.O. A review of the influence of host parasites related factors and viromental conditions on the host finding capacity of the trematode miracidium. Acta Tropica 1980;37:303-318.
9. Joergensen R.J. Preventive anthelmintic treatment of grazing young cattle via supplementary feed and drinking water. Veterinary Record 1987;121:468-471.
10. Horten R. Benzimidazoles in a wormy world. Parasitology Today 1990;6:106.
11. Roberson E. Antinematodal drugs. In Veterinary Pharmacology and Therapeutics. Iowa:Booth, 1982.
12. Lacey E. Mode of action of benzimidazoles. Parasitology Today 1990;6:112-115.
13. Lubega G, Prichard R. Specific interaction of benzimidazole anthelmintics tubulin: High affinity binding and benzimidazole resistance. Molecular and Biochemical Parasitology 1990;38:221-232.

14. Baggot J. Some aspects of clinical pharmacology kinetics in veterinary medicine. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 1978;1:5-18.
15. Zimmerman G. Controlled release devices for the delivery of anthelmintics in cattle. *Parasitology Today* 1988;4:55-56.
16. Hennessy D. The kinetics of triclabendazole dispoition in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 1987;10:64-72.
17. Mc Kellar Q, Scott E. The benzimidazole anthelmintic agents a review. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 1990;13:223-247.
18. Mohammed A. Pharmacokinetics of triclabendazole alone or in combination with fenbendazole in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 1986;9:442-445.
19. Lanusse C, Gascon L, Prichard R. Gastrointestinal distribution of albendazole metabolites following netobimin administration to cattle. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 1993;16:38-47.
20. Sumano HL, Ocampo LC. *Farmacología Veterinaria*. México:McGraw-Hill,1997.
21. Sumano HL. *Farmacología clínica en bovinos*. México:SUA FMVZ UNAM, 1990.
22. Baragry TB. *Veterinary drug therapy*. Philadelphia:Lea & Febiger, 1994.
23. Sanyal PK, Gupta SC. Efficacy and pharmacokinetics of triclabendazole in buffalo wiith induced fasciolosis. *Veterinary Parasitology* 1996;63:75-82.
24. Anderson N, Petch DA, Tan LX. Treatment and control of the intestinal fluke. *Veterinary Parasitology* 1993;51:61-68.
25. Martínez AM, Jiménez V, Martínez MS. Triclabendazole treatment in experimental goat fasciolosis:anthelmintic efficacy and influence in antibody response and pathophysiology of the disease. *Veterinary Parasitology* 1997;68:56-57.
26. Boray JC, Crowfoot PD, Strong MB, Allson JR, Schellenbaum M, Orelli VM, Serasin G. Treatment of immature and mature *Fasciola hepatica* in sheep with triclabendazole. *Veterinary Record* 1983;13:315-317.

27. Craig TM, Huey RL. Efficacy of triclabendazole against *Fasciola hepatica* and *Fascioloides magna* in naturally infected calves. *American Journal of Veterinary Research* 1984;45:1644-1645.
28. Wolf K, Eckert J, Schnerter G, Lutz H. Efficacy of triclabendazole against *Fasciola hepatica* in sheep and goat. *Veterinary Parasitology* 1983;13:145-150.
29. Del Rivero RLM. Farmacocinética del aBioF10 en borregos (tesis maestría). México, D.F. Facultad de Química. UNAM, 1998.
30. Sanyal PK. Pharmacokinetics study of the triclabendazole in sheep and goat using a high performance liquid chromatography method. *Indian Journal of Pharmacology* 1994;18:370-374.
31. Castillo R, Hernández A. Estudios sobre la síntesis química *in vitro* contra *F. hepatica* en algunos derivados del bencimidazol. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 1995;22:11-15.
32. Ibarra VF, Vera MY, Olazarán JS, Hernández CA, Castillo BR. Fasciolinip-1: Eficacia fasciolicida Experimental en ovinos. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 1995;37:171-178.
33. Ibarra VF, Vera MY, Hernández CA, Castillo BR, Olazarán JS. Fasciolinip-2: Eficacia fasciolicida experimental en ovinos. *Parasitología al día* 1995;19:113-118.
34. Ibarra VF, Vera MY, Hernández CA, Castillo BR. Eficacia de un compuesto experimental contra *F. hepatica* juvenil y adulta en ganado ovino. *Veterinaria México* 1996;27:119-122.
35. Ibarra VF, García SE, Fernández RM, Vera MY, Hernández CA, Castillo BR. Eficacia de dos compuestos de síntesis química *in vivo* e *in vitro* en ovinos. *Veterinaria México* 1997;28:4-11.
36. Ibarra VF, García SE, Vera MY, Hernández CA, Castillo BR. Eficacia fasciolicida del compuesto ALFA contra estadios juveniles y adultos en ovinos. *Veterinaria México* 1997; 28:4-8.

37. Ibarra VF, Vera MY, Montenegro CN, Flores CJ, Hernández CA, Castillo BR. Evaluación de cuatro vehículos para formular un fasciolicida experimental. *Veterinaria México* 2000; 31:47-51.
38. Vera M, Flores C, Marañón H. Evaluación de diferentes dietas alimenticias para cultivo en condiciones de laboratorio de *Lymnaea cubensis* y *L. humilis*. *Tec. Pec. Mex.* 1987;25:347-364.
39. Wood IB, Amarcal NK, Barden K, Duncan JL, Kassai T, Malone JB, Pankavich JA, Reinecke RK, Slocombe O. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants. *Veterinary Parasitology* 1995;58:181-213.
40. Wayne WD. Applied nonparametric statistics. Boston: Houghton Mifflin Company, 1978.
41. Boulard C, Bouvry M, Argente G. Comparision de la detetion des foyers de fasciolose par test ELISA sur lactosérum et sérum et par coproscopie. *Ann Rech Vet* 1985;16:363-368.
42. Malone JB, Craig MT. Cattle liver flukes: Risk assesement and control. *Comunicación Continua Educación Práctica Veterinaria* 1990;12:747-754.
43. García SE. Evaluación antihelmíntica de 2 compuestos de síntesis química contra *F. hepatica* en ovinos infectados experimentalmente (tesis licenciatura). México, D.F. : Instituto Tecnológico Agropecuario No. 9 , 1993.
44. Calderon CJ, Quiroz RH. Eficiencia del rafoxanide contra *Fasciola hepatica* en ovinos. Una década de investigación en el Departamento de Parasitología. S.A.R.H. 1972-1982.
45. Armour J, Corba J. The anthelmintic activity of rafoxanide against immature *Fasciola hepatica* in sheep. *Veterinary Record* 1970; 87:213-214.
46. Ponikarov AV. Efficacy of soluble forms of Disalan and its analogues fasciolosis in sheep. *Byulleten-Vsesyuznogo-Instituta-Gel'mintologii-im* 1989;52:87.

47. Campbell NJ, Hostson IK. The anthelmintic efficiency of clixanide and rafoxanide against *Fasciola hepatica* and *Haemonchus contortus* in sheep. *Australian Veterinary Journal* 1971;26:1021-1074.
48. Knap SE, Nyberg PA, Doston VJ, Shaw JN. Efficacy of bayer 9015 against *Fasciola hepatica* in sheep. *American journal Veterinary Research* 1965; 26:1021.
49. Onar E. efficacy of thiophanate and albendazole against natural infection of *Dicrocoelium dendriticum* and *Fasciola hepatica*. *Veterinary Parasitology* 1990;35:139-145.
50. Ibarra VF, Tovar CG, Montenegro VY. Acción aditiva de dos fasciolicidas en ovinos criollos. *Veterinaria México* 1989;20:203-208.
51. Romaniuk K, Lipinski Z. Effective anthelmintics for treatment of fasciolosis and gastrointestinal parasitoses in sheep and cattle. *Magazyn Wetwinaryjny* 1995;4:444-447.
52. Merial GH. Efficacy of an injectable ivermectin/clorsulon combination against *Fasciola hepatica* in sheep. *Veterinary Record* 1999;115:16.
53. Turnery RJ, Armour RJ. Anthelmintic efficacy of triclabendazole against *Fasciola hepatica* in sheep. *Veterinary Record* 1984;114:31-42.
54. Boray JC, Crowfoot PD, Strong MB. A new drug for the treatment of immature and mature *Fasciola hepatica* infection in sheep. *Veterinary Record* 1983;87:213.
55. Ramisz A, Urban E, Balicka LA. The usefulness of Fasinex for the control of fasciolosis in sheep. *Higieny Wet* 1986;32:93-98.
56. Fawcett AR. A study of a restricted programme of strategic dosing against *Fasciola hepatica* with triclabendazole. *Veterinary Record* 1990;127:492-493.
57. Mases L, Vanparijs O, Lauwers H, Deckers W. Comparative efficacy of closantel and triclabendazole against *Fasciola hepatica* in experimentally infected sheep. *Veterinary Record* 1990;127:450-452.

58. Vera MY. Comparación de la eficacia e impacto inmunológico de 2 fasciolicidas contra *Fasciola hepatica* en borregos pelibuey infectados experimentalmente (tesis maestría). México, D.F. Facultad de Ciencias. UNAM, 1994.

Cuadro 1

COLECTA DE *Fasciola hepatica* DE DIVERSAS EDADES EN OVINOS INFECTADOS EN FORMA EXPERIMENTAL

GRUPOS (n=5)	NUMERO DE ANIMAL	TRATAMIENTO 5 mg/Kg/oral (día/semana)	TOTAL DE FASCIOLAS A LA NECROPSIA
1	1	3 días	0
	2	3 días	0
	3	3 días	0
	4	3 días	0
	5	3 días	0
2	6	testigo	31
	7	testigo	23
	8	testigo	59
	9	testigo	47
	10	testigo	32
3	11	2 semanas	0
	12	2 semanas	0
	13	2 semanas	0
	14	2 semanas	0
	15	2 semanas	0
4	16	testigo	38
	17	testigo	47
	18	testigo	21
	19	testigo	26
	20	testigo	31
5	21	4 semanas	0
	22	4 semanas	0
	23	4 semanas	0
	24	4 semanas	0
	25	4 semanas	0
6	26	testigo	33
	27	testigo	41
	28	testigo	40
	29	testigo	36
	30	testigo	15

Cuadro 1a

COLECTA DE <i>Fasciola hepatica</i> DE DIVERSAS EDADES EN OVINOS INFECTADOS EN FORMA EXPERIMENTAL			
GRUPOS (n=5)	NUMERO DE ANIMAL	TRATAMIENTO 15mg/Kg/oral (SEMANA)	TOTAL DE FASCIOLAS A LA NECROPSIA
7	31	6 semas	0
	32	6 semas	0
	33	6 semas	0
	34	6 semas	0
	35	6 semas	0
8	36	testigo	19
	37	testigo	32
	38	testigo	58
	39	testigo	43
	40	testigo	45
9	41	8 semanas	0
	42	8 semanas	0
	43	8 semanas	0
	44	8 semanas	0
	45	8 semanas	0
10	46	testigo	46
	47	testigo	52
	48	testigo	27
	49	testigo	39
	50	testigo	51
11	51	10 semanas	0
	52	10 semanas	0
	53	10 semanas	0
	54	10 semanas	0
	55	10 semanas	0
12	56	testigo	35
	57	testigo	44
	58	testigo	52
	59	testigo	25
	60	testigo	40

Nota. Todos los ovinos fueron positivos a *F. hepatica* mediante Dx/ELISA a la 3ª sem p.i. Se consideró positiva una muestra individual cuando su valor de absorbancia fue igual o mayor al punto de corte de ELISA (0.05).

Cuadro 2

COLECTA DE *Fasciola hepatica* POR GRUPO

EN OMNOS INFECTADOS EN FORMA EXPERIMENTAL

GRUPOS (N=5)	TRATAMIENTO 15 mg/Kg/oral	MINIMO DE FASCIOLAS COLECTADAS	MAXIMO DE FASCIOLAS COLECTADAS	PROMEDIO DE FASCIOLAS + D.E.*	TOTAL DE FASCIOLAS EN EL GRUPO
1	3 días	0	0	0	0
2	testigo	31	59	38.4 + 14.41	197
3	2 semanas	0	0	0	0
4	testigo	21	47	32.6 + 10.12	163
5	4 semanas	0	0	0	0
6	testigo	15	41	33 + 10.6	165
7	6 semanas	0	0	0	0
8	testigo	19	58	39.4 + 14.57	197
9	8 semanas	0	0	0	0
10	testigo	27	51	43 + 10.31	215
11	10 semanas	0	0	0	0
12	testigo	25	52	39.2 + 10.1	196

- DESVIACIÓN ESTÁNDAR

Cuadro 3

**EFICACIA DEL COMPUESTO ALFA CONTRA
F. hepatica DE DIFERENTES EDADES EN OVINOS
INFECTADOS EN FORMA EXPERIMENTAL**

GRUPOS (N=5)	EDAD DE FASCIOLAS AL MOMENTO DEL TRATAMIENTO (15mg/Kg/oral)	EFICACIA %
1	3 días	100
2	testigo	0
3	2 semanas	100
4	testigo	0
5	4 semanas	100
6	testigo	0
7	6 semanas	100
8	testigo	0
9	8 semanas	100
10	testigo	0
11	10 semanas	100
12	testigo	0