

# Evaluación de dos modelos quimioterapéuticos para el control de fasciolasis bovina en clima cálido-húmedo en México

Héctor Quiroz Romero\*

Froylán Ibarra Velarde\*

Pedro Ochoa Galván\*

M. Yolanda Manga-González\*\*

Natividad Montenegro Cristina\*

Rosalba Salcedo Elisea\*

## Abstract

In order to evaluate 2 models of chemotherapy against *Fasciola hepatica* in naturally infected cattle located in a farm in the municipality of Nautla in the State of Veracruz in Mexico, triclabendazole (tbz) was administered once or twice in different months to reduce faecal egg output in a significant way. Furthermore, anti- *F. hepatica* antibody values, as well as seric levels of gamma-glutamyl transpeptidase (ggt) and aspartate amino transferase (ast), were also determined. Two groups (G) of 23 animals each received 12 mg/k of tbz. G-1, the control group, was treated in January, whereas G-2 in January and May. Stool samples were collected from all animals every 45 days during 10 times in order to perform faecal egg count per 5 g (epg). At the same time, blood samples were collected from 15 cows of each group to detect anti- *F. hepatica* antibodies by the ELISA test, and to determine ggt- and ast enzymes by spectrophotometry. Improvement percentage for epg was 27.6% higher in G-2 than in G-1; this epg agrees with the lower values of ggt detected in G-2, and ast activity did not exceed the normal limit. Antibody levels were positive, and were not affected by the treatment in any of the groups.

**Key words:** FASCIOLA HEPATICA, TRICLABENDAZOLE, CATTLE, ELISA, GAMMA-GLUTAMYL TRANSPEPTIDASE, ASPARTATE AMINO TRANSFERASE.

## Resumen

Con el objetivo de evaluar dos modelos de control quimioterapéutico contra *Fasciola hepática*, en ganado bovino infectado de manera natural y localizado en una finca en el municipio de Nautla, Veracruz, México, se aplicó el triclabendazol (tbz) en una o dos ocasiones, en diferentes meses, para reducir al máximo la eliminación de huevos. Además, se determinaron los valores de anticuerpos anti-*F. hepatica* y los niveles séricos de gamma-glutamil transpeptidasa (ggt) y aspartato aminotransferasa (ast). Se trataron dos grupos (G) de 23 animales cada uno, con dosis de 12 mg/kg de tbz, el G-1, testigo, en enero y el G-2 en enero y mayo. Cada 45 días, durante 10 ocasiones, se recolectaron muestras de heces de todos los animales, para realizar el recuento de huevos en 5 g (hpg). Al mismo tiempo, se tomaron muestras de sangre de 15 vacas de cada grupo, con el fin de detectar en el suero, mediante ELISA, los anticuerpos anti-*F. hepatica*, así como valorar los niveles de ggt y ast por espectrometría. El porcentaje de reducción de tasa de la media de hpg fue 27.6 más alto en el G-2 que en el G-1, lo que concuerda con los valores más bajos de ggt detectados en el G-2. Los valores medios de la ast no rebasaron el límite normal. Los niveles de anticuerpos fueron positivos y no parecen verse afectados por el tratamiento con tbz en ninguno de los grupos.

**Palabras clave:** FASCIOLA HEPATICA, TRICLABENDAZOL, BOVINOS, ELISA, GAMMA-GLUTAMIL TRANSPEPTIDASA, ASPARTATO AMINOTRANSFERASA.

Recibido el 28 de octubre de 2000 y aceptado el 29 de enero de 2001.

\* Departamento de Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D. F.

\*\* Estación Agrícola Experimental, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Apartado 788, 24080, León, España.

## Introducción

El control de la fasciolasis se basa en tratamientos quimioterapéuticos para eliminar al parásito, en la reducción de huéspedes intermediarios y la aplicación de prácticas de manejo zootécnico.<sup>1</sup> La aplicación de estos tres métodos no siempre es posible debido a razones sociales y económicas; sin embargo, el uso de fasciolicidas es el método más empleado en el mundo por su beneficio inmediato. No obstante, debido a las diferencias epidemiológicas de la enfermedad en las distintas regiones, es necesario conocer en cada una de ellas los meses adecuados de aplicación de tratamientos fasciolicidas.<sup>1</sup>

El criterio más importante para seleccionar un fasciolicida es su alta eficacia contra estadios adultos e inmaduros, ausencia de residuos en los tejidos del huésped y un precio económico. El uso corriente de antihelmínticos para el control depende de la eficacia del espectro del fasciolicida y de la frecuencia de su aplicación, integrado a sistemas de control estratégico.<sup>2</sup> En nuestro país existe muy poca información sobre modelos de control de fasciolasis en ganado bovino, motivo por el cual se realizó este estudio.

Boulard et al.<sup>3</sup> notifican el uso de la técnica indirecta de ensayo inmunoenzimático (ELISA), la coprología y el examen postmortem en el matadero y señalan las ventajas de cada una de ellas. Varios autores<sup>4-6</sup> coinciden en la ventaja de ELISA para detectar infecciones tempranas, así como una mayor sensibilidad con respecto a la coprología, razón por la que se empleó en este trabajo.

El diagnóstico de las afecciones hepáticas se ha visto favorecido por la actividad sérica de enzimas específicas, que escapan de las células hepáticas dañadas. Desde hace tiempo varios autores han aplicado la interpretación de los niveles de diversas enzimas como la gamma-glutamil transpeptidada (ggt) y el aspartato aminotransferasa (ast) en el diagnóstico de la fasciolasis de rumiantes infectados,<sup>7</sup> en fasciolasis subclínica,<sup>8</sup> en la proliferación celular en conductos biliares,<sup>9</sup> en fasciolasis experimental en bovinos,<sup>10</sup> en el diagnóstico de becerros para sebadero,<sup>11</sup> en fasciolasis naturalmente adquirida,<sup>12</sup> y en el tiempo de normalización de los niveles después de tratamiento fasciolicida.<sup>13</sup>

El presente estudio forma parte de una serie de experimentos sobre control de fasciolasis en ganado bovino en clima cálido-húmedo, a fin de precisar los meses más adecuados para el tratamiento fasciolicida, y el efecto en la reducción de eliminación fecal de huevos del parásito, en este estudio se comparó dicho efecto en dos modelos, considerando que un segundo tratamiento estratégico en mayo antes del periodo de lluvia es mejor a uno solo en enero.

El objetivo fue comparar el efecto del triclabendazol aplicado en enero y mayo, contra el establecido en la finca durante enero, en la reducción de eliminación fecal de huevos del trematodo, así como evaluar los niveles de anticuerpos anti-F hepática y los valores de ggt y ast en ganado bovino.

## Material y métodos

Los trabajos de campo se realizaron en la finca "Las Gaviotas", localizada en el municipio de Nautla, Veracruz, México. Este presenta un clima cálido-húmedo, que se clasifica como A x' (wl (y) w"; la temperatura media anual es de 23.8°C, la precipitación pluvial anual es de 1 271 mm, el mes con mayor lluvia es septiembre (258 mm) y el de menor, febrero (52 mm).<sup>14</sup>

Del hato de aproximadamente 300 vacunos, cruzas de cebú (*Bos indicus*) con suizo pardo (*Bos taurus*), se emplearon 46 vacas positivas al trematodo. Dichos vacunos estaban sometidos a pastoreo extensivo y fueron identificados con un arete de plástico en la oreja.

## Diseño experimental

Se diseñaron dos modelos de control quimioterapéutico contra *F. hepatica*, se tomó en cuenta la cantidad de huevos del trematodo en 5 g de heces (hpg) en enero, la precipitación pluvial del año, la transmisión del parásito, considerando que ocurre todo el año, pero varía de intensidad de acuerdo con Rangel;<sup>15</sup> se consideró también la eficacia del triclabendazol\* en dosis de 12 mg/kg (tbz) contra estadios inmaduros y adultos,<sup>16</sup> y el manejo de pastoreo extensivo del ganado. El modelo 1 con tratamiento en enero (testigo), y el modelo 2, con tratamientos en enero y mayo. La variable independiente fue el tratamiento de mayo, dichos modelos se aplicaron a los grupos 1 y 2 de 23 vacas cada uno, respectivamente. Los grupos se conformaron de acuerdo con la cantidad de hpg eliminados en el muestreo previo al tratamiento (día 30), sin que mostraran diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ).

Desde enero, aproximadamente cada 45 días y durante 13 meses, se recolectaron y examinaron muestras de heces de manera individual a los dos grupos. Se procesaron 5 g de heces mediante la técnica de sedimentación de Benedek, modificada por Happich y Boray.<sup>17</sup> Con los datos obtenidos en los exámenes coprológicos del conjunto de muestras positivas y negativas se calculó: a) El porcentaje de muestras positivas a huevos de *F. Hepática*; b) la media de hpg  $\pm$  error estándar (e.e.); c) el rango de máxima y mínima; d) el coeficiente de variación; y, e) el porcentaje de reducción de tasa<sup>18</sup> de la media de hpg de los diferentes muestreos contra (vs) primer muestreo (M-1).

\* Fasinex. Novartis Salud Animal, S. A. De C. V.

Adicionalmente, los parámetros 2, 3, 4 y 5 se calcularon para cada grupo, considerando únicamente el conjunto de muestras positivas.

Además, con la finalidad de saber cuál de los dos grupos tuvo un mejor comportamiento en la reducción de eliminación de huevos, se calculó el porcentaje de reducción de tasa<sup>18</sup> de todos los muestreos, comparando los valores totales del porcentaje de muestras positivas, por un lado, y de la media de hpg, por el otro, entre los grupos 1, testigo, y 2, problema. Dichos porcentajes expresan en qué medida mejoró el grupo menos infectado en muestras positivas y cuál eliminó menos cantidad de huevos con respecto al testigo.

Por otra parte, se evaluó la eficacia del fasciolicida a través del "efecto extensión" y el "efecto intensidad", calculados según la fórmula utilizada por otros autores,<sup>19-21</sup> considerando como comparación, los valores del propio grupo el día en que se aplicó el tratamiento contra el muestreo siguiente al tratamiento.<sup>20,22</sup>

Para determinar las diferencias estadísticas entre muestreos del mismo grupo, se empleó la prueba de Friedman.<sup>23</sup> Además se empleó la prueba de Kruskal-Wallis,<sup>23</sup> para determinar las diferencias entre los muestreos de los dos grupos, finalmente para conocer el coeficiente de correlación entre niveles de anticuerpos y hpg, se aplicó la prueba de Spearman,<sup>23</sup> utilizando el sistema Statistical Analysis System (SAS).<sup>24</sup>

En las mismas fechas elegidas para la toma de muestras de heces, a partir de enero y durante 10 ocasiones en un periodo de 13 meses, se extrajo también una muestra de sangre, de un subgrupo de 11 a 15 bovinos de cada uno de los dos grupos. Una parte de cada muestra de suero se utilizó en el estudio inmunológico y la otra en las determinaciones enzimáticas.

La detección de anticuerpos anti-F hepática en el suero se realizó mediante la lectura de densidades ópticas, utilizando la técnica de ELISA indirecta; se empleó también un antígeno de secreciones-excreciones de dicho parásito, preparado como lo describen Boulard et al.,<sup>3</sup> Montenegro,<sup>25</sup> e Ibarra et al.<sup>26</sup>

El punto de corte fue considerado positivo cuando el valor fue mayor a 0.50, y de menor a igual a 0.36; se consideraron negativos, con un rango de sospechosos, a los que tuvieron un valor de densidad óptica de 0.37 a 0.49.<sup>25</sup>

Con los datos obtenidos en cada uno de los 10 muestreos de cada grupo, se calculó la media aritmética, además se realizó una prueba de correlación entre hpg y niveles de anticuerpos.

Los valores de ggt y ast se determinaron mediante el empleo de la prueba cinética de diagnóstico, según Tietz.<sup>27</sup> La interpretación de los valores en ganado bovino sano tienen un rango de hasta 17, según Rowlands y Clampitt.<sup>7</sup> La interpretación de los resultados obtenidos se hizo de

acuerdo con otros autores,<sup>7,10,15</sup> quienes señalan como valores en bovinos sanos de 78 a 132 UI/L.

Para cada uno de los dos grupos y durante los 10 muestreos con los valores de ggt y ast se calcularon: El porcentaje de muestras positivas, la media y error estándar, posteriormente se compararon por pares entre los diferentes muestreos de cada grupo mediante la prueba de Friedman.<sup>23</sup> Los diferentes muestreos entre los dos grupos se cotejaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis.<sup>23</sup> También se determinó el coeficiente de correlación de rangos entre hpg/ggt, hpg/ast y ggt/ast, mediante la prueba de Spearman,<sup>23</sup> empleando el programa SAS.<sup>24</sup>

## Resultados

En el G-1 (testigo), el porcentaje de muestras positivas en enero M-1 fue de 100; sin embargo, los siguientes muestreos variaron de 21.7% en febrero a 100% de septiembre a enero, M-10. La media de hpg en enero, M-1, fue de  $13.2 \pm 3.1$ ; los siguientes muestreos variaron de  $0.5 \pm 0.2$  en febrero a  $21.1 \pm 3.0$  en diciembre (Cuadro 1). En el análisis estadístico, las diferencias significativas se anotan con literales distintas ( $P < 0.05$ ). El rango, el coeficiente de variación y el porcentaje de reducción de tasa de la media de hpg vs el M-1, así como los valores de las muestras únicamente positivas, la media de hpg, el rango, el coeficiente de variación entre los muestreos y el porcentaje de reducción de tasa de la media de hpg vs el M-1 también se presentan en el Cuadro 1.

En el G-2 el porcentaje de muestras positivas fue de 100 en enero, M-1; no obstante, en los siguientes muestreos varió de 8.6% en febrero a 95.6% en diciembre. La media de hpg en enero, M-1, fue de  $15.0 \pm 3.6$ ; sin embargo, en los muestreos posteriores varió de  $0.1 \pm 0.1$  en febrero a  $15.7 \pm 3.0$  en enero, M-10. En el análisis estadístico la diferencia estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ ) entre los muestreos, se indica con literales distintas. El rango, el coeficiente de variación y el porcentaje de reducción de tasa de la media de hpg vs M-1 se presentan en el Cuadro 2.

Al comparar los valores de hpg de cada muestreo entre los dos grupos, mediante la prueba de Kruskal-Wallis, se encontró que sólo hubo diferencia estadísticamente significativa ( $P < 0.01$ ) en los muestreos 5, 8 y 9.

En cuanto a los valores únicamente de muestras positivas, la media de hpg en enero, M-1, fue de  $15.0 \pm 3.6$ ; sin embargo, en los siguientes muestreos oscilaron de  $2.0 \pm 1.0$  en febrero a  $16.4 \pm 3.1$  en diciembre. Debido a que el número de muestras positivas se redujo demasiado en algunos muestreos, no se hizo el análisis estadístico, por lo que se presenta solamente el análisis descriptivo de este conjunto. El rango, el coeficiente de variación y el porcentaje de reducción de tasa de la media de hpg vs el M-1 se presentan en el Cuadro 2.

Cuadro 1

CINÉTICA DE ELIMINACIÓN DE HPG A *Fasciola hepatica* EN GANADO BOVINO TRATADO CON TRICLABENDAZOL EN ENERO  
(Grupo 1, testigo)

M	Valores con muestras positivas y negativas				Valores con muestras positivas			
	% de muestras positiva	Media de hpg ± e.e	Rango de mínima y máxima	Coeficiente de variación	% de reducción de tasa vs M-I	Media de hpcg ± e.e	Rango de mínima y máxima	Coeficiente de variación
								% de reducción de tasa vs M-I
M-1 ene.	100.0	13.2 ± 3.1 <sup>c*</sup>	2-72	113.9	0.0	13.2 ± 3.1	2-72	113.9 0.0
M-2 feb.	21.7	0.5 ± 0.2 <sup>a</sup>	0-5	225.2	96.2	2.6 ± 0.6	1-5	58.3 80.3
M-3 mar.	26.0	0.8 ± 0.3 <sup>a</sup>	0-4	177.8	93.9	3.3 ± 0.3	2-4	24.4 75.0
M-4 may.	47.8	0.4 ± 1.8 <sup>ab</sup>	0-39	217.8	96.9	8.5 ± 3.4	1-39	134.6 35.6
M-5 jun.	91.3	14.6 ± 3.8 <sup>cd</sup>	0-75	126.6	-10.6	16.0 ± 4.1	2-75	117.5 -21.4
M-6 ago.	78.2	8.1 ± 1.8 <sup>bc</sup>	0-36	111.0	38.6	10.4 ± 2.1	1-36	86.4 21.2
M-7 sep.	100	12.1 ± 2.0 <sup>c</sup>	2-40	79.9	8.3	12.1 ± 2.0	2-40	79.8 8.3
M-8 nov.	100	16.0 ± 2.6 <sup>de</sup>	6-58	79.1	-21.2	16.0 ± 2.6	6-58	79.1 -21.2
M-9 dic.	100	21.1 ± 3.0 <sup>e</sup>	8-77	69.5	-59.8	21.1 ± 3.0	8-77	69.5 -59.8
M-10 ene.	100	19.0 ± 2.9 <sup>e</sup>	7-68	69.9	-43.2	19.0 ± 2.9	7-68	69.9 -43.9

\* Letras distintas denotan diferencia estadísticamente significativa (P < 0.05)

M= Muestreos

Cuadro 2

CINÉTICA DE ELIMINACIÓN DE HPG A *Fasciola hepatica* EN GANADO BOVINO TRATADO CON TRICLABENDAZOL EN ENERO Y MAYO (Grupo 2)

M	Valores de muestras positivas y negativas				Valores de muestras positivas			
	% de muestras positiva	Media de hpg ± e.e	Rango de mínima y máxima	Coeficiente de variación	% de reducción de tasa vs M-I	Media de hpg ± e.e	Rango de mínima y máxima	Coeficiente de variación
								% de reducción de tasa vs M-I
M-1 ene.	100	15.0 ± 3.6 <sup>c</sup>	1- 4	115.4	0.0	15.0 ± 3.6	1-84	115.4 00.0
M-2 feb.	8.6	0.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	0-3	373.9	99.3	2.0 ± 1.0	1-3	70.7 86.6
M-3 mar.	17.3	0.5 ± 0.2 <sup>a</sup>	0-4	230.2	96.6	3.0 ± 0.4	2-4	27.2 80.0
M-4 may.	47.8	3.3 ± 1.5 <sup>a</sup>	0-35	225.5	78.0	6.9 ± 2.9	1-35	140.6 54.0
M-5 jun.	26.0	3.6 ± 2.8 <sup>ab</sup>	0-67	384.7	76.0	13.8 ± 10.6	3-67	188.3 8.0
M-6 ago.	69.5	6.3 ± 1.2 <sup>b</sup>	0-21	96.2	58.0	9.1 ± 1.3	2-21	57.6 39.3
M-7 sep.	82.6	8.9 ± 2.1 <sup>bc</sup>	0-48	113.8	40.6	10.7 ± 2.3	3-48	94.7 28.6
M-8 nov.	82.6	9.0 ± 2.0 <sup>c</sup>	0-44	106.4	40.0	10.9 ± 2.1	1-44	87.2 27.3
M-9 dic.	95.6	15.7 ± 3.0 <sup>c</sup>	0-68	93.7	-4.6	16.4 ± 3.1	2-68	89.2 -9.3
M-10 ene.	94.7	14.1 ± 2.1 <sup>c</sup>	0-34	65.9	6.0	14.8 ± 2.1	3-34	59.8 21.3

\* Letras distintas denotan diferencia estadísticamente significativa (P < 0.05)

M= Muestreos

Respecto al efecto extensión y efecto intensidad de los tratamientos administrados en enero, en el G-1 (testigo) el efecto extensión fue de 78.3% mientras que el efecto intensidad fue de 96.2%. No obstante, en el G-2 el efecto extensión fue de 91.4%, mientras que el efecto intensidad fue de 99.3%. Ahora bien, el efecto extensión del tratamiento administrado en mayo en el G-2 (problema) fue de 45.6% y el efecto intensidad de 0%.

El porcentaje de reducción de tasa vs testigo, de todos los muestreos, en el G-2, en comparación con el G-1 (testigo), considerando el porcentaje de muestras positivas, fue de 18.4, y en la media de hpg de 27.6.

La media de valores de anticuerpos anti-F. hepática en los dos grupos y en todos los muestreos fue positiva (Figura 1).

En el G-1 el coeficiente de correlación entre el promedio de hpg y los niveles de anticuerpos fue negativo en cinco muestreos (febrero, marzo, septiembre, noviembre y enero, M-10), los restantes fueron positivos; sin embargo, solamente junio tuvo 0.87; en el resto los valores fueron menores. En el G-2 dicho coeficiente fue negativo en tres muestreos (febrero, junio y agosto), el resto fue positivo, no obstante entre los positivos el mayor fue enero, M-1, con 0.42.

La media de ggt del G-1 fue más elevada que en el G-2, así como el porcentaje de muestras positivas (Figura 2).

En cuanto al coeficiente de correlación entre hpg, ggt, fue baja en el G-1; la máxima fue de 0.55 en mayo. En el G-2, el valor máximo del mencionado coeficiente fue de 0.47 en enero, M-10. En virtud de que los niveles de ast no rebasaron los valores normales, el coeficiente de correlación no se consideró.

## Discusión

En el diseño experimental los dos grupos fueron tratados en enero, debido a que ya se sabe que si no se

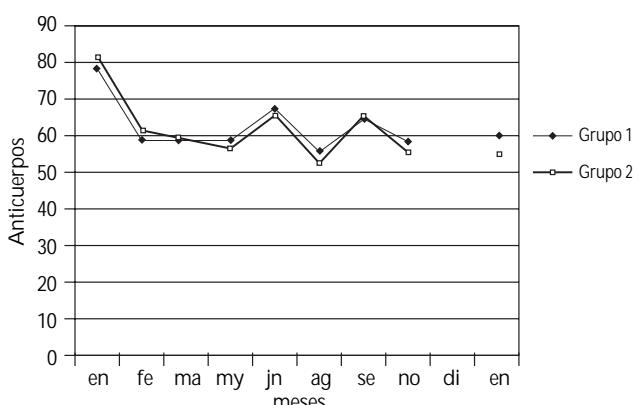


Figura 1. Niveles de anticuerpos anti-F. hepatica mediante ELISA en bovinos tratados con tbz.

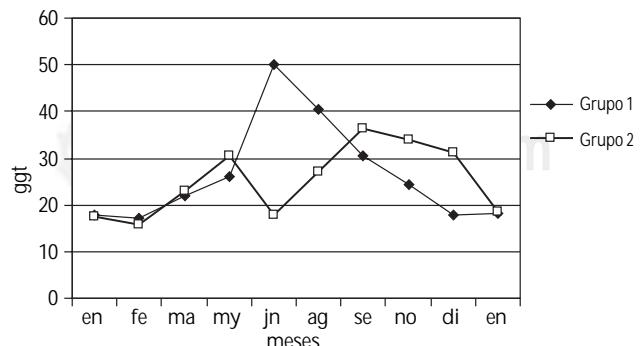


Figura 2. Niveles de ggt en bovinos tratados con tbz en enero y mayo.

desparasitan contra el trematodo, hay muertes, por lo que el G-1 fue el testigo o grupo de comparación, contra el G-2, con un tratamiento en mayo. Para saber en qué medida cambiarían los parámetros coprológicos, inmunológicos y enzimáticos, se consideró la variable independiente.

La reducción observada en la eliminación de huevos de F. hepática, a través del porcentaje de muestras positivas y de la media de hpg, en los dos grupos fue similar en enero, situación que concuerda con lo señalado por otros autores.<sup>16, 20, 28</sup> En los siguientes muestreos de febrero y marzo no hubo diferencia entre los grupos; sin embargo, en el muestreo de mayo sí, situación que se interpreta como variación biológica asociada a la receptividad del huésped y la cantidad de parásitos. El incremento en la eliminación de huevos en ambos grupos, en el segundo, tercero y cuarto muestreos sugiere reinfección y maduración de estadios inmaduros del trematodo; sin embargo, el incremento en el grupo testigo (G-1) en el quinto muestreo, en más de tres veces y en relación con el G-2, se interpreta como efecto del tratamiento de mayo. El G-1 (testigo) alcanzó, a partir del muestreo de septiembre, 100% de muestras positivas, la media de hpg en los muestreos de junio, noviembre, diciembre y enero superó a los valores iniciales, situación que sugiere que la reinfección fue mayor ese año, debido, en parte, a las condiciones climáticas y a la concentración de ganado en las partes bajas del rancho, con mayores posibilidades de infección.

En el porcentaje de reducción de tasa vs M-1, se aprecian cuatro valores negativos; es decir, no hubo reducción, sino incremento. No obstante, en el G-2 el porcentaje de muestras positivas, así como la media de hpg no alcanzaron los niveles iniciales, y solamente hubo un valor negativo en el porcentaje de reducción de tasa vs M-1, situación que pudo deberse al tratamiento administrado en mayo.

En el conjunto con valores de muestras únicamente positivas, éstos se hacen más evidentes como se aprecia en el Cuadro 1, en los muestreos 5, 8, 9 y 10, debido,

quizá, a la reinfección, susceptibilidad del huésped y ausencia de un segundo tratamiento.

En ocho muestreos, el G-2 (tratado en mayo) tuvo valores de hpg menores al G-1, testigo; sin embargo, solamente los muestreos 5, 8 y 9 fueron diferentes estadísticamente. Aunque los valores de los muestreos 6, 7 y 10 fueron menores en el G-2, la variación fue tan grande que la diferencia estadística no se manifestó.

El efecto extensión y el efecto intensidad, expresados en porcentaje, miden la eficacia del fasciolícida en la reducción del número de muestras positivas y la cantidad de hpg eliminados, respectivamente.<sup>20,28</sup> Sin embargo, la eliminación de huevos en el G-2 no se redujo como se esperaba después del tratamiento de mayo. Esta situación sugiere que en mayo, posiblemente la cantidad de estadios inmaduros tempranos del parásito era elevada, y el fasciolícida no los eliminó de manera significativa, como lo describen Boray et al.<sup>16</sup> También cabe la posibilidad de estar frente a una población con algún grado de resistencia, como lo señalan algunos autores en ganado ovino en Australia<sup>29,30</sup> y ganado bovino en Holanda.<sup>31</sup>

La disminución de eliminación de huevos del parásito en los dos grupos fue significativa en algunos muestreos y coincide parcialmente con lo señalado por Echevarría et al.<sup>32</sup> en Brasil, aunque ellos trataron con tbz al ganado vacuno en mayo y septiembre, posiblemente debido a diferencias de clima, mientras que los tratamientos en el presente estudio fueron en enero y mayo.

Al analizar el porcentaje de muestras positivas del G-1, se aprecia que tuvo un mayor número al compararlo con el G-2, situación que sugiere el efecto del segundo tratamiento; sin embargo, se considera que es necesario aplicar un mayor número de tratamientos en épocas adecuadas, como puede ser de junio a diciembre. Sin embargo, serán motivo de otros estudios complementarios, para llegar a tener los modelos adecuados.

El porcentaje de reducción de tasa contra el grupo testigo (G-1), cuando se consideraron todos los muestreos, permitió cuantificar y simplificar el beneficio obtenido, en la reducción de muestras positivas y la media de hpg en el G-2 con 2 tratamientos, interpretándose que el beneficio obtenido de 18.4% en el porcentaje de muestras y 27.6% en la media de hpg fue por el segundo tratamiento.

Al aplicar el segundo tratamiento en mayo al G-2, la reducción de muestras positivas, como de la media de hpg, no tuvieron un comportamiento similar al tratamiento de enero, debido al grado de infección por estadios inmaduros en el momento del tratamiento (mayo). La diferencia estadística solamente fue en los muestreos 5, 8 y 9; esta situación fundamenta la necesidad de realizar otros experimentos con tratamientos adicionales en los meses de junio a diciembre, aunado a mejores sistemas de manejo zootécnico.

Los niveles de anticuerpos anti-F. hepatica al inicio del experimento confirmaron la utilidad y ventaja como medio diagnóstico;<sup>3</sup> posteriormente, con ciertas fluctuaciones, se mantuvieron positivos, lo cual se interpretó como un estado de constante reinfección por ser zona endémica tropical, con transmisión todo el año.<sup>15</sup> Asimismo, dichos niveles de anticuerpos no guardaron una relación con el efecto de los tratamientos, ya que éstos no manifiestan de manera inmediata el acontecimiento quimioterapéutico.

El coeficiente de correlación entre hpg y niveles de anticuerpos fue bajo e irregular, debido, en parte, al efecto de los tratamientos fasciolíctidos, a la variación biológica de eliminación de huevos, interpretando ésta como la variación por diferente cantidad de parásitos, edad de los mismos, excreción de bilis, tipo de alimentación, etc., así como a la permanencia de los anticuerpos durante varios meses. Se interpreta que, bajo las condiciones de campo en que se trabajó, hay efectos confundidos entre los niveles de anticuerpos, la eliminación del parásito por el tratamiento, y las reinfecciones, aparentemente durante todo el año.

Los niveles de ggt en el G-1 fueron positivos todo el año; sin embargo, entre marzo y diciembre se observan los valores más altos, sugiriendo un incremento de las reinfecciones y su consecuente lesión hepática, situación que coincide con lo que señala Rangel<sup>15</sup> sobre la transmisión todo el año, pero con diferente grado de intensidad, que en este caso parece incrementarse de junio a diciembre. Dicha situación obedece a las condiciones del clima, la temperatura superior a 10°C,<sup>1</sup> durante todo el año permite el desarrollo de los moluscos transmisores, la lluvia, aunque varía, en los meses de menor precipitación (febrero marzo) la humedad se conserva en los agujes y partes bajas de los potreros, permitiendo el desarrollo de los caracoles. También se nota que los promedios de ggt fueron más bajos en el G-2 en junio y agosto, en comparación con el testigo, debido al efecto del tratamiento fasciolícida de mayo; sin embargo, se aprecia una gran variación de dichos niveles, que sugiere lesión en algunos individuos con mayor grado de susceptibilidad.

Los valores (medios) séricos de ast en ambos grupos no sobrepasaron el rango normal de acuerdo con Bulgin y Anderson;<sup>10</sup> sin embargo, en los muestreos de agosto y septiembre, se aprecia en el G-2, niveles individuales que indican que fueron positivos, interpretado como reinfección y lesión en esos individuos, aunque la media del grupo fue normal.

En conclusión, el G-2, que fue tratado en enero y mayo, tuvo un mejor comportamiento en la reducción de muestras positivas y media de hpg, respectivamente, en relación con el G-1 (testigo). El efecto extensión y el efecto intensidad del tratamiento con tbz aplicado en mayo fue menor, al aplicado en enero; sin embargo, los

niveles de anticuerpos se mantuvieron positivos durante el estudio y los valores medios de ast no rebasaron los niveles normales, no obstante, los valores más altos de ggt fueron detectados en el grupo testigo.

## Agradecimientos

Proyecto financiado parcialmente por la Dirección General de Apoyo al Personal Académico de la UNAM. PAPIIT IN-218996. Los autores agradecen a Novartis Salud Animal, S.A. de C.V., México, por la donación de Fasinex, así como a Orlando Irizón, propietario de la finca "Las Gaviotas" por las facilidades dadas para la realización del trabajo de campo.

## Referencias

- Boray JC. Flukes of domestic animals. In: Gaafar MS, editor. Parasites, pest and predators. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier, 1985:187-206.
- Boray JC. Fascioliasis. Handbook series in zoonoses. Vol III. Boca Raton (FL): CRC Press, 1982.
- Boulard C, Boury M, Argente G. Comparison of techniques ELISA and fecal examination to diagnose herd infected by *Fasciola hepatica*. Ann Rech Vet 1985;16:363-368.
- Santiago N, Hillyer G. Antibody profile by EITB and ELISA of cattle and sheep infected with *Fasciola hepatica*. J Parasitol 1988;74:810-818.
- Hillyer VG, Sanchez Z, Leon de D. Immunodiagnosis of bovine fascioliasis by enzyme-linked immunosorbent assay and immunoprecipitation methods. J Parasitol 1985;71:449-451.
- Sinclair IJ, Wassall DA. Sero-diagnosis of *Fasciola hepatica* infection in cattle. Vet Parasitol 1988;27:283-290.
- Rowlands DT, Clampitt RB. Plasma enzyme levels in ruminants infected with *Fasciola hepatica*. Vet Parasitol 1979;5:155-157.
- Sykes AR, Coop RL, Robinson MG. Chronic subclinical ovine fascioliasis: plasma glutamate deshydrogenase, gamma-glutamyl transpeptidase and aspartate amino transferase and their significance as diagnostic aid. Res Vet Sci 1980;28:71-75.
- Wensvoort P, Over HJ. Cellular proliferation of the bile ductules and gamma-glutamyl transpeptidase in livers and sera of young cattle following a single infection with *Fasciola hepatica*. Vet Q 1982;4:161-172.
- Bulgin BC, Anderson PH. Serum gamma-glutamyl transpeptidase activity in cattle with induced fascioliasis. Res Vet Sci 1984;37:166-169.
- Wyckoff JH, Bradley RE. Diagnosis of *Fasciola hepatica* infection in beef calves by plasma enzyme analysis. Am J Vet Res 1985;46:1 015-1 019.
- Khan A, Khan TM, Basra MA, Rabbani A, Chaudhry ZI. Effect of natural fascioliasis on total bilirubin and glutamic oxalacetic transaminase. Pakistan Vet J 1989;9:17-19.
- Faría SLS, Quiroz RH, Ibarra VF, Sánchez SMR, Salcedo ER. Tiempo de normalización de los niveles de gamma-glutamil transpeptidasa en ovinos con fasciolosis experimental tratados con triclabendazol. Vet Méx 1996;27:235-239.
- García E. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köeppen para adaptarlo a las condiciones de la República mexicana. México (DF): Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, 1988.
- Rangel RJL. Estudio poblacional de la fasciolasis en el estado de Tabasco (tesis de doctorado). México (DF): Facultad de Ciencias. UNAM, 1995.
- Boray JC, Jackson R, Strong MB. Chemoprophylaxis of fascioliasis with triclabendazole. NZ Vet J 1985;33:182-185.
- Happich FA, Boray JC. Quantitative diagnosis of chronic fascioliasis. Austr Vet J 1969;45:326-328.
- Greenberg RS, Daniels RF, Flanders DW, Eley JW, Boring RJ. Epidemiología médica. 2<sup>a</sup> ed. México (DF): Manual Moderno, 1998.
- Chroustova E, Willomizer J. Control of *Fasciola hepatica* in cattle by means of complex methods involving mollusquicide treatment of *Lymnaea truncatula* biotopes. Acta Vet Brno 1974;3:397-410.
- Eckert J, Schneiter G, Wolff K. Fasinex (triclabendazol)-ein neues Fasziolizid. Berl Münch Tierärztl Wschr 1984;97:349-356.
- 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 the evaluating the efficacy of anthelmintic in ruminants (bovine, ovine, caprine). Vet Parasitol 1995;58:181-213.
- Ibarra VF, Vera MY. Comparación del efecto extensivo de cinco fasciolicidas en bovinos en clima cálido. Vet Méx 1991;22:159-163.
- Daniel WW. Bioestadística, base para el análisis de las ciencias de la salud. México (DF): Limusa, 1984.
- Ronald PC, Jeff SK. Applied statistics and the SAS programming language. 3<sup>rd</sup> ed. New York: Elsevier Science Publishing, 1991.
- Montenegro CN. ELISA indirecta: estandarización como prueba diagnóstica de *Fasciola hepatica* en bovinos (tesis de licenciatura). Cuernavaca, Morelos: Facultad de Ciencias Biológicas. UAEM, 1997.
- Ibarra F, Montenegro N, Vera Y, Boulard C, Quiroz H, Flores J, Ochoa P. Comparison of three ELISA tests for seroepidemiology of bovine fasciolosis. Vet Parasitol 1998;77:229-236.
- Tietz NW. Fundamentals of clinical chemistry. 2<sup>nd</sup> ed. Toronto, Canada: W.B. Sanders Co., 1982.
- Rapic D, Dzakula N, Sadar D, Richards RJ. Comparative efficacy of triclabendazole, nitroxinil and rafoxanide against immature *Fasciola hepatica* in naturally infected cattle. Vet Rec 1988;22:59-62.
- Overed DJ, Bowen FL. Resistance of *Fasciola hepatica* to triclabendazole. Austr Vet J 1995;72:275-276.
- Boray JC. Drug resistance in *Fasciola hepatica*. Resistance of parasites to antiparasitic drugs. Round Table Conference, VII International Congress of Parasitology; 1990 August 19-24; Paris, France. Paris, France: World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, 1990:51-60.
- Lammert M, Gaasenbeek CPH, Vellema P, Borgsteede FHM. Resistance of *Fasciola hepatica* against triclabendazole in cattle and sheep in The Netherlands. Vet Parasitol 2000;91:153-158.
- Echevarria FAM, Correa MBC, Werhle RD, Correa IF. Experiments on anthelmintic control of *Fasciola hepatica* in Brazil. Vet Parasitol 1992;43:211-222.