



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EFFECTO DEL TRICLABENDAZOL MÁS IVERMECTINA EPICUTÁNEO
CONTRA *Fasciola hepatica* Y NEMATODOS GASTROINTESTINALES EN
BOVINOS DEL TRÓPICO HÚMEDO.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA

KATIA JIMENEZ YAÑEZ

Asesores:

Dr. Miguel Ángel Alonso Díaz.

Dr. Héctor Quiroz Romero.

México, D. F.

2011



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 la Universidad Nacional Autónoma de México, que fui tan afortunada en que me abriera las puertas de su maravillosa educación y me permitiera vivir las más grandes experiencias de mi vida.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por dejar huella en mi ser, por ofrecerme el conocimiento mediante cada profesor que puso en mi formación, por experimentar que es realmente la vocación de un Médico Veterinario Zootecnista y comprometerme con cada aspecto que lo envuelve.

A mis padres José Luis y Elizabeth, por guiarme en el camino de la vida, por ser un ejemplo y apoyarme incondicionalmente en mis experiencias durante la carrera, por darme ánimos para seguir adelante y confiar en mí durante esta gran experiencia profesional y personal. Muchas gracias. Los amo.

A mi hermana Elizabeth, por estar ahí, eres una gran persona que siempre tengo presente en mi vida, te quiero mucho hermanita.

A Andrés, que ha compartido una pequeña pero a la vez gran parte de este maravilloso proyecto profesional, por los momentos que hemos pasado juntos, por el apoyo y por estar ahí. Te amo.

A todos los animales que fueron partícipes durante mi formación profesional ya que ustedes dieron hasta la vida por que aprendiera y eso lo valoro infinitamente, a mis mascotas Pinky y Bodoque, que han permitido que intervenga en sus vidas ayudándoles en lo que más pueda.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Miguel Ángel Alonso Díaz, el cual me brindo su confianza y me dio su apoyo incondicional para la realización de este trabajo, por motivarme en el desarrollo de mi vida profesional y claro por su gran amistad. Muchas gracias Doc.

Al Dr. Héctor Quiroz Romero, el cual creyó en mí y me apoyo durante la realización de este trabajo. Muchas gracias.

Al Sr. Master Jorge Becerra, ya que en esas duras jornadas de trabajo fue mi mano derecha, además de guiarme en todo lo relacionado a la cuestión de las pruebas, por esos buenos ratos de buen humor al lado de Filo en el laboratorio. Gracias.

A mis grandes amigas y amigos de la carrera: Viridiana, Ingrid, Diana, Esther, Maris, Ivette, Diana Ivette, Yutzil, Joyce, Atenas, Miri, Monty, Pam, George, Joe, Vic, Pepo, Isra, Mike, Rodrigo, Abraham, Víctor y Mario. Con los cuales pase los mejores momentos de esta etapa con su alegrías y tristezas, con sus problemas y buenas fiestas, cada uno lleva un gran lugar en mi corazón.

Y a todo aquel que fue parte de esta bonita y gran historia, GRACIAS....

CONTENIDO

| | Página. |
|--|---------|
| Resumen | 1 |
| 1. Introducción | 3 |
| 2. Revisión de literatura | 6 |
| 2.1 Importancia de la <i>Fasciola hepatica</i> en la ganadería bovina | 6 |
| 2.1.1 Ciclo biológico de <i>Fasciola hepatica</i> | 6 |
| 2.1.2 Patogenia de <i>Fasciola hepatica</i> | 7 |
| 2.1.3 Signos y lesiones causados por <i>Fasciola hepatica</i> | 8 |
| 2.1.4 Diagnóstico de <i>Fasciola hepatica</i> | 8 |
| 2.1.5 Control de <i>Fasciola hepatica</i> | 9 |
| 2.1.6 Antihelmínticos contra <i>Fasciola hepatica</i> | 9 |
| 2.1.7 Triclabendazol | 10 |
| 2.2 Importancia de los nematodos gastrointestinales en la ganadería bovina | 11 |
| 2.2.1 Ciclo biológico de los nematodos gastrointestinales | 12 |
| 2.2.2 Patogenia de nematodos gastrointestinales | 13 |
| 2.2.3 Signos y lesiones causados por nematodos gastrointestinales | 13 |
| 2.2.4 Diagnóstico de nematodos gastrointestinales | 14 |
| 2.2.5 Control de nematodos gastrointestinales | 15 |
| 2.2.6 Antihelmínticos contra nematodos gastrointestinales | 15 |
| 2.2.7 Ivermectina | 17 |
| 3. Justificación | 18 |

CONTENIDO

| | Página. |
|---|---------|
| 4. Hipótesis | 19 |
| 5. Objetivo | 20 |
| 6. Objetivos específicos | 21 |
| 7. Material y métodos | 22 |
| 7.1 Ubicación geográfica | 22 |
| 7.2 Antihelmíntico | 23 |
| 7.3 Animales experimentales | 23 |
| 7.4 Procedimientos parasitológicos | 23 |
| 7.5 Diseño experimental | 24 |
| 7.6 Muestreos, pesaje y aplicación de tratamiento | 24 |
| 7.7 Análisis estadístico | 25 |
| 8. Resultados | 26 |
| 8.1 Efecto del triclabendazol más ivermectina epicutáneo sobre la reducción de huevos de <i>Fasciola hepatica</i> | 26 |
| 8.2 Efecto del triclabendazol más ivermectina epicutáneo sobre la reducción de huevos de nematodos gastrointestinales | 27 |
| 8.3 Identificación de larvas infectantes de nematodos gastrointestinales | 28 |
| 9. Discusión | 29 |
| 10. Conclusiones | 32 |
| 11. Referencias bibliográficas | 33 |

RESUMEN

JIMENEZ YAÑEZ KATIA Efecto del triclabendazol mas ivermectina epicutáneo contra *Fasciola hepatica* y nematodos gastrointestinales en bovinos del trópico húmedo. (Bajo la dirección del Dr. Miguel Ángel Alonso Díaz y del Dr. Héctor Quiroz Romero).

El 80% de las enfermedades que afectan a los bovinos en el trópico húmedo son de índole parasitario. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la aplicación epicutánea del triclabendazol más ivermectina contra *Fasciola hepatica* y nematodos gastrointestinales en vacas y becerros infectados naturalmente. El experimento se realizó en dos unidades de producción bovina (UPB), ubicadas en la zona centro del estado de Veracruz. El criterio de inclusión de las UPB fue que tuvieran vacas y/o becerros infectados naturalmente con *Fasciola hepatica* (n=900 animales) y/o nematodos gastrointestinales(n=400 animales) (NGI). En la UPB 1, que tuvo vacas infectadas con *F. hepatica*, se realizó la evaluación del producto sobre la eliminación de huevos. En la UPB 2, se evaluó el efecto del producto sobre el control de NGI en becerros infectados. En cada unidad, se obtuvo una muestra de heces del recto del animal para su evaluación coproparasitológica, se realizaron las técnicas de McMaster, sedimentación y coprocultivo a cada muestra obtenida. Se seleccionaron 30 animales que cumplieron con los

critérios de inclusión y se dividieron en dos grupos experimentales balanceados de acuerdo a las cargas parasitarias: 1) Grupo Testigo y 2) Grupo Tratado. En la UPB 1, se realizaron muestreos de heces los días -14, -7, 1, 7, 14, 21, 35 y 56 para determinar el número de huevos de *F. hepatica*. En la UPB 2, se realizaron muestreos los días -14, -7, 1, 7, 14, 21 y 35 para cuantificar el número de huevos de NGI. El día 1, se aplicó el producto a los animales del grupo tratado (vacas y becerros) para lo cual se pesaron los animales individualmente. Se utilizó la prueba de U Mann Whitney para evaluar el efecto del tratamiento sobre la reducción de huevos de *F. hepatica* o NGI. Hubo un efecto del tratamiento sobre la reducción de huevos de *F. hepatica* ($P < 0.05$). El porcentaje de reducción de huevos fue del 100% en vacas infectadas naturalmente. No hubo efecto del tratamiento sobre la eliminación de huevos de NGI en becerros ($P > 0.05$). Se concluye que la aplicación epicutánea del triclabendazol más ivermectina fue altamente efectivo para el control de *F. hepatica* en vacas pero no tuvo efecto en el control de NGI. Se sugiere seguir evaluando el producto en becerros infectados con NGI debido a que en el presente estudio no fue posible determinar el efecto de manera confiable porque disminuyeron las cargas parasitarias en ambos grupos experimentales.

1. INTRODUCCIÓN

México es un país con diversidad en cuanto a climas y regiones donde es posible desarrollar la producción bovina. Una de las regiones con mayor potencial es el trópico húmedo, la cual con su amplia gama de recursos naturales y su clima característico crean el ambiente ideal para el desarrollo de la ganadería. Pero también existe un gran número de enfermedades que afectan al ganado bovino. Dentro de las enfermedades parasitarias, unas de las más frecuentes e importantes son las causadas por trematodos como *Fasciola hepatica* y los nematodos gastrointestinales (NGI).¹

La fasciolosis causada por *F. hepatica* es una enfermedad de distribución mundial y en México su presencia es elevada en regiones donde se combinan las condiciones de ambiente favorable con la fuente de infección y la población susceptible.² En las unidades de producción bovina *F. hepatica* causa pérdidas económicas debido a una disminución de la productividad y al decomiso de vísceras.³ Por otro lado, las infecciones por nematodos gastrointestinales en ganado bovino representan un importante problema de salud en muchas regiones del mundo, afectando al ganado bovino de todas las edades, sin embargo, son mayores en animales jóvenes.^{4,5} Las nematodosis gastrointestinales ocasionan pérdidas directas por muertes, decomiso de órganos y gastos en antihelmínticos, además de las deficiencias productivas en el desarrollo del animal.⁶ Los principales géneros de nematodos gastrointestinales que afectan al ganado bovino en México son *Haemonchus spp*, *Trichostrongylus spp*, *Cooperia spp* y *Oesophagostomum spp*.⁷ El control

de estas parasitosis en los bovinos se ha basado en el uso de productos químicos. En cuanto a la fasciolosis se basa en tratamientos quimioterapéuticos para eliminar al parásito, en la reducción de huéspedes intermediarios y en la aplicación de manejo zootécnico.⁸

Las principales familias de trematocidas que se han utilizado para *F. hepatica* son: compuestos nitrofenólicos (nitroxinil), nuevas salicilanidas (closantel), sulfonamidas (clorsulon) y benzimidazoles (triclabendazol).⁹ El triclabendazol es un benzimidazol halogenado utilizado mundialmente para el control de los estadios tanto maduros como inmaduros de *F. hepatica* en una concentración de 12 mg/kg de peso vivo por vía oral.^{10,11} Su eficacia en administración oral ha sido evaluada en trabajos de Boray, 1982; Richards et al., 1990; Ibarra-Velarde et al., 2001.¹² No existen trabajos publicados sobre la eficacia del triclabendazol en administración epicutánea contra estados inmaduros y maduros de *F. hepatica* en ganado bovino.¹²

Para el control de NGI en los rumiantes existen en el mercado tres grupos de antihelmínticos de amplio espectro: 1) benzimidazoles (albendazol), 2) imidazotiazoles (levamisol) y 3) lactonas macrocíclicas (ivermectina, doramectina, moxidectina, abamectina, eprinomectina).¹³ La ivermectina es una avermectina activa semi-sintética de amplio espectro que actúa contra parásitos de significancia clínica en medicina veterinaria y puede aplicarse vía subcutánea, oral y epicutánea. Debido a que las lactonas macrocíclicas no son eficaces contra los trematodos, recientemente se sugirió su uso en combinación con algunos trematocidas para ampliar su potencial

antiparasitario, disminuir la frecuencia de aplicación del tratamiento y reducir el desarrollo de resistencia.¹¹

2. REVISIÓN DE LITERATURA.

2.1. Importancia de la *Fasciola hepatica* en la ganadería bovina

Fasciola hepatica es el trematodo más importante del ganado bovino debido a que ocasiona pérdidas económicas por concepto de muerte de animales, costos de medicamentos para su control y disminución de los parámetros productivos. La fasciolosis cursa un proceso crónico que produce trastornos digestivos y enfocados a nutrición.

2.1.1. Ciclo biológico de *Fasciola hepatica*.

El ciclo biológico de *F. hepatica* es de tipo indirecto, con un periodo de prepatencia que va de las nueve a las 12 semanas siendo su ciclo evolutivo completo de 17 a 18 semanas. Los huevos de *F. hepatica* son eliminados por medio de las heces, se incuban y eclosionan los miracidios a los 9 días. Cuando existen las condiciones de humedad y temperatura óptima (26°C) para su desarrollo, el miracidio infecta un huésped intermediario que es un caracol del género *Limnaea* al cual penetra a través de la cavidad respiratoria. En el huésped intermediario ocurren otras fases del ciclo (esporocisto, redia 1, redia 2 y cercaria). Una vez formada la cercaria, sale del caracol y busca un lugar en el medio ambiente para adherirse (comúnmente escoge los forrajes), durante esta búsqueda se transforma en metacercaria la cual se enquistada y desarrolla su fase infectante en un periodo de 2 a 3 días y es cuando algún animal se infecta al consumir este forraje.

Después de que los animales ingieren la metacercaria, mediante el consumo de forraje, esta emigra a través de la pared intestinal hacia el hígado vía

peritoneal, alcanza la cápsula hepática y llega al tejido hepático donde penetra los conductos biliares. En estos conductos el parásito adulto se aloja por un año o más y realiza su reproducción para dar comienzo a un nuevo ciclo biológico de *F. hepatica*. La fase adulta del parásito es aplanada dorsoventralmente con una coloración grisácea-rosada, tiene una forma característica de hoja, mide 18-50 mm de largo y 4-14 mm de ancho, su cuerpo se cubre de pequeñas espinas, posee una ventosa oral en su extremo superior y una ventosa a nivel de los hombros. Se localizan en los conductos biliares y en la vesícula biliar del órgano hepático.² Los huevos son ovoides, operculados con coloración amarilla-marrón o dorada debido a la composición de la proteína llamada quinona en sus paredes, miden de 130 a 150 micras de largo y de 60 a 90 micras de ancho.²

2.1.2 Patogenia de *Fasciola hepática*.

El desarrollo de esta enfermedad radica en la ingestión de metacercarias por el huésped y el daño producido en el animal depende de la combinación del número de metacercarias consumidas y el estado de salud de este. Se puede presentar un curso agudo o crónico de la enfermedad.¹⁴

La fasciolosis aguda es provocada por una migración simultánea y masiva de formas juveniles, puede afectar a animales de cualquier edad y estado nutricional, además de que puede presentar una muerte rápida o en pocos días. Mientras que la forma crónica afecta directamente a la integridad hepática y el curso de la enfermedad es lento.

2.1.3. Signos y lesiones causados por *Fasciola hepatica*.

En un proceso agudo de la fasciolosis se puede observar muerte repentina sin signos clínicos, encontrándose hemorragias severas en hígado a la necropsia. En la forma crónica, *F. hepatica* tiene predilección por el hígado, que es donde va a producir el principal daño. Las lesiones también dependen del número de metacercarias ingeridas, del tamaño del animal y en última instancia del número de fasciolas adultas que migren a través de los tejidos y logren establecerse en los conductos biliares. Las primeras lesiones las genera la forma juvenil del parásito, la cual en su migración hacia el hígado provoca pequeñas hemorragias y erosiones en el tejido de los diferentes órganos que afecta. En la forma adulta la principal lesión que se observa es una colangiohepatitis, que se caracteriza por una dilatación y engrosamiento de los conductos biliares con cambios cirróticos, además de presencia de exudado de aspecto mucoso acompañado de bilis degenerada y la mineralización de las paredes de conductos biliares.¹⁴

2.1.4. Diagnóstico de *Fasciola hepatica*.

El diagnóstico de la fasciolosis se realiza de acuerdo a la historia clínica (pérdida de peso progresivo, membranas mucosas pálidas y edema submaxilar) y en el hemograma donde se observa anemia severa, eosinofilia y en la bioquímica sanguínea una alteración de enzimas hepáticas.

En cuanto al diagnóstico coproparasitológico se utiliza la técnica de sedimentación que es el método más empleado y se basa en la capacidad que tienen los huevos de los trematodos de sedimentar en agua. Es una técnica

cuantitativa y cualitativa porque permite conocer el número de huevos que se encuentra en una determinada cantidad de heces además de identificar y diferenciar de otros huevos de trematodos.¹⁴

2.1.5. Control de *Fasciola hepatica*

Es necesario saber las fases del ciclo para tomar medidas de control con base en la prevención². La prevención de la fasciolosis se puede realizar de manera correcta e integrada de la siguiente forma:

a) La aplicación de tratamientos antihelmínticos, sistemáticos o estratégicos para la reducción del número de parásitos en el huésped y en consecuencia reducir la contaminación del pasto con los huevos.

b) Reducción de huéspedes intermediarios por medio de medios físicos, biológicos o químicos.

c) Buenas prácticas de manejo de la población susceptible, principalmente en el plano nutricional.²

2.1.6. Antihelmínticos contra *Fasciola hepatica*

El control químico es la principal forma de solucionar el problema de la fasciolosis. Existen en el mercado diferentes productos que tiene propiedades trematocidas para fases adultas como juveniles. Los principales trematocidas pertenecen a cuatro familias: 1) Compuestos nitrofenilicos, 2) Salicilanidas, 3) Sulfonamidas y 4) Benzimidazoles⁹. Dentro del grupo de los benzimidazoles, el triclabendazol se ha reportado como un antihelmíntico con efecto fasciolicida contra estados maduros e inmaduros de *F. hepatica* en rumiantes.¹⁵

Compuestos nitrofenilicos. El mecanismo de acción es inhibir la fosforilación oxidativa lo cual provoca un bloqueo neuromuscular por lo tanto el parásito muere paralizado y con deficiencia de energía. Su administración es por vía subcutánea, se fija a la albúmina, a los tejidos y actúa contra formas maduras y en menor grado contra formas inmaduras. La vía de eliminación es por orina y heces.⁹

Salicilanidas. Estos productos dañan el tegumento del trematodo, causan erosiones en las fasciolas adultas, bloquean las rutas energéticas del parásito y causan graves daños a nivel metabólico. En las fasciolas sobrevivientes maduras e inmaduras produce un efecto atrófico que imposibilita sus funciones de crecimiento y reproducción.⁹

Sulfonamidas. Interfieren con la formación de compuestos de alta energía como ATP, ADP y otros, además transfiere cationes a través de la membrana e interfiere en la fosforilación oxidativa en la mitocondria del parásito.⁹

2.1.7. Triclabendazol

El triclabendazol es un benzimidazol halogenado utilizado mundialmente para el control de los estadios tanto maduros como inmaduros de *F. hepatica* en una concentración de 12 mg/kg de peso vivo por vía oral.^{10,11} Su eficacia ha sido evaluada en trabajos mediante su aplicación oral¹² No existen trabajos publicados sobre el efecto del triclabendazol en administración epicutánea contra estados inmaduros y maduros de *Fasciola hepatica* en ganado bovino infectado naturalmente.

2.2. Importancia de los nematodos gastrointestinales en la ganadería bovina.

Las infecciones causadas por nematodos gastrointestinales (NGI) también ocasionan pérdidas económicas principalmente en animales jóvenes y/o inmunodeprimidos. Estas pérdidas se generan por muertes directas, mermas en la producción de carne y leche así como por el uso de antihelmínticos mal utilizados. Los géneros de NGI más importantes de los bovinos en México pertenecen a familias *Trichostrongylidae* (*Haemonchus*, *Ostertagia*, *Mecistocirrus*, *Cooperia* y *Trichostrongylus*) y la *Strongylidae* (*Chabertia* y *Oesophagostomum*).¹⁶

Los cuadros de parasitosis por NGI en bovinos se pueden presentar por las siguientes razones:

- a) Cuando existe un aumento significativo en la contaminación del medio ambiente con huevos o larvas, así como la diseminación, la disponibilidad y sobrevivencia de las fases larvares de vida libre.
- b) Cuando existen factores que afecten la resistencia del hospedero a los NGI (ej. un cambio de dieta, particularmente si el valor nutricional es reducido, o cambios drásticos de temperatura).
- c) Debido a la introducción de ganado susceptible a áreas endémicas que están en equilibrio enzootico.¹⁷

2.2.1. Ciclo biológico de los nematodos gastrointestinales.

El ciclo de la mayoría de los NGI es de tipo directo y se presenta en dos fases: exógena y endógena. En la fase exógena, los huevos salen con las heces del animal al medio ambiente donde eclosionan a larva uno (L₁) entre 24 y 30 horas; después, evoluciona a larva dos (L₂) en aproximadamente dos o tres días, para finalmente transformarse a larva tres (L₃) o estadio infectante en cuatro a siete días. Debido a que las condiciones medio-ambientales pueden influir sobre el tiempo de eclosión y muda, es probable que el periodo de desarrollo larvario puede variar en las diversas regiones del país. Es necesario que se realicen estudios epidemiológicos para conocer la dinámica poblacional de los principales géneros de NGI y su persistencia/resistencia al clima en el país.

La fase endógena, comienza con el consumo de L₃ por el hospedero y su ubicación en el tracto gastrointestinal. La L₃ es activa, sube a los tallos y hojas de los pastos que sirven como alimento a los rumiantes y de este modo produce la infección. Los NGI tienen su localización en diferentes partes del tracto gastrointestinal. Los principales géneros de NGI que se localizan en el abomaso de los bovinos son *Haemonchus spp*, *Mecistocirrus spp* y *Ostertagia spp*. En el intestino delgado se localizan *Trichostrongylus spp*, *Bunostomum spp*, *Cooperia spp*, *Nematodirus spp* y *Strongyloides spp*. En el intestino grueso se localiza *Oesophagostomum spp*.¹⁷

Dentro del ciclo de vida de los NGI puede ocurrir la hipobiosis, que es un estadio de latencia L₄ en el hospedero que se desencadena por la detección del parásito de alguna adversidad ambiental y reinicia su ciclo normal cuando

las condiciones ambientales favorecen la sobrevivencia de los huevos o larvas. En las regiones tropicales con marcadas épocas de lluvias y secas, la hipobiosis se desencadena por el inicio de condiciones climáticas (lluvias y secas) excesivas. El reinicio del desarrollo larvario en el hospedero puede desencadenar signos clínicos de nematodosis.¹⁷

2.2.2. Patogenia de nematodos gastrointestinales.

En general, cuando los estadios larvarios son ingeridos, se ubican en el órgano de elección y luego de 14 a 20 días llegan a estadio juvenil y adulto, que son los más patógenos. Luego las hembras comienzan la eliminación de huevos, a través de las heces al suelo, para la continuación del ciclo biológico del parásito.⁴

El reinicio del desarrollo larvario en el hospedero puede desencadenar signos clínicos de nematodosis¹⁶, los cuales provocarán una serie de problemas que afectan la fisiología del animal, provocando hasta la muerte de estos.

2.2.3. Signos y lesiones causados por nematodos gastrointestinales

La mayoría de los animales o huéspedes pueden albergar una o más especies de NGI y el número puede variar entre animales.² Los nematodos se adaptan al sitio donde se albergan y provocan lesiones que en ocasiones comprometen la vida del animal. Estas lesiones se pueden presentar dependiendo del curso de la enfermedad y causan diversos efectos.

Se puede presentar un efecto de obstrucción debido a la presencia de larvas a nivel intestinal, bronquial y de vasos sanguíneos. Esto no permite el paso de

alimento, oxígeno y circulación sanguínea. El efecto irritativo ocurre por el movimiento propio o por el intestinal provocando diarreas intermitentes. El efecto expoliador y traumático se debe a la lesión causada en mucosa intestinal con los ganchos de adherencia del parásito, estos succionan la sangre provocando irritación y anemia.¹⁷

Algunos parásitos también desarrollan un efecto tóxico al eliminar sustancias que actúan como alérgenos, provocan una inflamación local o una intoxicación general. El efecto inmunosupresor es porque los animales parasitados no pueden aprovechar los nutrientes, hay hipoproteïnemia y por lo tanto no puede producir anticuerpos necesarios para sobrevivir.¹⁷

2.2.4. Diagnóstico de nematodos gastrointestinales

El examen coprológico es el método más utilizado para el diagnóstico de infecciones parasitarias causadas por NGI. Las técnicas de laboratorio comúnmente utilizadas son la técnica de flotación que se utiliza para la detección de huevos de NGI en las heces del hospedero y la técnica de McMaster que se utiliza para obtener la estimación del número de huevos de NGI contenidos en un gramo de heces. El coprocultivo ayuda a identificar en fases larvianas los distintos géneros de NGI.¹⁷

En la interpretación de resultados, la presencia de huevos o larvas confirma un diagnóstico parasitario, aunque la ausencia o poca incidencia de huevos no necesariamente indica una ausencia parasitaria. La cantidad de huevos varía en relación a la especie parasitaria, al número de individuos infectados, periodicidad de ovoposición, reinfección y estados de inmunidad del huésped.¹⁸

2.2.5. Control de nematodos gastrointestinales

El control de NGI implica mantener las cargas parasitarias del huésped por debajo del nivel donde causan pérdidas económicas. Para realizar un control eficiente es necesario conocer los factores epidemiológicos y ecológicos de los nematodos bajo condiciones específicas.¹⁹ Otros factores que influyen son el tipo y cantidad de parásitos presentes en el organismo, la edad y la raza del huésped así como el nivel nutricional.¹⁷ Existen diferentes maneras de controlar los NGI en animales, pero la más frecuente y exitosa es el uso de antihelmínticos.

2.2.6. Antihelmínticos contra nematodos gastrointestinales

Los antihelmínticos de amplio espectro se agrupan en 3 familias: 1) Benzimidazoles, 2) Imidazotiazoles y 3) Lactonas macrocíclicas. Cada uno de estos grupos, posee varias moléculas que comparten los mismos mecanismos de acción. Las características ideales son: amplio margen terapéutico, potente y rápido, que no sea costoso, fácil de administrar y que no genere resistencia.⁹

Benzimidazoles: el uso potencial de estos compuestos para enfermedades parasitarias, se estableció en el año de 1950. En su estructura química tiene un grupo benceno y un grupo imidazol. Los benzimidazoles con efecto antiparasitario son: tiabendazol, mebendazol, flubendazol, albendazol, estos pueden aplicarse vía oral por que se distribuyen bien y se eliminan por heces, orina y leche, son antiparasitarios de gran espectro con un buen margen de seguridad y baratos. Se caracterizan por su efecto específico contra nematodos, sobre todo los gastrointestinales. Su mecanismo de acción se

manifiesta por lo general, a nivel de los componentes del citoesqueleto de los parásitos, y en especial en la proteína tubulina, que a su vez se integra en las subunidades de los microtúbulos.^{9,20}

Imidazotiazoles: son antihelmínticos de amplio espectro, actúan contra NGI y gusanos pulmonares. En su estructura química contienen un grupo fenil y un grupo imidazol. Dentro de este grupo se consideran los siguientes antihelmínticos: tetramisol, levamisol, butamisol y morantel. A dosis terapéuticas actúan a nivel ganglionar ocasionando una contracción muscular generalizada y parálisis del parásito. También causa la salida de iones de sodio de las membranas musculares despolarizadas produciendo parálisis espástica.
9,20

Lactonas macrocíclicas: este grupo fue sintetizado en 1980, actualmente existen diferentes lactonas macrocíclicas desde las naturales como la avermectina, pasando por las semisintéticas como la milbemicina y las biosintéticas como la doramectina. El mecanismo de acción es estimular la liberación del ácido gammaaminobutírico (GABA) del parásito que es un neurotransmisor inhibitorio de los estímulos nerviosos en la placa neuromuscular. Esta inhibición ocasiona parálisis e incluso la muerte del parásito, y puede afectar la producción de huevos de éste.¹⁹. Dentro de este grupo se consideran los siguientes fármacos: ivermectina, abamectina, doramectina y moxidectina. Independientemente de la vía de administración, el medicamento se elimina por bilis, por lo que se detectan grandes cantidades en heces también se excretan en orina y leche.⁹

2.2.7. Ivermectina

Es una molécula química derivada de la fermentación de *Streptomyces avermectilis*. La forma de aplicación puede ser subcutánea, oral y epicutánea. El mecanismo de acción se debe a la unión de la molécula en los receptores de los canales de cloro controlados por el glutamato. Esta estimula el flujo de entrada de cloro e hiperpolariza las neuronas del parásito, produciendo parálisis y muerte.⁴ Son productos lipofílicos, persistentes y de amplio efecto parasitario.²¹

La administración subcutánea de la ivermectina puede provocar irritación, hinchazón y dolor; por esto, la administración epicutánea ha reemplazado las rutas de administración inyectables en los animales domésticos.²²

La formulación epicutánea de la ivermectina es utilizada ampliamente en algunas partes del mundo por su eficacia antihelmíntica.^{23,24} La dosis de la ivermectina en forma tópica es de 500 µg/ kg.⁹ El efecto persistente de la ivermectina vía epicutánea se extiende de 3 a 4 semanas para *Ostertagia ostertagi* y otros NGI del ganado bovino^{23,25} pero este efecto es corto contra *Cooperia oncophora*.²⁵

3. JUSTIFICACIÓN

Las infecciones parasitarias en los bovinos se presentan en forma mixta. Generalmente los animales están infectados con parásitos internos como los NGI y trematodos, además de ectoparásitos como moscas y garrapatas. Esto implica que para su control se utilicen diferentes antiparasitarios que por su vía de administración requieren un manejo que en ocasiones implica estrés, lo cual afecta los parámetros productivos del animal; además se requiere una mayor inversión por concepto de mano de obra y por compra de antihelmínticos que en ocasiones su manejo no es el correcto.

La identificación de un producto que combina dos de las sustancias activas comúnmente utilizadas y de fácil aplicación, permitirá controlar las infecciones parasitarias de naturaleza mixta además de disminuir el concepto por mano de obra y realizar un manejo más tranquilo de los animales, generando mejoras en la producción de carne y leche en los bovinos.

4. HIPÓTESIS

El uso del Triclabendazol más Ivermectina de forma epicutánea disminuirá o contrarrestará la eliminación de huevos de *F. hepatica* y NGI en animales infectados naturalmente.

5. OBJETIVO.

Evaluar el efecto de la aplicación epicutánea del Triclabendazol más Ivermectina contra *F. hepatica* y NGI en vacas y becerros infectados naturalmente.

6. OBJETIVOS ESPECIFICOS.

Determinar el porcentaje de reducción de huevos de *F. hepatica* después de la aplicación epicutánea del Triclabendazol más Ivermectina en vacas infectadas naturalmente.

Determinar el porcentaje de reducción de huevos de NGI después de la aplicación epicutánea del Triclabendazol más Ivermectina en becerros infectados naturalmente.

7. MATERIAL Y MÉTODOS.

7.1 Ubicación geográfica.

El presente trabajo tuvo dos fases de evaluación realizadas en 2 diferentes unidades de producción bovina (UBP). La primera fase se realizó, de agosto a octubre del 2010, en el rancho “Solteros” que está ubicado en la localidad de El Cabellal, Municipio de San Rafael, Veracruz, dicho municipio cuenta con clima cálido húmedo con abundantes lluvias en verano y cálido subhúmedo con lluvias en verano un rango de temperatura de 24-26°C y una precipitación anual de 1400-1600 mm.²⁶

La segunda fase se realizó, de septiembre a octubre del 2010, en el Módulo de Producción de vaquillas F1 “La Soledad”, el cual pertenece al Centro de Enseñanza Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT), ubicado en el Km 3.5 de la carretera Martínez de la Torre – Novara, perteneciente al Municipio de Atzalan, Veracruz, dicho municipio cuenta con un clima semicálido húmedo con lluvias todo el año (80%), cálido húmedo con lluvias todo el año (13%) y templado húmedo con lluvias todo el año (7%), un rango de temperatura de 14 – 26°C y una precipitación anual de 1 900 – 2 600 mm.²⁷

El criterio de selección de estos lugares se debió a la infección natural de *Fasciola hepatica* y/o nematodos gastrointestinales presente en estos sitios. Para ubicar la unidad de producción con animales infectados con *F. hepatica* se monitorearon más de 900 animales y en cuanto a los animales infectados con NGI fueron alrededor de 400.

7.2 Antihelmíntico.

Se evaluó un producto de aplicación epicutánea a base de Triclabendazol en una concentración de 240 g/L e Ivermectina en una concentración 15 g/L.

7.3 Animales experimentales.

En la UPB 1 (“Solteros”), se utilizaron 30 vacas ($\frac{1}{2}$ *Bos indicus* x $\frac{1}{2}$ *Bos taurus*), de más de un parto con una edad promedio de 2 a 5 años y un peso promedio que fluctuó de 350 a 560 kilogramos de peso vivo.

En la UPB 2 (“La Soledad”), se utilizarón 28 becerros, 15 hembras y 13 machos ($\frac{1}{2}$ *Bos indicus* x $\frac{1}{2}$ *Bos taurus*) en crianza, con una edad y peso promedio de 3 a 9 meses y de 80 a 310 kilogramos de peso vivo, respectivamente.

Los criterios de inclusión fueron los siguientes: que las vacas estuvieran eliminando al menos 10 hpgh de *F. hepatica* en promedio y que los becerros eliminarán al menos 200 hpgh de NGL.

7.4 Procedimientos parasitológicos.

En cada UPB, se colectó una muestra de heces aproximadamente de 15 gramos directamente del recto de cada animal con una bolsa de polietileno previamente identificada con el número de registro del animal de cada rancho. Las muestras de heces se transportaron en una hielera con una temperatura aproximadamente de 5 °C, para su análisis en el laboratorio de Sanidad Animal del CEIEGT.

Las muestras de la UPB 1 se analizaron mediante la técnica de sedimentación para la identificación de huevos de *Fasciola hepatica*.²⁸

Las muestras de la UPB 2 se analizaron mediante la técnica de McMaster para la identificación de huevos de NGL.²⁸ También se realizaron coprocultivos de acuerdo a la técnica de Cortichelli Lai para identificar los géneros de larvas de NGL.¹⁸

7.5 Diseño experimental.

Los animales de cada UPB, se distribuyeron a dos grupos experimentales balanceados de acuerdo a las cargas parasitarias: 1) Grupo testigo conformado por 15 animales los cuales se quedaron sin tratamiento y 2) Grupo tratado, conformado por 15 animales, que fueron tratados con una aplicación epicutánea a base de triclabendazol más ivermectina.

7.6 Muestreos, pesaje y aplicación de tratamiento.

El muestreo de heces se realizó de 7 a 9 a.m. En la UPB 1, los muestreos se realizaron los días -14, -7, 1, 7, 14, 21, 35 y 56, mientras que en la UPB2, se realizaron los días -14, -7, 1, 7, 14, 21 y 35.

El día 1 se aplicó el tratamiento a base de triclabendazol más ivermectina en aplicación epicutánea al grupo tratado, cada animal fue administrado con el fármaco sobre el dorso, iniciando por la parte posterior de los miembros anteriores hasta la base de la cola. La dosificación indicada es de 1mL/10 Kg de peso vivo. Previo a la aplicación del tratamiento, los animales se pesaron individualmente para dosificar de acuerdo al peso.

7.7 Análisis estadístico.

Para evaluar el efecto del tratamiento sobre el control de las parasitosis, se utilizó la prueba de U Mann Whitney a un nivel de significancia de $P < 0.05$.

Para determinar el porcentaje de reducción de hpgh de las parasitosis mencionadas se utilizó la siguiente fórmula:

$$PR = \frac{PH (GTes) - PH (GTx)}{PH (GTes)} \times 100$$

Donde:

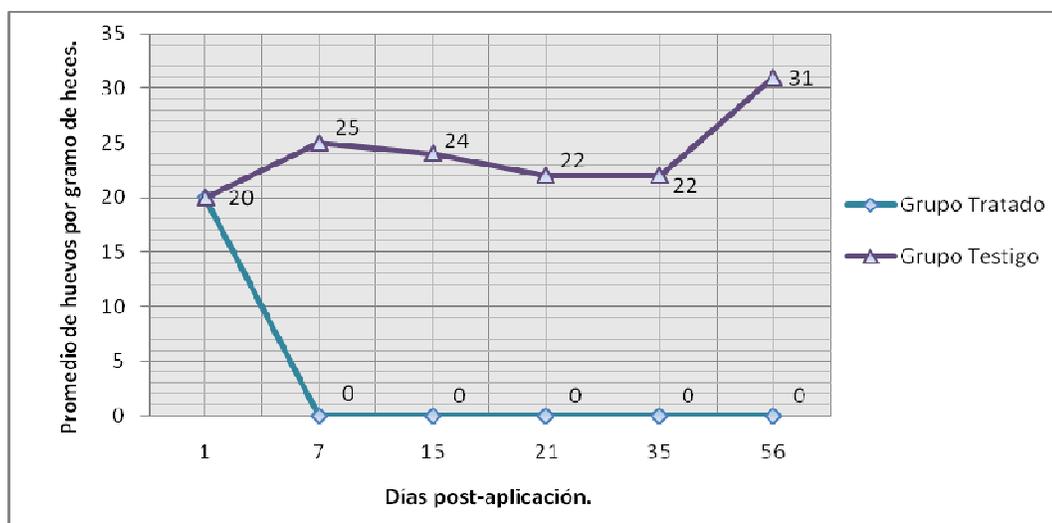
-PH (GTes)= promedio de huevos de grupo testigo.

-PH (GTx)= promedio de huevos de grupo tratado.

8. RESULTADOS.

8.1 Efecto del triclabendazol más ivermectina epicutáneo sobre la reducción de huevos de *Fasciola hepatica*.

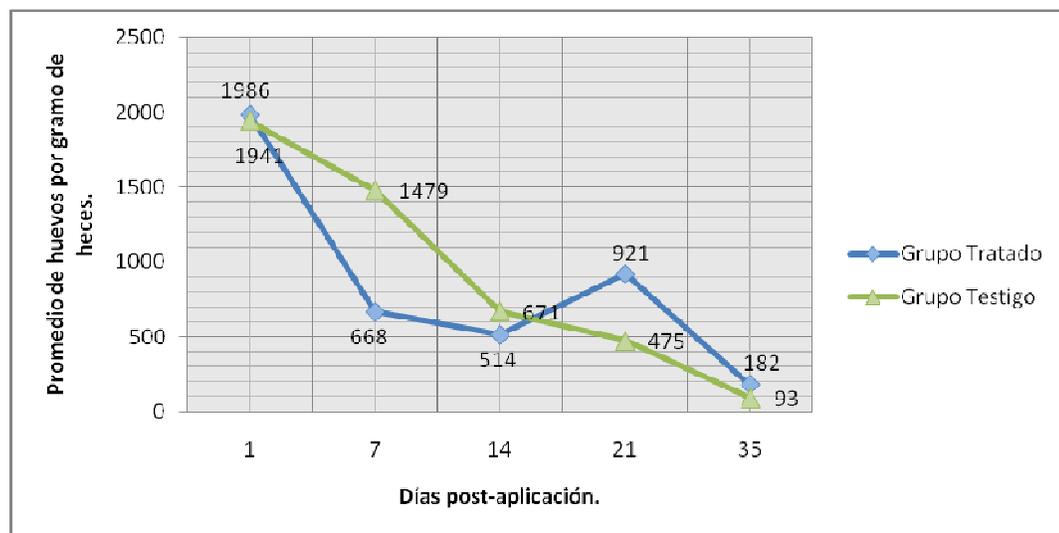
En la gráfica 1, se muestra el efecto del triclabendazol más ivermectina epicutáneo sobre la eliminación de huevos de *F. hepatica*. Al inicio del experimento (día 1) el promedio de eliminación de huevos entre los grupos experimentales fue similar ($P>0.05$). A partir del día 7 post-tratamiento y hasta el día 56 hubo diferencias estadísticamente significativas entre grupos experimentales ($P<0.05$). Durante este periodo los animales del grupo testigo incrementaron la eliminación de huevos de 20 (día 1) a 31 (día 56) mientras que los animales del grupo tratado no eliminaron huevos a partir del día 7 post-tratamiento. El efecto del triclabendazol mas ivermectina epicutáneo sobre la reducción de huevos de *F. hepatica* fue del 100%. No se observó ninguna reacción adversa en los animales durante la evaluación del tratamiento.



Grafica 1. Efecto del triclabendazol más ivermectina epicutáneo sobre el porcentaje de reducción de huevos de *Fasciola hepatica* en vacas infectadas naturalmente.

8.2 Efecto del triclabendazol más ivermectina epicutáneo sobre la reducción de huevos de nematodos gastrointestinales.

Al inicio del experimento (día 1) el promedio de eliminación de huevos de NGI entre grupos experimentales fue similar ($P>0.05$) (Gráfica 2). A partir del día 7 post-tratamiento y hasta el día 35, no existieron diferencias estadísticamente significativas entre grupos experimentales ($P>0.05$). El efecto del triclabendazol más ivermectina epicutáneo sobre la reducción de huevos en el 7 siete post aplicación fue del 55%. No se observó ninguna reacción adversa en los animales durante la evaluación del tratamiento. Debido a que tanto los animales del grupo testigo como del grupo tratado disminuyeron significativamente las cargas parasitarias, la evaluación se realizó hasta el día 35.



Gráfica 2. Efecto del triclabendazol más ivermectina epicutáneo sobre el porcentaje de reducción de huevos de nematodos gastrointestinales en becerros infectados naturalmente.

8.3 Identificación de larvas infectantes de nematodos gastrointestinales.

En cuadro 1 se muestra la distribución del porcentaje de géneros de larvas infectantes (L₃) de nematodos gastrointestinales. *Haemonchus spp* fue el género de NGI que se identificó con mayor frecuencia en todos los muestreos. En el género *Oesophagostomum spp.* el efecto del fármaco fue de un 100% de reducción de este.

Cuadro 1.
Identificación y Porcentaje de larvas (L₃) de nematodos gastrointestinales.

| Día de muestreo | Porcentaje de larvas infectantes | | |
|-----------------|----------------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| | Grupo Testigo | | |
| | <i>Haemonchus spp.</i> | <i>Oesophagostomum spp.</i> | <i>Strongyloides spp.</i> |
| 0 | 49 | 1 | 50 |
| 7 | 46 | 20 | 34 |
| 14 | 60 | 12 | 28 |
| 21 | 66 | 15 | 19 |
| 35 | 78 | 12 | 10 |

| | Grupo Tratado | | |
|----|------------------------|------------------------|---------------------------|
| | <i>Haemonchus spp.</i> | <i>Oesophagostomum</i> | <i>Strongyloides spp.</i> |
| 0 | 8 | 0 | 92 |
| 7 | 70 | 0 | 30 |
| 14 | 65 | 0 | 35 |
| 21 | 74 | 0 | 26 |
| 35 | 70 | 0 | 30 |

9. DISCUSIÓN

El primer objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del triclabendazol más ivermectina epicutáneo sobre la eliminación de huevos de *Fasciola hepatica* en vacas infectadas naturalmente. Se encontró un efecto del 100% de reducción de huevos de *F. hepatica* a partir del día siete post-aplicación ($P < 0.05$). Estos resultados son similares a lo reportado por otros autores quienes utilizaron bovinos infectados artificialmente con 500 metacercarias de *F. hepatica* (Sunny Corner). Sargent *et al.* (2009)¹², al evaluar la presentación epicutánea del triclabendazol más ivermectina reportó 99.9% de reducción de huevos de *F. hepatica*. Hutchinson *et al.* (2009)²⁹ encontró una respuesta del 98% sobre la reducción de huevos de *F. hepatica*. Este es el primer reporte del uso de triclabendazol mas ivermectina epicutáneo sobre la eliminación de huevos de *F. hepatica* en vacas infectadas naturalmente. De acuerdo a los lineamientos de la “World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology” los antihelmínticos a partir de un 80% son considerados como eficaces.³⁰ Por lo tanto, los resultados de este estudio sugieren utilizar el producto como una medida de control debido a que afectó la epidemiología de la fasciolosis al disminuir la contaminación a las praderas. Se sugiere evaluar el efecto del producto en un periodo de extensión amplio para diseñar estrategias de control a través del año.

El segundo objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del triclabendazol más ivermectina epicutáneo sobre la eliminación de huevos de nematodos gastrointestinales en becerros infectados naturalmente. No hubo efecto del tratamiento sobre la eliminación de huevos de NGI ($P < 0.05$). Estos resultados

difieren a lo reportado por Williams *et al.* (1999)²³ quienes utilizaron un producto epicutáneo con ivermectina como única molécula química. Existen varios factores que pudieron haber influido en la falta de efecto del tratamiento sobre el control de NGI en este estudio. En este estudio las cargas de NGI disminuyeron significativamente después del tratamiento (día 7) en ambos grupos experimentales. En condiciones de campo las infecciones de NGI pueden variar por factores inherentes a la epidemiología de los parásitos (ej. relación ambiente – hipobiosis) y/o al desarrollo inmune del hospedero (resistencia/resiliencia). En este estudio no fue posible evaluar el efecto de dichos factores sobre la falta de efecto pero se sugiere realizar estudios para conocer las dinámicas poblacionales de los NGI tanto en el hospedero como en el forraje con la finalidad de dilucidar estas variaciones en los trabajos experimentales.

Otro factor que pudo influir en la baja eficacia de la aplicación epicutánea del triclabendazol más ivermectina sobre la eliminación de huevos de nematodos gastrointestinales es el desarrollo de la resistencia de los parásitos a las ivermectinas. En un estudio previo, en la misma unidad de producción bovina, Arnaud (2011)³¹ reportó una falta de sensibilidad de la ivermectina inyectable (1 %) en animales de la misma edad y raza a los que se utilizaron en este trabajo. Uno de los principales factores que influyen sobre el desarrollo de resistencia de las poblaciones de NGI a los antihelmínticos es la frecuencia de uso de una misma molécula química al año.³² La aplicación de un mismo antihelmíntico más de seis veces al año es un posible factor de riesgo sobre el desarrollo de resistencia.³² De acuerdo al historial del uso de AH en la UPB

donde se realizó el estudio, las ivermectinas se han utilizado con una frecuencia de cinco a seis veces por año para el control de NGI, moscas y/o garrapatas.

Otro aspecto que ocurre cuando se utilizan ivermectinas es que existen algunos géneros de NGI como *Cooperia spp.* que ha mostrado una tolerancia innata.³³ En este estudio los principales géneros de NGI que se identificaron fueron *Haemonchus spp.* seguido de *Oesophagostomum spp.* por lo que este efecto no pudo haber ocurrido en este trabajo.

10. CONCLUSIONES

- El tratamiento antihelmíntico a base de triclabendazol más ivermectina en administración epicutánea tuvo un efecto benéfico con una reducción del 100% de huevos de *Fasciola hepatica* a partir de la primera aplicación en vacas infectadas naturalmente.
- El tratamiento antihelmíntico a base de triclabendazol más ivermectina en administración epicutánea no obtuvo una reducción significativa de huevos de nematodos gastrointestinales a partir de la primera aplicación en becerros infectados naturalmente, teniendo resultados insatisfactorios con el uso y manejo del antihelmíntico.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- GARCIA J. Cambios tecnológicos en el área de la salud animal en un programa de transferencia de tecnología en la zona centro del estado de Veracruz. (Tesis licenciatura) Martínez de la Torre (Veracruz) México: CEIEGT, FMVZ, UNAM, 2004.
- 2.-QUIROZ RH. Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. México: Limusa, 2005.
- 3.-RANGEL LJ, MARTINEZ E. Pérdidas económicas por decomiso de hígados y distribución geográfica de la Fasciolosis bovina en el estado de Tabasco, México. Vet. Mex. 1994;25:327-331.
- 4.-QUIROZ RH. Nematodosis gastrointestinales y pulmonares en ganado bovino. 1^a ed. Mexico: Intervet, 2008.
- 5.-CHARLIER J, HOGLUND J, VON SAMSON-HIMMELSTJERNA G, DONNY P, VERCUYSSSE J. Gastrointestinal nematode infections in adult dairy cattle: Impact on production, diagnosis and control. Vet. Parasitol. 2009; 164:70-79.
- 6.-QUIROZ-ROMERO H, CHAVARRIA-MARTINEZ B, CARRILLO J, PEREZ M, OCHOA-GALVAN P. Efecto prolongado de ivermectina + abamectina contra nematodos y la diferencia de peso en bovinos en Veracruz, México. Ibero-latinoam. Parasitol. 2009; 68:180-184.

- 7.- ROJAS J. Resistencia antihelmíntica de nematodos a los antiparasitarios más utilizados en bovinos en los fundos “Tres Molinos, distrito Cajamarca” e “Ingatambo, distrito San Pablo”, Región Cajamarca. Perú. Red. Vet. 2007; 8:1-5.
- 8.- IBARRA F, VERA Y, NAJERA R, SANCHEZ A. Efficacy of combined chemotherapy against gastrointestinal nematodes and *Fasciola hepatica* in cattle. Vet. Parasitol. 2001; 99:199-204.
- 9.- SUMANO HS, OCAMPO L. Farmacología Veterinaria. 3^a ed. México: Mc Graw Hill, 2006.
- 10.- PRICHARD R. The pharmacology of anthelmintics in livestock. Int. J. Parasitol. 1987; 17:473-482.
- 11.- LIFSCHITZ A, VIRKEL G, BELLENT M, SALLOVITZ J, LANUSSE C. Combined use of ivermectin and triclabendazole in sheep: In vitro and in vivo characterisation of their pharmacological interaction. Vet. J. 2009; 182:261-268.
- 12.- SARGENT RM, CHAMBERS M, ELLIOT T. Seasonal differences in the efficacy of pour-on of triclabendazole and ivermectin or abamectin against late immature liver fluke (*Fasciola hepatica*) in cattle. Vet. Parasitol. 2009; 161:133-137.
- 13.- COLES GC, JACKSON F, POMROY WE, PRICHARD RK, SAMSON-HIMMELSTJERNA G, SILVESTRE A *et al.* The detection of antihelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. Vet. Parasitol. 2006; 136:167-185.

- 14.-THOMAS, LEUCKART. Fasciolasis, Mexico Editor no identificadao, 1986.
- 15.-SANYAL PK, GUPTA SC. Efficacy and pharmacokinetics of triclabendazole in buffalo with induced fasciolasis. Vet. Parasitol. 1996; 63:75-82.
- 16.- TORES JFJ, AGUILAR AJ Epidemiologia, prevención y control de nematodos gastrointestinales en rumiantes. En: RODRIGUEZ RI editor. Mc Graw Hill – Interamericana Enfermedades de importancia económica en producción animal 1ª Ed México: 2005:145-173.
- 17.-ROA SY. Efecto de la moxidectina al 0.5% en aplicación tópica sobre la reducción de nematodos gastrointestinales y la producción de leche en vacas F1 en trópico húmedo. (Tesis licenciatura) Martínez de la Torre (Veracruz) México: CEIEGT, FMVZ, UNAM, 2003.
- 18.-RODRIGUEZ RI, DOMINGUEZ JL, COB L. Técnicas de diagnóstico de parasitología veterinaria. Mérida, (Yucatán) México; UADY; 1994.
- 19.- VERCUYSSSE J , DONNY P Integrated control of nematode infections in cattle: a reality? A future? A need? Int. J. Parasitol. 1999; 29:165-175.
- 20.- JACKSON F. Correct doses of different anthelmintics in sheep and goats. 1er. Curso internacional “Nuevas perspectivas en el diagnóstico de nematodos gastrointestinales en pequeños rumiantes” Mérida Yucatán, México. Universidad Autónoma de Yucatán 2000; 28-31.

- 21.-SALLOVITZ J, LIFSCHITZ A, IMPERIALE F, PIS A, VIRKEL G, LANUSSE C. Breed differences on the plasma availability of moxidectin administered pour-on to calves. *Vet. J.* 2002;164:47-53.
- 22.-GOKBULUT C, CIRAK V, SENLIK B, AKSIT D, DURMAZ M, MCKELLAR Q. Comparative plasma disposition, bioavailability and efficacy of ivermectin following oral and pour-on administrations in horses. *Vet. Parasitol.* 2010;170:120-126.
- 23.- WILLIAMS JC, LOYACANO AF, DE ROSA A, GURIE J, CLYMER BC, GUERINO F. A comparison of persistent antihelmintic efficacy of topical formulations of doramectin, ivermectin, eprinomectin and moxidectin against naturally acquired nematode infections of beef calves. *Vet. Parasitol.* 1999; 85:277-288.
- 24.-HOOKE FG, CLMENT P, DELL'OSA D, PORTER RM, MACCOLL D, REW RS Therapeutic and protective efficacy of doramectin injectable against gastrointestinal nematodes in cattle in New Zeland: A comparsion with moxidectin and ivermectin pour-on formulations. *Vet. Parasitol.* 1997;72:43-51.
- 25.-EYSKER M, BOERSEMA JH, GITHIORI JB, KOOYMAN FHJ Evaluation of effect of ivermectin administered topically at zero and six week after turnout on gastrointestinal nematode infection in first- season grazing cattle. *Vet. Parasitol.* 1998; 78:277-286.
- 26.-Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, San Rafael, Veracruz de Ignacio de la Llave, clave geoestadística 30211, 2009 base de datos INEGI 2009.

- 27.-Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Atzalan, Veracruz de Ignacio de la Llave, clave geoestadística 30023, 2009 base de datos INEGI 2009.
- 28.- Besné MA, Figueroa CJA, Quiroz RH, Ramirez GA, Ramos ME. Manual de prácticas de laboratorio de parasitología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, DF. 2006.
- 29.-HUTCHINSON GW, DAWSON K, FITZGIBBON CC, MARTIN PJ. Efficacy of an injectable combination antihelmintic (nitroxynil + clorsulon + ivermectin) against early immature *Fasciola hepatica* compared to triclabendazole combination fluckicides given orally or topically to cattle. *Vet. Parasitol.* 2009; 162:278-284.
- 30.-WOOD IB, AMARAL NK, BAIRDEN K, DUNCAN JL, KASSAI T, MALONE JB, *et al.* World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). *Vet. Parasitol.* 1995; 58:181-213.
- 31.-ARNUAD RA. Prevalencia de unidades de producción bovina con nematodos gastrointestinales resistentes a antihelmínticos así como factores de riesgo asociados a la resistencia, en el trópico veracruzano. (tesis licenciatura) Martínez de la Torre (Veracruz) México: CEIEGT, FMVZ, UNAM, 2011.
- 32.- SOUTELLO RGV, SENO MCZ, AMARANTE AFT. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in northwestern Sao Paulo State, Brazil. *Vet. Parasitol.* 2007; 148:360-364.

33.- SUTHERLAND IA, LEATHWICK DM. Anthelmintic resistance in nematode parasites of cattle: a global issue? Trends in Parasitology 2010; 30:1-6.