

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EVALUACIÓN DE LA EFICACIA FASCIOLICIDA DEL COMPUESTO
EXPERIMENTAL CMC12 EN OVINOS INFECTADOS ARTIFICIALMENTE**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

PRESENTA

ABEL ZAPATA ARENAS

Asesor:

Dr. Froylán Ibarra Velarde

México, D. F.

2010



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:

Joaquín Zapata Durán por darme la vida, su cariño y la oportunidad de superarme, a mi madre Marcelina Arenas Martínez por apoyarme en mis estudios, por todo tu amor, cariño y comprensión, gracias por enseñarme a valorar desde lo detalles más pequeños hasta las cosas más sorprendentes, por enseñarme que todas las personas son tan valiosas como uno mismo, así como también a enseñarme que lo mismo cuesta hacer las cosas bien que hacerlo mal, por hacerme un hombre de bien por todo esto solo te puedo decir MUCHAS GRACIAS MAMÁ y esta tesis es también tuya.

A mis cuatro hermanos por ser mis mayores ejemplos en la vida:

A mi hermana Delia, por enseñarme a no darme por vencido, que la vida da muchas sorpresas y aunque nos vaya mal siempre hay una luz solo necesitamos buscarla y sé que siempre encontrare un apoyo en ti.

A mi hermano Joaquín, gracias por todo, por enseñarme los valores de la amistad, honestidad, sinceridad, respeto, responsabilidad, lealtad, ha enseñarme a trabajar, por tu apoyo sin esperar nada a cambio, gracias por tú ejemplo, por ser un guía, un amigo, un compañero y sobre todo por ser mi hermano.

A mis hermanos Paco y Rogelio, por su apoyo, cariño, respeto y por ser también un ejemplo para mí al no darse por vencido en sus metas en la vida.

A mis sobrinos Pepe, Luis, Fernanda y Julio para que esto sea un ejemplo para ustedes y vean que todo lo que se propongan lo pueden lograr.

A mi esposa e hija:

A mi esposa Claudia porque has llegado a mi vida y hemos compartido momentos difíciles y momentos hermosos, me has apoyado para la realización de esta tesis que hemos estado esperando con tanto anhelo, te agradezco por tu apoyo, paciencia, confianza y por tu amor incondicional, te agradezco todos los momentos maravillosos que hemos pasado juntos, te agradezco por estar conmigo cada día y apoyarme a seguir adelante así como yo te he apoyado por eso somos una familia TE AMO MUCHO.

A mi pequeña, a mi niña, por lo que uno daría la vida sin pensar, a ti Ana Estrella que has llegado para guiarnos a seguir adelante y dar lo mejor de nosotros, para darte un buen ejemplo, para enseñarte los valores que deben de estar presentes en tu vida, para hacerte una buena persona. Cuando puedas leer esto sabrás que eras y eres lo más importante para tu mamá como para mí, TE ADORO MI PRINCESA.

A mis amigos:

Mario Aponte, Francisco Simón, Ernesto Fentanes, Eduardo Aguilar y Alejandro Avellana por su gran amistad y apoyo durante los momentos difíciles y felices que hemos pasado juntos.

Y a todos los que no fueron mencionados pero que estuvieron de alguna forma involucrados en mi formación académica y personal, muchas gracias.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor el Dr. Froylán Ibarra Velarde por su apoyo incondicional, su amistad y su enseñanza de la parasitología y por sus consejos que solo las personas valiosas nos da para seguir siendo una mejor persona.

A mi honorable jurado:

MVZ. Irene Cruz Mendoza

MVZ. Aldo Bruno Alberti Navarro

MVZ. David Paez Esquiliano

MVZ. Froylán Ibarra Velarde

Biol. Remedios Yolanda Vera Montenegro

Al proyecto PAPIIT – DEGPA UNAM clave IN207106-3 por el financiamiento otorgado para esta tesis.

Al Doctor de la facultad de Química Rafael Castillo Bocanegra y al químico Carlos Alberto Méndez Cuesta por la elaboración del fármaco involucrado en este trabajo.

Al Doctor Germinal Jorge Cantó Alarcón por su participación en la parte experimental de este proyecto.

A los Doctores Héctor Quiroz, Juan Antonio Figueroa, Yazmín Alcalá, Yolanda Vera, Irene Cruz y al MVZ Alberto Ramírez por su amistad y por compartirme sus conocimientos y sus experiencias.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por abrirme sus puertas y por dejarme pertenecer a esta gran institución.

Contenido

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
JUSTIFICACIÓN.....	12
HIPÓTESIS.....	13
OBJETIVO.....	13
MATERIAL Y MÉTODOS.....	14
RESULTADOS.....	18
DISCUSIÓN.....	21
REFERENCIAS.....	25

RESUMEN

ABEL ZAPATA ARENAS. Evaluación de la eficacia fasciolicida del compuesto experimental CMC12 en ovinos infectados artificialmente. (Bajo la dirección de: Dr. Froylán Ibarra Velarde).

El objetivo del presente estudio fue el de evaluar la eficacia fasciolicida del compuesto experimental CMC12 contra una infección inducida de *Fasciola hepatica* adulta de 10 semanas de edad, en ovinos infectados experimentalmente. Se utilizaron 24 ovinos criollos, de sexo indistinto entre 10 y 12 meses de edad, libres de *Fasciola hepatica*, los cuales se infectaron con 250 metacercarias del trematodo por animal. A los 75 días postinfección, los ovinos fueron analizados individualmente en sus heces para demostrar la positividad a huevos de *F. hepatica* utilizando la técnica de sedimentación. Seguidamente, los ovinos se dividieron en 4 grupos de 6 animales cada uno para realizar el tratamiento. El grupo 1 recibió una dosis de 10 mg/Kg vía oral del compuesto CMC12. El grupo 2 recibió una dosis de 12 mg/Kg vía oral. El grupo 3 fue tratado con 14 mg/Kg vía oral. El grupo 4 fungió como testigo sin tratamiento. A los 30 días postratamiento se tomó una muestra de heces de cada ovino para demostrar su positividad a huevos del trematodo y seguidamente estos fueron llevados al rastro para su sacrificio como lo marca la NOM- 033-ZOO-1995, a fin de coleccionar el hígado para contar las fasciolas presentes y sus vesículas para obtener los huevos a fin de poder cultivarlos. La eficacia fue medida con base en el porcentaje de reducción de huevos y fasciolas presentes, así como en su longitud y desarrollo embrionario de los huevos incubados. Los resultados obtenidos mostraron que el número promedio de fasciolas encontradas por grupo fue de 37.8, 24.6, 27.8 y 27.8 correspondiendo a una eficacia de 0.0%, 11.2% y 0.0% para los grupos 1 al 3, respectivamente, indicando que solo en el grupo 2 se ejerció una ligera eficacia. Con relación al porcentaje de reducción de huevos del trematodo, este fue de 0.0%, 0.0% y 8.8%, respectivamente, en donde igualmente no se demostró diferencia significativa alguna. Con referencia a la longitud de fasciolas se observó una pequeña disminución en la talla entre los grupos 1 (2.13 cm), 2 (2.14 cm) y 3 (2.14cm) con relación al grupo 4 (2.44 cm). En lo referente al desarrollo del embrión se observó una eclosión mayor en el grupo testigo con respecto a los grupos tratados. Existe sospecha de que el vehículo con el cual fue formulado el compuesto experimental no fue el adecuado, en virtud de que no permitió llevar las concentraciones requeridas al hígado y conductos biliares para ejercer un efecto como se hubiera esperado. Se concluye que el compuesto experimental CMC12, no mostró eficacia satisfactoria contra fasciolas adultas de 10 semanas en ovinos infectados en forma experimental.

INTRODUCCIÓN

La fasciolosis es una enfermedad parasitaria ocasionada por la presencia y acción del trematodo *Fasciola hepatica*¹, este parásito afecta principalmente el ganado bovino, ovino y caprino, pero puede presentarse en cerdos, equinos, conejos, ratas, animales silvestres y en ocasiones en el ser humano por lo que se considerada como una zoonosis, la cual es un serio problema a nivel mundial^{2, 3, 4}.

La relevancia de esta parasitosis radica en las grandes pérdidas económicas que produce a la ganadería⁵, las cuales se producen por causas directas debido a la muerte de animales jóvenes en infestaciones masivas de formas juveniles de este parasito e indirectas por la baja producción de carne, leche, abortos, decomiso de hígados en el rastro cuando los animales son llevados al sacrificio⁶, predisposición a otras enfermedades y gastos por tratamientos^{7, 8}. Por ejemplo estudios en bovinos muestran que la fasciolosis causa una disminución productiva del 8% en infecciones leves y más del 20% en los casos graves⁹.

Morfología

Fasciola hepatica es un parasito hermafrodita que llega a medir de 18 a 50 mm de largo por 4 a 14 mm de ancho, su cuerpo es aplanado dorsoventralmente, tiene forma foliácea (hoja), su cuerpo está cubierto por pequeñas espinas, en fresco presenta un color pardo grisáceo, su parte anterior es más ancha que la parte posterior, en la parte anterior presenta una proyección cónica seguida de un par de hombros anchos¹⁰, en el extremo anterior de esta proyección posee a la ventosa oral y a la altura de los hombros se encuentra la ventosa ventral, la boca se encuentra cerca de la ventosa oral que continua con una faringe musculosa y

luego con el esófago que se conecta directamente al intestino que se bifurca a poca distancia de la ventosa oral, formando ramas primaria y secundarias que se extienden hasta la parte posterior del cuerpo ¹¹. El sistema reproductor se conforma por los testículos que se encuentran ramificados y que se extienden en la parte posterior, los ovarios son ramificados, el poro genital se localiza debajo de la ventosa ventral. Las glándulas vitelógenas se encuentran ocupando los márgenes laterales.

Los huevos miden de 130 a 150 por 63 a 90 micras, poseen un opérculo, su cáscara es relativamente delgada, está teñida por pigmentos biliares de tonos amarillentos en su interior y estos huevos no están embrionados cuando son eliminados ¹¹.

Ciclo biológico

Los huevos pasan al duodeno con la bilis y salen del huésped con las heces. Para que los huevos sigan su desarrollo en el medio ambiente se necesita de un medio hídrico como charcos, potreros inundables, canales de curso lento etc. A una temperatura de 26°C, los huevos eclosionan alre dedor de 9 a 10 días, pero a temperaturas de 10°C no se desarrollan, pero siguen viables durante un largo periodo y pueden continuar su desarrollo cuando las condiciones vuelven a ser favorables.

El miracidio se encuentra dentro del huevo formado por una mancha ocular en forma de X, glándulas, espolón cefálico y en su cuerpo presenta cilios. El miracidio una vez que eclosiona debe buscar a su huésped intermediario para que pueda seguir su desarrollo, debido a que no puede vivir más de 24 horas en vida libre o a temperaturas bajas. La acción foto trópica de la mancha ocular atrae al miracidio

hacia la superficie del agua, nada hasta llegar a un caracol del género *Lymnaea*, en México pueden ser *L. bulimoides*, *L. cubensis*, *L. humilis* en Centro y en Sudamérica, *L. truncatula*, *L. columella* en cuya cavidad respiratoria o a través del tegumento del pie penetra con ayuda del botón cefálico infectando a estos caracoles.

El miracidio una vez que penetra el caracol pierde su cubierta y se transforma en **esporoquiste** a partir de esta pared se forman de 5 a 10 masas germinativas que se convierten en **redias**, éstas fuerzan a la pared del esporoquiste la cual continua creciendo en las glándulas intestinales del caracol, en su pared corporal las redias forman más de 50 masas germinativas que dan lugar a las cercarías. Si las condiciones de temperatura y alimentación de los caracoles son buenas pueden provocar a una segunda generación de redias. Después de 6 a 8 semanas las redias generan cercarías las cuales abandonan a las redias a través de su abertura tocológica y al caracol por su aparato respiratorio.

Las cercarías liberadas llegan a medir de 260 a 320 por 200 a 240 micras sin tomar en cuenta la cola propulsora que es de 500 micras. La cantidad de cercarías liberadas por un solo miracidio es de 400 a 1000 ¹². Las cercarías una vez liberadas nadan activamente, después de poco tiempo y de que redondea su cuerpo se adhieren a la superficie de plantas para transformarse en metacercarias las cuales constituyen la fase infectante.

La infestación se realiza cuando las metacercarias son ingeridas junto con el alimento contaminado. En el intestino se disuelve la membrana quística externa y queda libre el joven trematodo que mide 250 micras, éste penetra el intestino hasta llegar a la cavidad peritoneal en un tiempo de 2 a 28 horas, luego penetra el

hígado perforando la cápsula de Glisson, posteriormente de 4 a 6 días llega al tejido hepático por el que vaga de 6 a 8 semanas hasta finalmente asentarse en los conductos biliares (figura 1). La vida del parásito en los conductos biliares del ovino es de 6 o más años y en el caso de los bovinos es alrededor de 1 año.

Las fasciolas jóvenes se nutren con sangre y tejido hepático, las adultas con sangre, bilis y tejido proliferado ^{10, 11}.

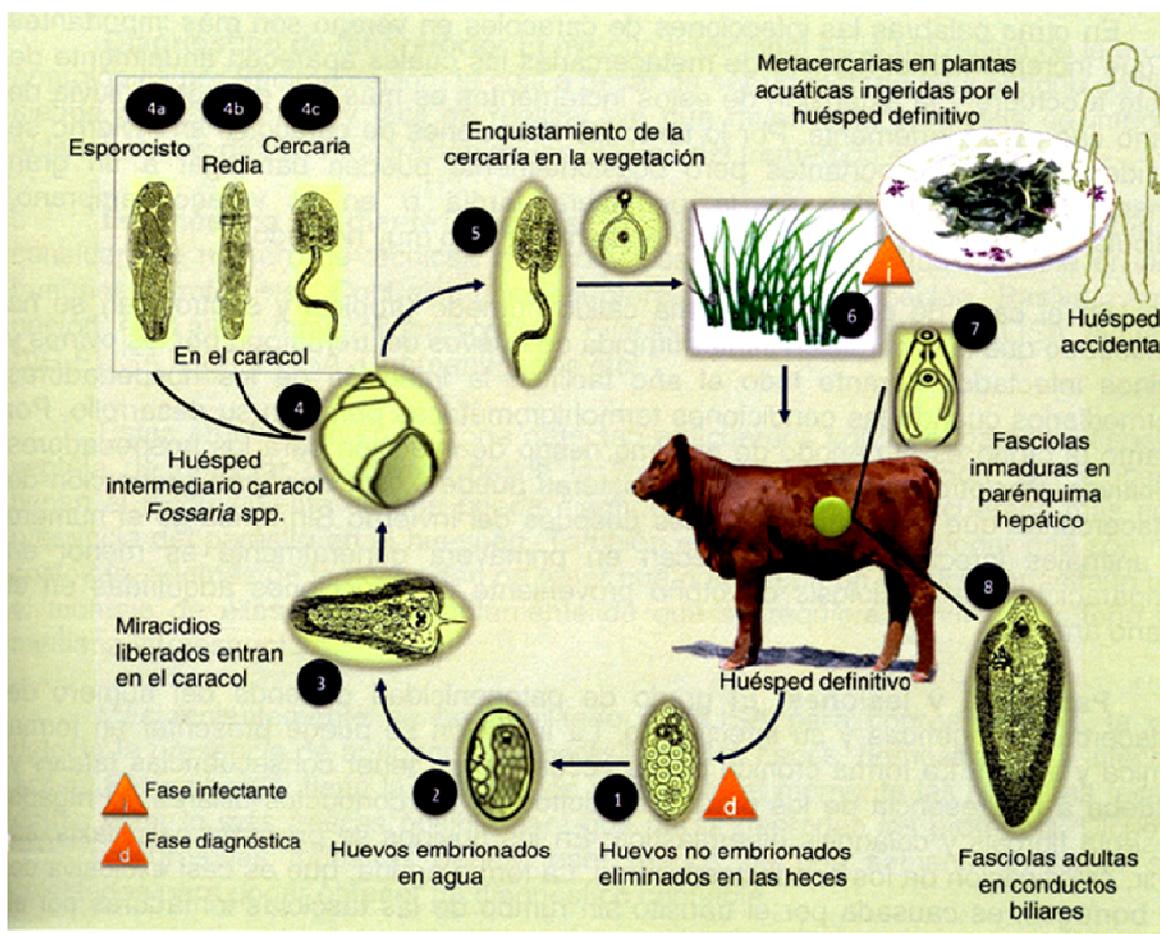


Figura 1. Ciclo biológico de *Fasciola hepatica* ¹³.

RESUMEN

ABEL ZAPATA ARENAS. Evaluación de la eficacia fasciolicida del compuesto experimental CMC12 en ovinos infectados artificialmente. (Bajo la dirección de: Dr. Froylán Ibarra Velarde).

El objetivo del presente estudio fue el de evaluar la eficacia fasciolicida del compuesto experimental CMC12 contra una infección inducida de *Fasciola hepatica* adulta de 10 semanas de edad, en ovinos infectados experimentalmente. Se utilizaron 24 ovinos criollos, de sexo indistinto entre 10 y 12 meses de edad, libres de *Fasciola hepatica*, los cuales se infectaron con 250 metacercarias del trematodo por animal. A los 75 días postinfección, los ovinos fueron analizados individualmente en sus heces para demostrar la positividad a huevos de *F. hepatica* utilizando la técnica de sedimentación. Seguidamente, los ovinos se dividieron en 4 grupos de 6 animales cada uno para realizar el tratamiento. El grupo 1 recibió una dosis de 10 mg/Kg vía oral del compuesto CMC12. El grupo 2 recibió una dosis de 12 mg/Kg vía oral. El grupo 3 fue tratado con 14 mg/Kg vía oral. El grupo 4 fungió como testigo sin tratamiento. A los 30 días postratamiento se tomó una muestra de heces de cada ovino para demostrar su positividad a huevos del trematodo y seguidamente estos fueron llevados al rastro para su sacrificio como lo marca la NOM- 033-ZOO-1995, a fin de coleccionar el hígado para contar las fasciolas presentes y sus vesículas para obtener los huevos a fin de poder cultivarlos. La eficacia fue medida con base en el porcentaje de reducción de huevos y fasciolas presentes, así como en su longitud y desarrollo embrionario de los huevos incubados. Los resultados obtenidos mostraron que el número promedio de fasciolas encontradas por grupo fue de 37.8, 24.6, 27.8 y 27.8 correspondiendo a una eficacia de 0.0%, 11.2% y 0.0% para los grupos 1 al 3, respectivamente, indicando que solo en el grupo 2 se ejerció una ligera eficacia. Con relación al porcentaje de reducción de huevos del trematodo, este fue de 0.0%, 0.0% y 8.8%, respectivamente, en donde igualmente no se demostró diferencia significativa alguna. Con referencia a la longitud de fasciolas se observó una pequeña disminución en la talla entre los grupos 1 (2.13 cm), 2 (2.14 cm) y 3 (2.14cm) con relación al grupo 4 (2.44 cm). En lo referente al desarrollo del embrión se observó una eclosión mayor en el grupo testigo con respecto a los grupos tratados. Existe sospecha de que el vehículo con el cual fue formulado el compuesto experimental no fue el adecuado, en virtud de que no permitió llevar las concentraciones requeridas al hígado y conductos biliares para ejercer un efecto como se hubiera esperado. Se concluye que el compuesto experimental CMC12, no mostró eficacia satisfactoria contra fasciolas adultas de 10 semanas en ovinos infectados en forma experimental.

INTRODUCCIÓN

La fasciolosis es una enfermedad parasitaria ocasionada por la presencia y acción del trematodo *Fasciola hepatica*¹, este parásito afecta principalmente el ganado bovino, ovino y caprino, pero puede presentarse en cerdos, equinos, conejos, ratas, animales silvestres y en ocasiones en el ser humano por lo que se considerada como una zoonosis, la cual es un serio problema a nivel mundial^{2, 3, 4}.

La relevancia de esta parasitosis radica en las grandes pérdidas económicas que produce a la ganadería⁵, las cuales se producen por causas directas debido a la muerte de animales jóvenes en infestaciones masivas de formas juveniles de este parásito e indirectas por la baja producción de carne, leche, abortos, decomiso de hígados en el rastro cuando los animales son llevados al sacrificio⁶, predisposición a otras enfermedades y gastos por tratamientos^{7, 8}. Por ejemplo estudios en bovinos muestran que la fasciolosis causa una disminución productiva del 8% en infecciones leves y más del 20% en los casos graves⁹.

Morfología

Fasciola hepatica es un parásito hermafrodita que llega a medir de 18 a 50 mm de largo por 4 a 14 mm de ancho, su cuerpo es aplanado dorsoventralmente, tiene forma foliácea (hoja), su cuerpo está cubierto por pequeñas espinas, en fresco presenta un color pardo grisáceo, su parte anterior es más ancha que la parte posterior, en la parte anterior presenta una proyección cónica seguida de un par de hombros anchos¹⁰, en el extremo anterior de esta proyección posee a la ventosa oral y a la altura de los hombros se encuentra la ventosa ventral, la boca se encuentra cerca de la ventosa oral que continua con una faringe musculosa y

luego con el esófago que se conecta directamente al intestino que se bifurca a poca distancia de la ventosa oral, formando ramas primaria y secundarias que se extienden hasta la parte posterior del cuerpo ¹¹. El sistema reproductor se conforma por los testículos que se encuentran ramificados y que se extienden en la parte posterior, los ovarios son ramificados, el poro genital se localiza debajo de la ventosa ventral. Las glándulas vitelógenas se encuentran ocupando los márgenes laterales.

Los huevos miden de 130 a 150 por 63 a 90 micras, poseen un opérculo, su cáscara es relativamente delgada, está teñida por pigmentos biliares de tonos amarillentos en su interior y estos huevos no están embrionados cuando son eliminados ¹¹.

Ciclo biológico

Los huevos pasan al duodeno con la bilis y salen del huésped con las heces. Para que los huevos sigan su desarrollo en el medio ambiente se necesita de un medio hídrico como charcos, potreros inundables, canales de curso lento etc. A una temperatura de 26°C, los huevos eclosionan alrededor de 9 a 10 días, pero a temperaturas de 10°C no se desarrollan, pero siguen viables durante un largo periodo y pueden continuar su desarrollo cuando las condiciones vuelven a ser favorables.

El miracidio se encuentra dentro del huevo formado por una mancha ocular en forma de X, glándulas, espolón cefálico y en su cuerpo presenta cilios. El miracidio una vez que eclosiona debe buscar a su huésped intermediario para que pueda seguir su desarrollo, debido a que no puede vivir más de 24 horas en vida libre o a temperaturas bajas. La acción foto trópica de la mancha ocular atrae al miracidio

hacia la superficie del agua, nada hasta llegar a un caracol del género *Lymnaea*, en México pueden ser *L. bulimoides*, *L. cubensis*, *L. humilis* en Centro y en Sudamérica, *L. truncatula*, *L. columella* en cuya cavidad respiratoria o a través del tegumento del pie penetra con ayuda del botón cefálico infectando a estos caracoles.

El miracidio una vez que penetra el caracol pierde su cubierta y se transforma en **esporoquiste** a partir de esta pared se forman de 5 a 10 masas germinativas que se convierten en **redias**, éstas fuerzan a la pared del esporoquiste la cual continua creciendo en las glándulas intestinales del caracol, en su pared corporal las redias forman más de 50 masas germinativas que dan lugar a las cercarías. Si las condiciones de temperatura y alimentación de los caracoles son buenas pueden provocar a una segunda generación de redias. Después de 6 a 8 semanas las redias generan cercarías las cuales abandonan a las redias a través de su abertura tocológica y al caracol por su aparato respiratorio.

Las cercarías liberadas llegan a medir de 260 a 320 por 200 a 240 micras sin tomar en cuenta la cola propulsora que es de 500 micras. La cantidad de cercarías liberadas por un solo miracidio es de 400 a 1000 ¹². Las cercarías una vez liberadas nadan activamente, después de poco tiempo y de que redondea su cuerpo se adhieren a la superficie de plantas para transformarse en metacercarias las cuales constituyen la fase infectante.

La infestación se realiza cuando las metacercarias son ingeridas junto con el alimento contaminado. En el intestino se disuelve la membrana quística externa y queda libre el joven trematodo que mide 250 micras, éste penetra el intestino hasta llegar a la cavidad peritoneal en un tiempo de 2 a 28 horas, luego penetra el

hígado perforando la cápsula de Glisson, posteriormente de 4 a 6 días llega al tejido hepático por el que vaga de 6 a 8 semanas hasta finalmente asentarse en los conductos biliares (figura 1). La vida del parásito en los conductos biliares del ovino es de 6 o más años y en el caso de los bovinos es alrededor de 1 año.

Las fasciolas jóvenes se nutren con sangre y tejido hepático, las adultas con sangre, bilis y tejido proliferado ^{10, 11}.

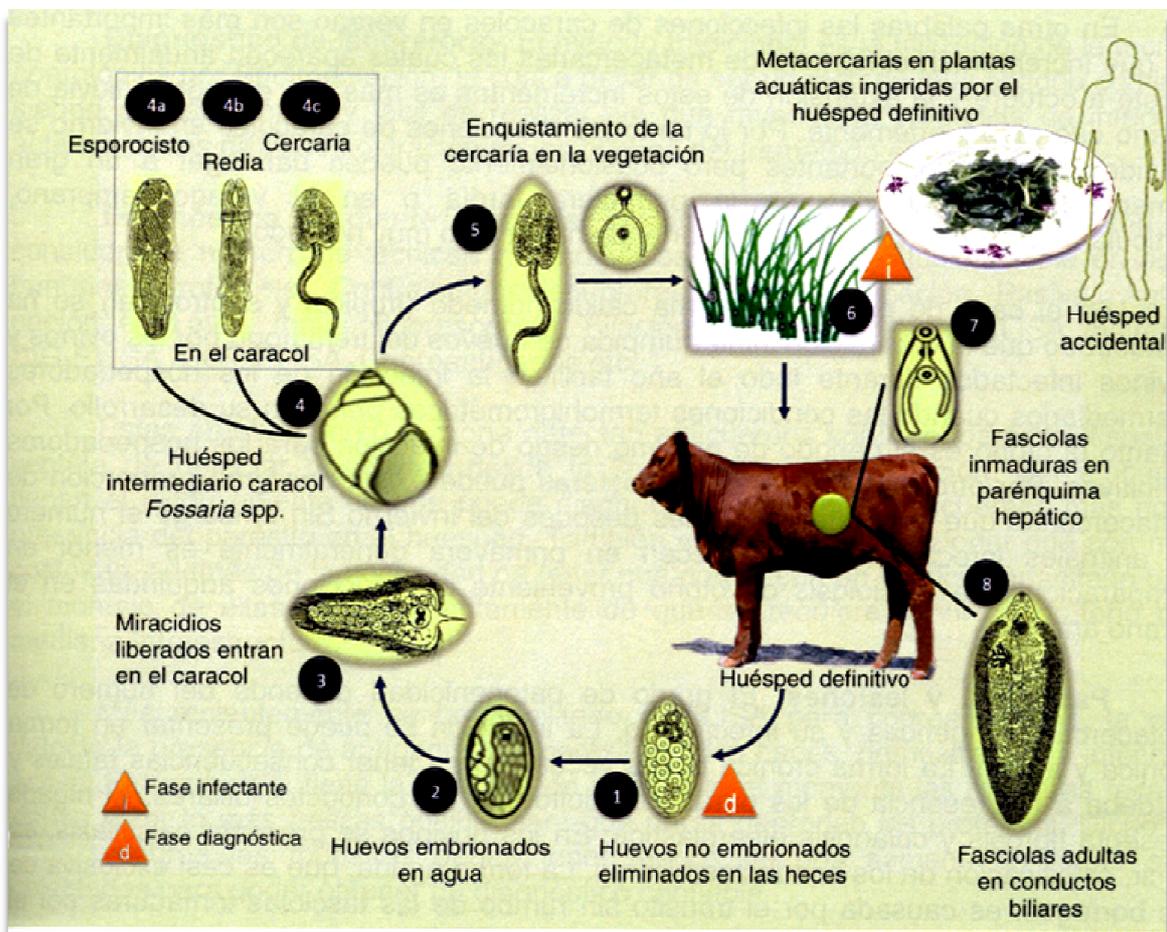


Figura 1. Ciclo biológico de *Fasciola hepatica* ¹³.

Epidemiología

La fasciolosis es una enfermedad ampliamente distribuida en el mundo. Su frecuencia varía de un lugar a otro, de un rancho a otro y entre los animales de un mismo rebaño según la edad ⁷.

En México esta parasitosis se presenta en casi todo su territorio, solo que a diferentes porcentajes de prevalencia según las condiciones climáticas. Rangel y colaboradores en 1999, reportaron en el estado de Tabasco en los municipios de Teapa, Tacotalpa y Jalapa, el decomiso de 2049 hígados parasitados de los cuales fueron removidas 52756 fasciolas en el periodo de los años de 1989 al 1992 ¹⁴.

Munguía Xóchihua reporta que en el estado de Sonora en los municipios Guaymas y Cajeme utilizando las técnicas de sedimentación y ELISA se determinó una prevalencia de fasciolosis en bovinos de 11.4 ± 0.9 en la técnica de sedimentación y de 24.4 ± 1.2 en la ELISA, en caprinos 24.5 ± 1.5 y 43 ± 1.5 y en borregos 19.4 ± 2.0 y 30.6 ± 2.7 respectivamente ¹⁵. Con estos ejemplos podemos observar que la distribución de esta enfermedad en la república mexicana es amplia debido a la sobrevivencia del huésped intermediario.

Patología

Las metacercarias son ingeridas por el rumiante, estas penetran la pared del duodeno y entran a la cavidad peritoneal viajando hasta el parénquima hepático, una vez que se encuentran en el parénquima migran dentro del hígado hasta llegar dentro de los conductos biliares. La migración de las fasciolas en estado juvenil produce en el hígado hemorragias durante su trayecto así como necrosis en el parénquima. Una variedad de secuelas desfavorables de esta migración

incluyen la peritonitis aguda, los abscesos hepáticos, la proliferación de esporas de *Clostridium haemolyticum* o *C. novyi* en necrosis tisular o pueden desarrollar hepatitis infecciosa necrótica y la muerte del huésped. El adulto residente en los conductos biliares produce colangitis, colangiohepatitis y la obstrucción del conducto que conduce a ectasia y estenosis ¹⁶.

Control

De manera general se reconocen tres formas de control de la fasciolosis.

La 1ra. es el tratamiento químico mediante fasciolicidas cuando el parásito se encuentra dentro del huésped definitivo.

La 2da. es el tratamiento químico del huésped intermediario a través del uso de compuestos molusquicidas.

La 3ra. forma es mediante el uso de Medidas de Manejo, tales como el drenado de terrenos inundados, la movilización de ganado tratado a praderas limpias, el cercado de terrenos con caracoles intermediarios que a su vez están contaminados con metacercarias, entre otros.

Sin embargo, es pertinente señalar que generalmente el control de la fasciolosis es dirigido a los huéspedes definitivos mediante tratamientos con fasciolicidas, en virtud de que durante décadas este método ha mostrado ser la forma más eficaz para controlar esta trematodosis.

Con esta base, la Industria Farmacéutica ha desarrollado diversos fasciolicidas, los cuales pertenecen a los siguientes grupos:

- 1.- Fenoles Halogenados: hexaclorofenol, bitionol, niclofolan y nitroxinil.
- 2.- Salicilanilidas: oxiclozanida, brotianida, rafoxanida y closantel.

3.- Bencimidazoles o probencimidazoles: albendazol, mebendazol, netobimina y triclabendazol.

4.- Sulfonamidas: clorsulón.

5.-Fenoxialcanos: diamfenetidina.

En México los más utilizados son el nitroxinil, closantel, rafoxanida, albendazol y triclabendazol ¹⁷.

Los Fenoles Halogenados como el nitroxinil tienen una alta actividad contra fasciolas adultas pero no con las fases juveniles ¹⁸. Actúa inhibiendo la fosforilación oxidativa, esto bloquea las contracciones musculares, por ello se hace suponer que actúa como bloqueador neuromuscular, su absorción en el tracto gastrointestinal es pobre, por lo que administra parenteralmente por vía intramuscular (I.M) o vía subcutánea (S.C) ¹⁹. El parásito muere paralizado por deficiencia de energía. Estos fármacos pueden llegar a ser tóxicos y los signos se pueden presentar entre la 4 y 5 hora después de su administración.

Las Salicilanilidas como el closantel y la rafoxanida tienen un efecto en fasciolas adultas: el closantel daña el tegumento del trematodo, causando erosión en las fasciolas, bloquea rutas energéticas como la fosforilización oxidativa causando la muerte entre 1 y 2 días. Las fasciolas sobrevivientes maduras o inmaduras producen un efecto atrófico que imposibilita sus funciones de crecimiento y reproducción. Con 5 veces su dosis produce signos de toxicosis. La rafoxanida interfiere en la formación de compuestos de alta energía, como ATP, ADP y nucleotidos, también interfiere con el transporte activo de oxígeno a través de la membrana, además de que transporta cationes a través de la membrana e interfiere en la fosforilización oxidativa en la mitocondria del parásito. Se absorbe por vía

gastrointestinal aunque también por vía subcutánea. Los parásitos adultos pueden encontrarse en la vesícula biliar o en el intestino del huésped debido a que se desprenden de los conductos biliares ^{12, 19}.

El albendazol fue posicionado en el mercado desde 1975 y ha sido uno de los derivados bencimidazólicos más exitosos en virtud de tener amplio espectro y alta eficacia contra nematodos gastrointestinales, vermes pulmonares y *Fasciola hepatica*, aún cuando en este solo actúa en las semanas 9 hasta la 10 teniendo una eficacia del 50 al 70% y de la semana 11 hasta la 14 con una eficacia del 80 al 90% ^{13, 18, 20}.

El triclabendazol fue lanzado en el mercado en 1983 ²¹ y es el fármaco más reciente y eficaz contra *Fasciola hepatica*, ya que tiene una acción específica contra las fasciolas en las fases inmaduras en el parénquima hepático y en las fases adultas en los conductos biliares. 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. Tiene una buena absorción por vía oral y su eliminación en heces es de un 95%, en orina del 2% y en leche el 1% ¹².

La dosis y vía de administración es de 10 mg/Kg por vía oral para ovinos y de 12 mg/Kg por vía oral para bovinos. Tiene un margen de seguridad muy amplio ya que se puede administrar hasta 200 mg/Kg donde los animales suelen presentar incoordinación por 3 días ¹⁹.

En el siguiente cuadro se muestra el porcentaje de eficacia de algunos fasciolicidas en ovinos ^{13, 18}.

Cuadro 1 PORCENTAJE DE EFICACIA DE ALGUNOS FASCIOLICIDAS EN OVINOS														
FARMACO	DOSIS EN mg/Kg	EDAD DE FASCIOLAS EN SEMANAS												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
TRICLABENDAZOL	10	90-95%			99-100 %									
RAFOXANIDE	7.5							91-99 %						
CLOSANTEL	7.5							80-95%			91-99%			
NITROXINIL	10							85%			91-99%			
ALBENDAZOL	7.5										50-70%		80-90%	

Sin embargo, el sobreuso o subdosificación de estos fasciolicidas están generando problemas de resistencia^{22, 23}, Moll reporta que en una granja del Norte de Holanda han muerto borregos por causa de enfermedad hepática subaguda y crónica a pesar de cuatro tratamientos con triclabendazol, por lo que se reportó resistencia del triclabendazol por parte de *Fasciola hepatica*, para verificar dicha resistencia al triclabendazol se realizó un estudio en el que se demostró por medio de la cuenta de huevos, la eficacia de triclabendazol donde obtuvieron los siguientes resultados, en borregos 99.7% de eficacia, en vacas lecheras 4.3% y en vaquillas 36.6%, resultados que indican la presencia de resistencia de *Fasciola hepatica* al triclabendazol²⁴. Por tal razón se requiere investigar nuevos compuestos o moléculas que muestren eficacia promisorio contra este parásito^{22, 23}. Con base en esta reflexión, se ha tratado durante varios años de realizar la síntesis y evaluación biológica de compuestos con actividad fasciolicida tales

como el compuesto Alfa o 6-cloro-5-(1-naphtosy)-2-methyltiobencimidazol el cual ha mostrado alta eficacia en ovinos^{25, 26, 27, 28}.

Asimismo, muy recientemente se ha sintetizado un compuesto híbrido denominado CMC12, el cual presenta una estructura química interesante con posible potencial fasciolicida, cuyas propiedades se describen a continuación:

Características del compuesto híbrido CMC12

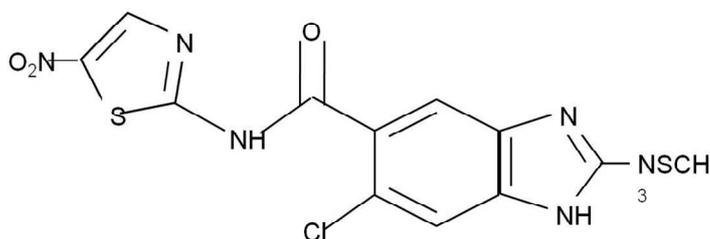
El citado compuesto, posee en su estructura química un anillo bencídico similar al triclabendazol y por otra parte la estructura activa de la nitazoxanida la cual a su vez tiene semejanza a la estructura del albendazol^{29, 30, 31, 32}.

Su fórmula estructural es $C_{12}H_8ClN_5O_3S_2$ y tiene un peso molecular de 369.81, es insoluble en agua y en la mayoría de los diluyentes orgánicos en frío, se recristaliza en etanol y tiene un punto de fusión 217.5°C a 218.2°C.

En virtud de las características señaladas, se espera que el CMC12 muestre una alta actividad fasciolicida.

Es importante aclarar que estas actividades de síntesis se realizaron en colaboración interdisciplinaria e institucional con el grupo del Depto. de Farmacia de la Fac. de Química de la UNAM.

Estructura química del compuesto



JUSTIFICACIÓN

Durante décadas se han utilizado en México más de 15 fasciolicidas los cuales a través de los años y debido al sobreuso y dosificación inadecuada pueden mostrar problemas de resistencia por parte del parásito hacia el fármaco. Por otro lado, el costo por tratamiento de cada animal es cada vez más alto.

El último fasciolicida lanzado al mercado fue el Triclabendazol (TCBZ), en el año de 1983 por lo que se manifiesta necesario avocar esfuerzos para desarrollar una nueva molécula que tenga alta eficacia fasciolicida.

El hecho de que el nuevo compuesto CMC12 presenta un anillo bencídico similar al triclabendazol y estructura parecida al Albendazol (ambos fasciolicidas ampliamente conocidos), motiva a pensar que este compuesto presenta una alternativa viable para ejercer actividad fasciolicida, misma que se pretende demostrar en el presente estudio.

HIPÓTESIS

Con base en la estructura química que presenta el nuevo compuesto experimental CMC12 se espera que muestre una eficacia superior al 90% contra estadios adultos de *Fasciola hepatica* de 10 semanas de edad, en ovinos.

OBJETIVO

Evaluar la eficacia fasciolicida del compuesto experimental CMC12 contra una infección inducida de *Fasciola hepatica* adulta de 10 semanas de edad, en ovinos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ubicación del estudio

El presente estudio se realizó en su parte experimental en las instalaciones de la Universidad Autónoma de Querétaro ubicado en Av. De las Ciencias s/n Juriquilla, Qro. y en su fase del laboratorio en el Departamento de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Animales

Se utilizaron 24 ovinos criollos de sexo indistinto con una edad alrededor de 1 año, los cuales estaban libres a *Fasciola hepatica*, lo cual fue verificado mediante análisis coprológico utilizando la técnica de sedimentación ³³, las heces fueron obtenidas del recto de estos animales utilizando bolsas de polietileno previamente lubricadas. Estas fueron transportadas al laboratorio de la FMVZ para su correspondiente análisis.

Compuesto Experimental

El compuesto CMC12 fue sintetizado y proporcionado por el grupo de Síntesis de Farmacia, de la Fac. de Química de la UNAM el cual fue formulado en un vehículo en suspensión conteniendo los siguientes ingredientes:

a) Pectina USP	1.5 g
b) Carboximetilcelulosa (baja viscosidad)	0.5 g
c) Carboximetilcelulosa (media viscosidad)	0.5g
d) Sacarina USP	0.2 g
e) Metil parabeno	0.5 g
f) Propil parabeno	0.03 g

Conducción del estudio

En el día 0 los ovinos fueron infectados con 250 metacercarias de *Fasciola hepatica*/animal, obtenidas de infecciones de caracoles del género *Lymnaea*, cultivados e infectados en el laboratorio. Estas metacercarias al ser inoculadas contaban con 2 semanas de edad. En el día 74 todos los ovinos fueron determinados como positivos a *F. hepatica* a través de la presencia de huevos mediante la técnica de sedimentación.

A los 75 días post-infección los ovinos se dividieron en 4 grupos, de 6 animales cada uno, para realizar los tratamientos de acuerdo al siguiente esquema:

DISEÑO EXPERIMENTAL			
Grupo	Dosis	Vía de administración	Compuesto
1	10 mg/Kg	Vía oral	CMC12
2	12 mg/Kg	Vía oral	CMC12
3	14 mg/Kg	Vía oral	CMC12
4 (Sin/Tx)	-----	-----	Sin tratamiento

A los 30 días post-tratamiento se realizó nuevamente una colecta de heces de cada uno de los animales para ser analizadas en el laboratorio.

Sacrificio de ovinos para conteo de fasciolas.- En el día 105 postratamiento, todos los ovinos fueron transportados al rastro municipal de Querétaro en donde fueron insensibilizados con una pistola de perno cautivo en la parte frontal de la cabeza y

desangrado con un corte de la yugular en los 30 segundos después de la insensibilización como lo dicta la NOM- 033-ZOO-1995 ³⁴. Seguidamente, se colectó el hígado para disectar y contar cada una de las fasciolas presentes.

Medición de la eficacia

La eficacia del compuesto en estudio fue evaluada con base al número de huevos y fasciolas presentes en los grupos tratados con relación al N° de huevos y fasciolas que se presentó en el grupo testigo sin tratamiento, utilizando la formula descrita por Besvir ³⁵ y Foreyt ³⁶.

% de Eficacia:
$$\frac{\text{Promedio de huevos o fasciolas del grupo Testigo} - \text{promedio de huevos o fasciolas del grupo tratado}}{\text{Promedio de huevos o fasciolas del grupo Testigo}} \times 100$$

Medición de la longitud de fasciolas

Se tomaron fasciolas adultas de la disección de los hígados pertenecientes a cada grupo para ser medidas y ser comparadas contra el grupo testigo sin tratamiento.

Cultivo, incubación y conteo del desarrollo del huevo de *Fasciola hepatica*

Antes de que los hígados fueran diseccionados se procedió a separar las vesículas mismas que las cuales fueron identificadas con el arete del animal y fueron trasportadas en una caja de unicel con hielo para evitar el deterioro de los huevos que se encontraban dentro de ellas. Una vez que se llegó al laboratorio se juntaron las vesículas en los grupos a los que pertenecían, se lavaron para obtener los huevos, se forraron los vasos de precipitados y fueron introducidos en una caja para evitar el contacto con la luz para evitar a que eclosionaran unos antes que otros y fueron introducidos en una estufa de cultivo a 27°C. Después de 12 días se abrió la caja y fueron contados los primeros 1000 huevos de cada

grupo para observar si: 1) habían salido el miracidio del huevo, 2) si el miracidio permanecía dentro del huevo ó 3) dentro del huevo no se había formado el miracidio.

Análisis estadístico

La información obtenida fue sometida a un análisis de varianza a fin de comparar la eficacia entre grupos tratados comparándola a su vez con el grupo sin tratamiento para lo cual se utilizó el Sistema de Análisis Estadístico³⁷ (SAS).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos se pueden apreciar de manera general en los cuadros 1, 2 y 3 y en las figuras 2, 3, 4, 5 y 6.

Eficacia contra fasciolas adultas

Grupo 1 (10 mg/kg/p.o.)- Al realizar la colecta de fasciolas se determinó un número máximo de 56 trematodos y un mínimo de 21, obteniendo un promedio de 37.8 fasciolas, (-36 %) lo cual indica que realmente no se produjo ningún efecto en cuanto a actividad fasciolicida del compuesto (Cuadro 1).

Grupo 2 (12 mg/kg/p.o.)- El número máximo de fasciolas colectadas fue de 31 y el mínimo de trematodos encontrados fue de 15, generando un promedio de 24.6 lo cual corresponde a un porcentaje de reducción de fasciolas de 11.2 % (Cuadro 1).

Grupo 3 (14 mg/kg/p.o.)- En este grupo se colectó máximo de 49 fasciolas y un mínimo de 12 generando un promedio de 27.8 trematodos para el grupo. De acuerdo a la información recabada el porcentaje de reducción de fasciolas es de -0.1%, lo cual en términos generales la eficacia conferida fue nula. (Cuadro 1).

Grupo 4 (sin tratamiento).- En este grupo se obtuvo un máximo de 47 trematodos y un mínimo de 13 generando un promedio del 27.8 fasciolas (Cuadro 1).

Eficacia contra huevos de *F. hepatica*.

Los resultados obtenidos con base en los análisis coprológicos realizados fueron:

Grupo 1.- Se obtuvo un máximo de 317 huevos por gramo de heces (HPGH) y un mínimo de 196, obteniendo un promedio de 247.1, lo cual corresponde a un porcentaje de eficacia de -3.8% (Cuadro 2).

Grupo 2.- En este grupo se obtuvo un máximo de 341 huevos y un mínimo de 189, con un promedio de 243.8, obteniendo una eficacia ligeramente superior (-2.4%) al del grupo anterior (Cuadro 2).

Grupo 3.- El máximo de huevos colectados fue de 442 y el mínimo de 102 con un promedio de 217, lo cual corresponde a una eficacia de 8.8% indicando que este grupo es el que generó el mayor porcentaje de reducción de huevos del trematodo (Cuadro 2).

Grupo 4.- En este grupo se obtuvo un máximo de 350 huevos del trematodo y un mínimo de 145 obteniendo un promedio de 238 HPGH (Cuadro 2).

Longitud de Fasciolas

Las mediciones obtenidas de las fasciolas en cuanto a su talla fueron:

Grupo 1.- La longitud máxima de fasciolas obtenidas para este grupo fue de 2.7 cm y la longitud mínima fue de 1.7 cm, determinando un promedio de 2.13 cm. En este rubro es importante señalar que el mayor número de fasciolas colectadas (10) fue en el rango de 2.2 cm (Cuadro 3 y figura 2).

Grupo 2.- Se obtuvo una longitud máxima de fasciolas de 3 cm y una longitud mínima de 1.7 cm generando un promedio de 2.14 cm. El mayor número de fasciolas encontradas (12) fue en el rango de 2.2 cm (Cuadro 3 y figura 3).

Grupo 3.- La medición máxima obtenida de fasciolas fue de 2.7 cm y la talla mínima de 1.8 cm con un promedio de 2.14 cm. El número mayor de fasciolas colectadas (15) fue de 2.2 cm (Cuadro 3 y figura 4).

Grupo 4.- Se obtuvo una máxima de 3 cm y una mínima de 1.8 cm con un promedio de 2.4 cm. Aquí el rango en donde se encontró el mayor número de

fasciolas (9) fue de 2.5 cm. Estos datos se muestran en el cuadro 3 y su comportamiento en la (Figura 5).

Desarrollo embrionario en los diferentes grupos

Grupo 1.- Se contaron 290 miracidios, 112 larvas dentro del huevo y 608 huevos en estado de mórula (Figura 6).

Grupo 2.- Se observó una disminución de miracidios ya que se contaron 126, las larvas dentro de cada huevo aumentaron totalizando 632 y se observaron 242 huevos en estado de mórula. (Figura 6).

Grupo 3.- En este grupo se contabilizaron 143 miracidios, 311 larvas dentro del huevo y 546 en los que se apreciaba el desarrollo de mórula. (Figura 6).

Grupo 4.- Se observó la eclosión de 550 miracidios, de los cuales 178 fueron larvas dentro del huevo y que 272 fueron huevos que presentaban mórula. (Figura 6).

Las diferentes etapas del desarrollo embrionario de *F. hepatica* pueden observarse en las fotografías 1, 2 y 3.

Análisis estadístico

Al analizar los resultados obtenidos de las fasciolas recolectadas así como el conteo de huevos de los cuatro grupos experimentales se demostró que no hubo significancia estadística.

DISCUSIÓN

Los bencimidazoles son un grupo de antihelmínticos indicados inicialmente para el control de vermes gastrointestinales. El primer compuesto (thiabendazol), fue descubierto por el grupo de Brown et al, (1961) y a partir de esa fecha se han sintetizado un considerable número de derivados bencimidazólicos que han mostrado alta eficiencia contra nematodos y vermes pulmonares de algunas especies animales, principalmente los rumiantes. Sin embargo, solo algunos de estos compuestos han mostrado alta eficacia fasciolicida como es el caso del Albendazol que fue descubierto en 1975 y el Triclabendazol el cual fue lanzado al mercado en 1983 ²¹.

Como ambos compuestos están ampliamente reconocidos como fasciolicidas, se decidió sintetizar ambas estructuras logrando unir las partes responsables de la generación de eficacia fasciolicida por lo que la expectativa era la de obtener un alto porcentaje de eficacia contra fasciolas adultas en ovinos, en virtud de que la pureza de estos compuestos previamente sintetizados era muy alta.

Es pertinente aclarar que este porcentaje de pureza fue medido en el laboratorio de Química de la UNAM utilizando Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución.

Sin embargo, los resultados obtenidos particularmente en lo que concierne a fasciolas adultas no fueron los esperados, situación que generó desmotivación y desánimo.

En lo referente a la eficacia medida como porcentaje de reducción de huevos de *F. hepatica*, esta no fue favorable en virtud de que se obtuvieron porcentajes de eficacia similares a los obtenidos en las fasciolas recolectadas. Aún cuando este resultado no indica que el compuesto tiene un potencial claramente fasciolicida,

inclina a pensar que posiblemente si se ejerció un cierto efecto ovicida, pero que aún con los datos obtenidos, lamentablemente la actividad fasciolicida ejercida puede ubicarse en términos de mala o mediocre. En este rubro, es pertinente mencionar que las moléculas del nuevo compuesto CMC12 mostraron un muy ligero efecto ovicida (grupo 3) por lo que podría asumirse que los resultados obtenidos posiblemente podrían estar directamente relacionados a la actividad ovicida de este compuesto^{20, 39}.

Con relación a la medición de la talla (longitud de fasciolas), este parámetro aportó información interesante en virtud de que al comparar las fasciolas colectadas de los grupos tratados con el compuesto CMC12 contra la longitud de fasciolas del grupo testigo, este último grupo mostró tener fasciolas ligeramente más grandes. Sin embargo, no se pudo comparar estadísticamente debido a que la diferencia de tamaño pudo haber sido causado por factores externos al fármaco (Figura 1).

Otro parámetro importante de analizar es la observación del desarrollo de los huevos de fasciolas colectados postratamiento, los cuales en los grupos tratados variaron en número con respecto al número de miracidios eclosionados, y/o mayor número de huevos en estado de mórula. Sin embargo fue interesante determinar que los huevos obtenidos del grupo testigo eclosionaron en su mayoría y 178 lograron formar larva y 272 hasta el estadio de mórula, indicando que este desarrollo solo se observó bajo condiciones normales propias de un grupo Testigo sin tratamiento (Fotografías 1, 2 y 3).

En un análisis general de la información obtenida, se puede interpretar que tal vez el fármaco no llegó a su blanco (hígado y conductos biliares) en las

concentraciones requeridas ya que si esto hubiera sucedido, se podría esperar una eficacia reflejada en mayor escala.

Asimismo, existe la sospecha de que el compuesto experimental no fue absorbido como se hubiera esperado ya que el vehículo con el cual se formuló no era el adecuado para llevar suficiente concentración al torrente sanguíneo para que a su vez este fuera transportado al hígado.

Sumano (2006), señala que un considerable porcentaje de un compuesto administrado por la vía oral puede ser destruido por el estómago del huésped o posiblemente puede ser eliminado directamente por el tracto gastrointestinal por lo esta condición podría ser atribuible a lo sucedido en este estudio ¹⁹.

Actualmente se está en proceso de administrar el compuesto CMC12 en cápsulas entéricas a ovinos fasciolosos, con la finalidad de determinar la cinética del compuesto mediante un estudio de Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución a fin de determinar si el compuesto al pasar la acción del estómago puede llegar en mayor porcentaje al hígado y probablemente se podrá dilucidar si existe alguna actividad fasciolicida más manifiesta. Dicho estudio será monitoreado a través de radiografías del tracto gastrointestinal de los ovinos, las cuales serán tomadas en diversos intervalos de tiempo para observar el momento (tiempo) en que la cápsula se desintegra en intestino liberando al compuesto experimental CMC12.

Finalmente, se puede mencionar que aún cuando el compuesto evaluado no generó resultados satisfactorios, sienta las bases para trabajar en el desarrollo de un vehículo diferente a fin de determinar el real potencial de este interesante compuesto híbrido que posiblemente tiene mucho más que ofrecer en cuanto a actividad fasciolicida se refiere.

CONCLUSIÓN

Bajo las condiciones en que se desarrolló el presente estudio, el compuesto bencimidazólico denominado CMC12, no mostró eficacia satisfactoria contra fasciolas adultas de 10 semanas en ovinos infectados en forma experimental.

REFERENCIAS

- 1.-TAYLOR MA, COOP RL, WALL RL. Veterinary Parasitology 3^{er} ed. Australia. Blackwell, 2007.
- 2.-ALASAAD S, GRANADOS JE, CANO-MANUEL FJ, MEANA A, ZHU XQ, PÉREZ JM. Epidemiology of fasciolosis affecting Iberian ibex (*Capra pyrenaica*) in southern Spain. Parasitol Res. 2008; 102: 751-755.
- 3.-KEISER J, VENEZIANO V, RINALDI L, MEZZINO L, DUTHALER U, CRINGOLI G. Anthelmintic activity of artesunate against *Fasciola hepatica* in naturally infected sheep. Res. Vet. Sci. 2010; 88: 107-112.
- 4.- DEVINE C, BRENNAN GP, LANUSSE CE, ALVAREZ LI, TRUDGETT A, HOEY E, FAIRWEATHER I. Effect of the metabolic inhibitor, methimazole on the drug susceptibility of a triclabendazol-resistant isolate of *Fasciola hepatica*. Parasitol. 2009; 136: 183-192.
- 5.- IBARRA VF, GARCIA SE, FERNÁNDEZ RM, VERA MY, CASTILLO BR, HERNÁNDEZ CA. Eficacia fasciolicida de dos compuestos de síntesis química *in vitro* e *in vivo* en ovinos. Vet. Méx. 1997; 28: 291-296.
- 6.- IBARRA VF, VERA MY, HERNÁNDEZ CA, CASTILLO BR. Eficacia fasciolicida del compuesto “alfa” contra estadios juveniles y adultos en ovinos. Vet. Méx. 1997; 28: 297-301.
- 7.- ROSARIO E. Eficacia de la combinación de closantel y sulfóxido de albendazol contra Fasciolas adultas en caprinos infectados en forma experimental (tesis de licenciatura). México, D,F, México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. 2008.

- 8.- SCHWEIZER G, BRAUN U, DEPLAZES P, TORGERSON PR. Estimating the financial losses due to bovine fasciolosis in Switzerland. *Vet. Rec.* 2005;157: 188-193.
- 9.- QUIROZ RH. Epidemiología de Fasciolosis. En control de enfermedades parasitarias en el ganado bovino. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. División de Educación Continua. Depto. de Parasitología. México, D.F; 1996.
- 10.- SOULSBY E.J.L. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7ª edición. Interamericana. México; 1987.
- 11.- QUIROZ R.H. Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. Limusa. México; 2009.
- 12.- RIVERA F.N. Evaluación de la eficacia del compuesto Alfa contra *Fasciola hepatica* de diversas edades en ovinos. (Tesis de Maestría). México, D.F, México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. 2008.
- 13.- VERA M. Y. Fasciolosis en: Editores IBARRA V.F, FIGUEROA C.A, QUIROZ R.H. Parasitología Veterinaria. Volumen 2. Helmintos Editorial Castdel S.A, México D,F, 2010 pag. 57.
- 14.- RANGEL R. MARQUEZ I. BRAVO N. Bovine fasciolosis in Tabasco, México. *Vet. Parasitol.* 1999; 81: 119-127.
- 15.- MUNGUÍA X. IBARRA V. DUCOING W. MONTENEGRO C. QUIROZ R. Prevalences of *Fasciola hepatica* (ELISA and fecal analysis) in ruminants from a semi-desert area in the northwest of Mexico. *Parasitol. Res.* 2007; 101: 127-130.
- 16.- WILLIAM W. CARLTON M. DONALD Mc. Special veterinary pathology. 2ª edition. Mosby. United States of America. 1995.

- 17.- QUIROZ R.H. Diagnóstico y control de parásitos de animales y el hombre. México D.F.: Fac. de Med. Vet. y Zootec. UNAM, 1991.
- 18.- FAIRWEATHER I, BORAY JC. Fasciolicides: Efficacy, Actions, Resistance and its Management. Vet. Journal. 1999; 158: 81-112.
- 19.- SUMANO L. OCAMPO C. Farmacología Veterinaria. Mc Graw Hill. México, D.F; 2006.
- 20.- ALVAREZ L, MORENO G, MORENO L, CEBALLOS L, SHAW L, FAIRWEATHER I. LANUSSE C. Comparative assessment of albendazole and triclabendazole ovicidal activity on *Fasciola hepatica* eggs. Vet. Parasitol. 2009; 164: 211-216.
- 21.- BORAY JC, CROWFOOT PD, STRONG MB, ALLISON JR, SCHELLEMBBAUM M, VON ORELLI M, SARASIN G. Treatment of immature and mature *Fasciola hepatica* infections in sheep with triclabendazole. Vet. Rec. 1983; 113: 315–317.
- 22.- ALVAREZ SMA, MAINAR JRC, PEREZ GJ, ROJO VFA. Resistance of *Fasciola hepatica* to triclabendazol and albendazole in sheep in Spain. Veterinary Record 2006; 159: 424-425.
- 23.- OVEREND DJ, BOWEN FL. Resistance of *Fasciola hepatica* to triclabendazole. Australian Veterinary Journal 1996; 72: 275-276.
- 24.- MOLL L, GAASENBEEK C.P.H, VELLEMA P, BORGSTEEDE F.H.M. Resistance of *Fasciola hepatica* against triclabendazole in cattle and sheep in the Netherlands. Vet. Parasitol. 2000; 91: 153-158.

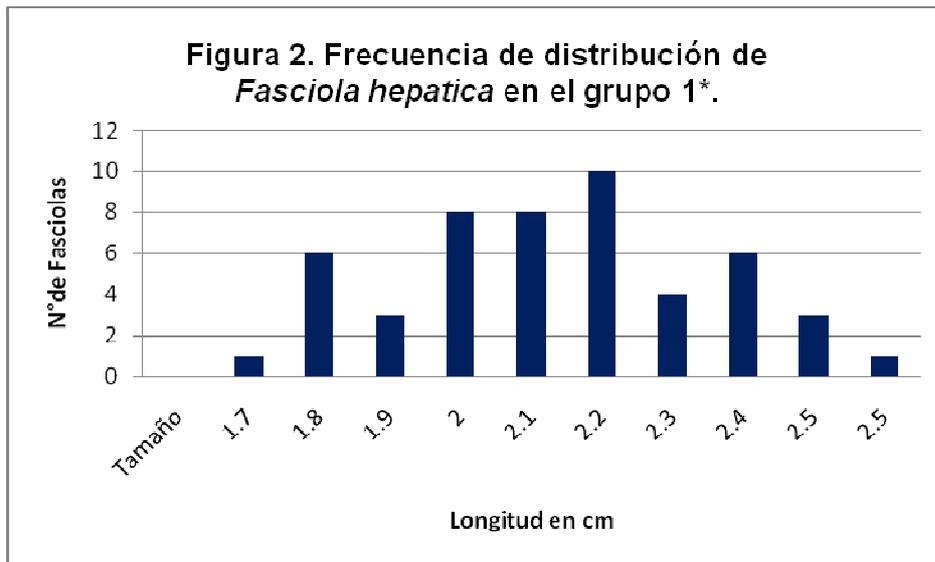
- 25.- IBARRA VF, GARCÍA SE, FERNÁNDEZ RM, VERA MY, CASTILLO BR, HERNÁNDEZ CA. Eficacia fasciolicida de dos compuestos de síntesis química *in vitro* e *in vivo* en ovinos. Vet. Méx. 1997; 8: 4-8.
- 26.- IBARRA VF, VERA MY, HERNÁNDEZ CA, CASTILLO BR. Eficacia fasciolicida del compuesto “alfa” contra estadios juveniles y adultos en ovinos. Vet. Méx. 1997; 28: 297–301.
- 27.- VERA MY, IBARRA VF, QUIROZ RH, HERNÁNDEZ CA, CASTILLO R. Field trial on the efficacy of an experimental fasciolicide compared with some commercial compounds in naturally infected cattle. Parasitol. Res. 2003; 9: 1-4.
- 28.- VERA MY, IBARRA VF, LIÉBANO HE, QUIROZ RH, CASTILLO BR, HERNÁNDEZ CA, OCHOA GP. Efficacy of an experimental fasciolicide against immature and mature *Fasciola hepatica* in artificially infected calves. Parasitol. Res. 2004; 92: 211-214.
- 29.- OCHOA TJ, WHITE AC. Nitazoxanide for treatment of intestinal parasites in children. Ped. Inf. Dis. J. 2005; 24: 641-642.
- 30.- ANDERSON VR, CURRAN MP. Nitazoxanide: A Review of its use in the treatment of gastrointestinal infections. Drugs. 2007; 67:1947-1967.
- 31.- CLINTON W.A. Nitazoxanide: an important advance in anti-parasitic therapy. Am. J. Trop. Med. Hyg., 2003; 68: 382–383.
- 32.- MÉNDEZ C. Síntesis alterna de Nitazoxanida y evaluación proteómica de algunos antiprotozoarios contra *G. intestinalis*. (Tesis Maestría). México, D.F. Facultad de Química. UNAM. 2007.
- 33.- BESNÉ MA, FIGUEROA CJA, QUIROZ RH, RAMÍREZ GA, RAMOS ME. Manual de Prácticas de laboratorio de Parasitología. 1^{ra} ed. México D.F. 2006.

- 34.- NOM- 033-ZOO-1995, Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres.
- 35.- BESVIR J, RAPIC D, DZAKULA N, BLAGOVIC S, POMPE-GOTAL J. Fasinex (triclabendazole) - a new fasciolicide. Praxis Vet. 1986; 34: 239-242.
36. - FOREYT WJ. Efficacy of fenbendazole-triclabendazole combination against *Fasciola hepatica* and gastrointestinal nematodes in sheep. Vet Parasitol 1988; 26: 265-271.
37. - SAS Institute Inc. (2000)
38. - BROWN HD, MATZUK AR, ILVES JR, PETERSON LH, HARRIS SA, SARETT LH, EGERTON JR, YAKSTIS JJ, CAMPBELL WC, CUCKLER AC. Antiparasitic drugs IV. 2 - (4'-Thiazolyl)- benzimidazole, a new anthelmintic. J. of the American Chemical Society 1961; 83: 1764–1765.
39. – Horton J. Human gastrointestinal helminth infections: are they now neglected diseases?. Trends Parasitol. 2003; 19: 527-531.

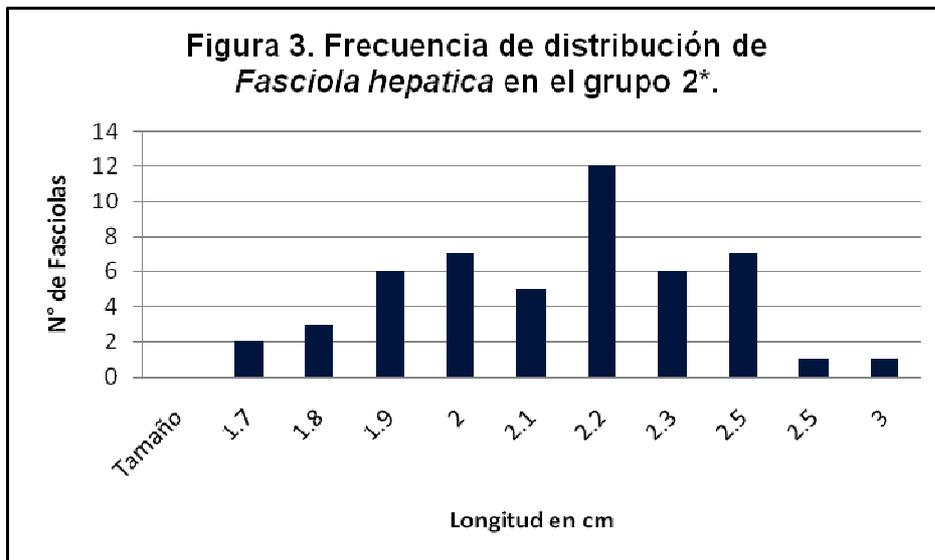
Cuadro 1					
EFICACIA DEL COMPUESTO CMC12 CONTRA <i>Fasciola hepatica</i> ADULTA DE 10 SEMANAS DE EDAD EN OVINOS INFECTADOS EN FORMA EXPERIMENTAL					
GRUPO	DOSIS CMC12 mg/Kg	NÚMERO DE <i>F. hepatica</i> ADULTAS			EFICACIA %
		MÁXIMO	MÍNIMO	PROMEDIO	
1	10	56	21	37.8	-36
2	12	31	15	24.6	11.2
3	14	49	12	27.8	-0.1
Testigo (Sin Tx)	-----	47	13	27.8	----

Cuadro 2								
PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DE HUEVOS DE <i>Fasciola hepatica</i> POSTRATAMIENTO CON EL COMPUESTO CMC12 EN OVINOS INFECTADOS EN FORMA EXPERIMENTAL								
GRUPO	mg/Kg CMC12	NUMERO DE HUEVOS DE <i>F. hepatica</i>						EFICACIA %
		DÍA 75			DÍA 105			
		MÁXIMO	MÍNIMO	PROM.	MÁXIMO	MÍNIMO	PROM.	
1	10	754	416	571.8	317	196	247.1	-3.8
2	12	949	358	579.6	341	189	243.8	-2.4
3	14	841	322	476	442	102	217	8.8
4 SIN TX	-----	908	329	644.6	350	145	238	-----

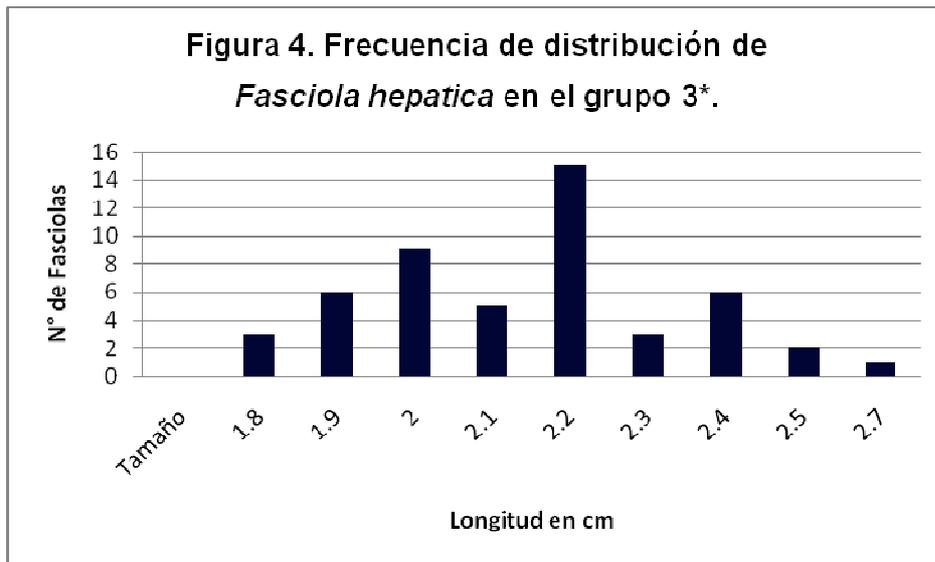
Cuadro 3			
LONGITUD DE FASCIOLAS COLECTADAS POSTRATAMIENTO CON EL COMPUESTO CMC12 EN OVINOS CON INFECCIÓN INDUCIDA			
GRUPO	Máximo	Mínimo	PROMEDIO
1	2.7 cm	1.7 cm	2.13 cm
2	3 cm	1.7 cm	2.14 cm
3	2.7 cm	1.8 cm	2.14 cm
4 SIN/TX	3 cm	1.8 cm	2.44 cm



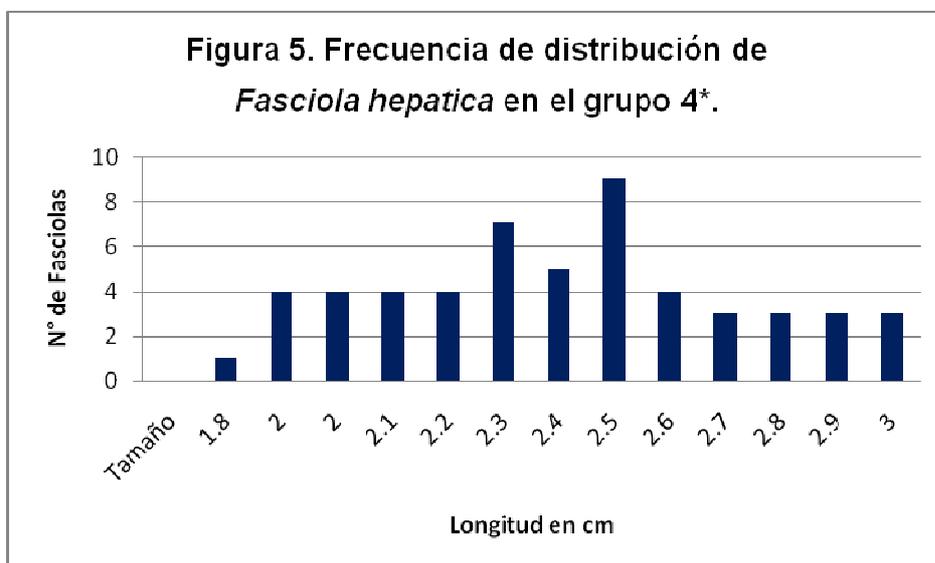
* Promedio de 50 fasciolas



* Promedio de 50 fasciolas



* Promedio de 50 fasciolas



* Promedio de 50 fasciolas

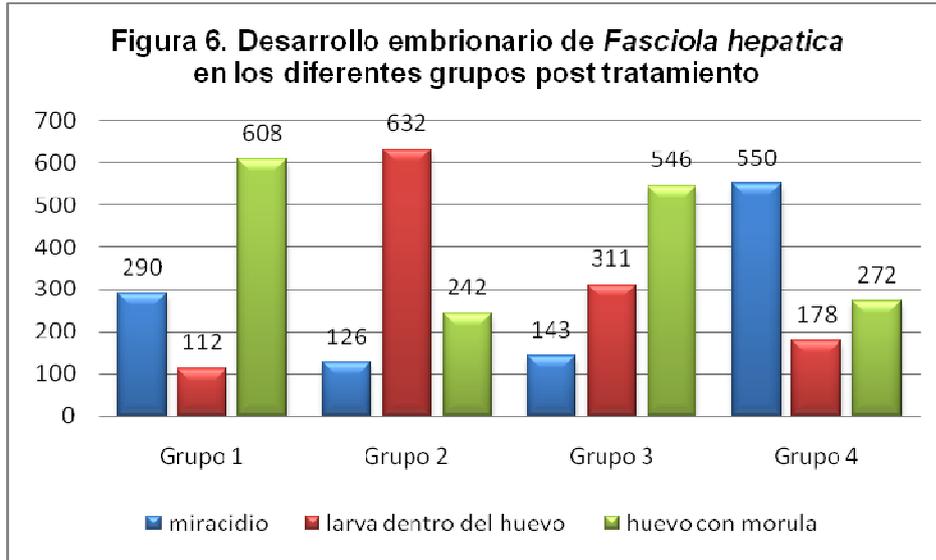


Foto 1. Huevo de *F. hepatica* en estado de mórula.

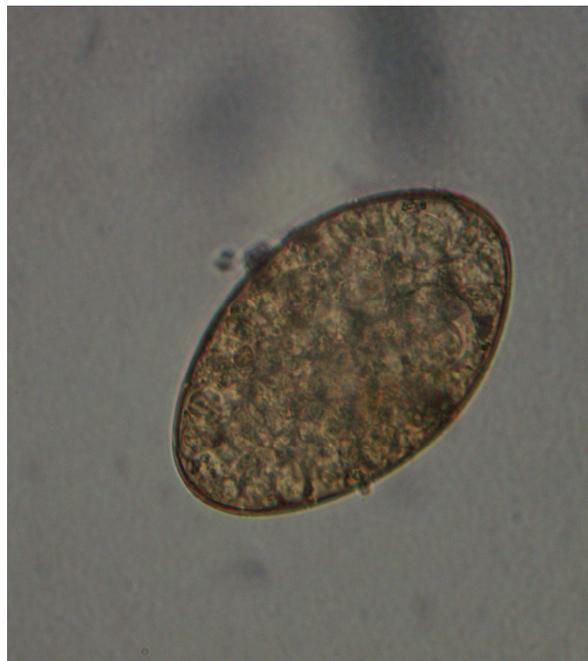


Foto 2. Formación de larva en un huevo de *F. hepatica*



Foto 3. Eclosión del miracidio en un huevo de *F. hepatica*.

