

Eficacia comparativa de un fasciolicida experimental, triclabendazol y closantel en bovinos infectados en forma natural con *Fasciola hepatica*

Comparative efficacy of an experimental fasciolicide, triclabendazole and closantel in cattle naturally infected with *Fasciola hepatica*

Froylán Ibarra Velarde*
Natividad Montenegro Cristino*
Yolanda Vera Montenegro*
Rafael Castillo Bocanegra**
Alicia Hernández Campos**
Pedro Ochoa Galván***

Abstract

The aim of the present study was to determine the efficacy of 5-chloro-2-methylthio-6-(1-naphthyloxy)-*ih*-benzimidazole called compound "alfa", which was compared with two commercial fasciolicides through the percentage of *F. hepatica* egg-reduction in naturally infected cattle. Forty Holstein-Friesian adult cows, previously determined as positive to fluke eggs by the sedimentation test, were used. They were divided in 4 groups (G) of 10 animals each, and were treated with the corresponding dose on day zero. G1 was treated with compound alfa at 12 mg/kg/*per os*; G2 with triclabendazole at 12 mg/kg/*per os*; G3 with closantel at 3.5 mg/kg subcutaneously, and G4 remained as the non-treated control. All animals were sampled for feces to carry out coprological examinations on days -15, -8, 0, 7, 14, 21, 28, 60 and 90. Efficacy was assessed on the reduction of egg output on days 14 and 21 after the treatment with respect to the control group. Results showed an efficacy of 90.1% and 85.3% for compound alfa, 91.5% and 96.5% for triclabendazole and 82.1% and 92.1% for closantel. Additional parameters such as percentage of prevalence, mean number of *F. hepatica* eggs, standard deviation, extension and intensity effect were also measured. No statistical differences were found between treatments. It is concluded that all compounds tested considerably reduced the percentage of egg excretion, showing an acceptable fasciolicide efficacy.

Key words: *FASCIOLAHEPATICA*, CHEMOTHERAPY, FASCIOLICIDES, CATTLE.

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue determinar la eficacia del 5-cloro-2-metilthio-6-(1-naftiloxi)-*ih*-bencimidazol, denominado compuesto "alfa", y compararla con la de dos fasciolicidas comerciales a través del porcentaje de reducción de huevos de *F. hepatica* en bovinos infectados en forma natural. Se utilizaron 40 bovinos adultos de raza Holstein Friesian, previamente determinados como positivos a huevos de parásito mediante la técnica de sedimentación. Los animales se dividieron en cuatro grupos (G) de diez cada uno, y recibieron el correspondiente tratamiento el día cero. El G1 recibió el compuesto alfa a una dosis oral de 12 mg/kg. El G2, triclabendazol a una dosis oral de 12 mg/kg. El G3, closantel a razón de 5 mg/kg por vía subcutánea. El G4 fungió como testigo

Recibido el 12 de octubre de 2001 y aceptado el 12 de febrero de 2002.

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

** Departamento de Farmacia, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

*** Departamento de Estadística, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.
Correspondencia: ibarraf@servidor.unam.mx Tel. 5622-5899.

sin tratamiento. Los días -15, -8, 0, 7, 14, 21, 28, 60 y 90 postratamiento se tomaron muestras de heces. El parámetro de evaluación fue la comparación en la reducción de huevos del parásito los días 14 y 21 postratamiento, en los grupos tratados, con respecto al testigo sin tratamiento. Adicionalmente, se determinaron otros parámetros, como el porcentaje de muestras positivas, el promedio de huevos de *F. hepatica*, \pm desviación estándar, efecto de extensión y efecto de intensidad. Los resultados obtenidos indicaron una eficacia de 90% y 85% para el compuesto alfa, 91% y 95% para el triclabendazol, y 82% y 92% para closantel. No se demostraron diferencias estadísticas entre tratamientos. Se concluye que todos los compuestos utilizados redujeron considerablemente el porcentaje de huevos del parásito, lo que muestra una eficacia fasciolicida aceptable.

Palabras clave: *FASCIOLA HEPATICA*, QUIMIOTERAPIA, FASCIOLICIDAS, BOVINOS.

Introduction

Fasciolosis is one of the most important diseases in cattle and sheep worldwide.¹ This disease is caused by the action and presence of *Fasciola hepatica*, a trematode which is located in the bile ducts of the hosts.² Its importance lies in the tremendous losses it produces via several means.³⁻⁶ Therefore, the pharmaceutical industry has introduced a considerable number of fasciolicides which are imported and are of high cost.

Compound alfa or 5-cloro-2-metiltilio-6-(1-naftiloxi)-ih-bencimidazole is a bencimidazole derivative of Mexican synthesis (patent still pending), which has proven to be highly effective against different *F. hepatica* infections in sheep.⁷⁻¹¹ It is a white powder with a characteristic smell and has a molecular weight of 340.86 g/mol; its melting point is 171-179°C and it is insoluble in water but slightly soluble in organic solvents. It is rapidly metabolized to a sulphoxide and its elimination half-life ranges between 13.5 and 24.9 hours. In cattle the maximum level is reached at 18 h.¹²

On the other hand, Wood *et al.*¹³ have mentioned that to evaluate the efficacy of compounds in clinical trials under natural infection situations, the most recommended course of action is to evaluate egg and parasite reduction between days 14 and 21 post-treatment.

To date, there is no study concerning the fasciolicide activity of this compound in cattle. Thus, the aim of the present study was to determine the efficacy of compound alfa, through the percentage of egg reduction in cattle naturally infected with *Fasciola hepatica*, by comparing it with two commercial fasciolicides.

Material and methods

Location of the study

The study was carried out on the "El Colorado" ranch, located in the municipality of Tulancingo in the State of Hidalgo, Mexico.

Introducción

La fasciolosis es una de las más importantes enfermedades parasitarias del ganado vacuno y ovino en el mundo.¹ Esta enfermedad es ocasionada por la acción y presencia de *Fasciola hepatica*, parásito que se aloja en los conductos biliares de sus hospederos.² Su relevancia radica en cuantiosas pérdidas que se generan por diversos conceptos.³⁻⁶ Por tal razón, la industria farmacéutica ha introducido en México un considerable número de compuestos fasciolicidas, que son de importación y de alto costo.

El compuesto Alfa o 5-cloro-2-metiltilio-6-(1-naftiloxi)-ih-bencimidazol es un derivado bencimidazólico de síntesis mexicana (patente en trámite), el cual a través de varias evaluaciones quimioterapéuticas ha demostrado ser altamente eficaz para eliminar infecciones por *F. hepatica* en ovinos.⁷⁻¹¹ Es un polvo blanco con ligero olor característico, con un peso molecular de 340.86 g/mol y un punto de fusión de 171-179°C, insoluble en agua y ligeramente soluble en disolventes orgánicos. Se metaboliza rápidamente a sulfóxido, y su vida media de eliminación oscila entre las 13.5 y 24.9 horas. En bovinos los niveles máximos se alcanzan a las 18 h.¹²

Por otro lado, Wood *et al.*¹³ señalan que para evaluar eficacia de compuestos en pruebas clínicas con infección natural, se recomienda evaluar la reducción de huevos o parásitos entre los días 14 y 21 postratamiento.

Hasta la fecha no se cuenta con ningún estudio sobre la actividad fasciolicida de este compuesto en bovinos, por lo que el objetivo del presente estudio fue determinar la eficacia del compuesto alfa a través del porcentaje de reducción de huevos de *F. hepatica* en ganado infectado en forma natural, para compararla con la de dos fasciolicidas comerciales.

Material y métodos

Localización del estudio

El estudio se realizó en el rancho "El Colorado", ubicado en el municipio de Tulancingo, Hidalgo, México.

Animals

Forty adult Holstein-Friesian cows naturally infected with *F. hepatica* were used.

Methodology

The animals were previously determined to be positive to fluke eggs by the sedimentation test.¹⁴ The average number of *F. hepatica* eggs obtained on day considerably -15 were used to evenly distribute the animals into four groups (G), each with ten cows. On day zero, G1 was treated with compound alpha at 12 mg/kg *per os*; G2, with triclabendazole at 12 mg/kg *per os*; G3, with closantel at 3.5 mg/kg subcutaneously, G4 made up the non-treated control.

Coprological analysis

All animals were sampled for feces in order to perform coprological examinations on days -15, -8, 0, 7, 14, 21, 28, 60 and 90. Individual egg counting was carried out on 5 g of feces. The study concluded on day 90.

Efficacy evaluation

The criteria used to evaluate the efficacy of compound alpha in the treated groups, with respect to the non-treated control, were based on the percentage of positive samples obtained on days 14 and 21, using the formula described by Besvir *et al.*,¹⁵ in which:

$$\% \text{ Efficacy} = \frac{\text{Mean number of eggs of the non-treated group} - \text{mean number of eggs of the treated group}}{\text{mean number of eggs of the non-treated group}} \times 100$$

Likewise, the intensity effect or mean number of eggs per gram (epg), the standard error as well as the maximum and minimum quantity of eggs of the trematode were determined.

The information obtained was submitted to Friedman's non-parametric analysis for days 14 and 21, comparing efficacy percentage between groups. Kruskal-Wallis¹⁶ was used to compare the same samples between different groups.

When a statistical difference was observed, the Nemeng test¹⁷ was applied, using the difference between samples.

In addition, with the data obtained from all samples obtained after treatment, the fasciolicide effect was determined and the extension effect (per-

Animales

Se utilizaron 40 bovinos adultos de raza Holstein Friesian infectados con *F. hepatica* en forma natural.

Desarrollo del estudio

Los bovinos fueron previamente seleccionados como positivos a huevos del parásito utilizando la técnica coprológica de sedimentación.¹⁴ Con base en los promedios de huevos de *F. hepatica* obtenidos en el día -15, los animales fueron asignados proporcionalmente en cada grupo, tratando de obtener una distribución uniforme.

Seguidamente se conformaron cuatro grupos (G) de diez animales cada uno. El día cero, el G1 fue tratado con el compuesto alfa a dosis oral de 12 mg/kg. El G2 recibió triclabendazol a dosis oral de 12 mg/kg. El G3 recibió closantel por vía subcutánea a dosis de 3.5 mg/kg. El G4 fungió como testigo sin tratamiento.

Análisis coproparasitológico

Se colectaron muestras fecales de los bovinos los días -15, -8, 0, 7, 14, 21, 28, 60 y 90, para realizar de manera individual los conteos de huevos de *F. hepatica* en 5 g de heces. El estudio concluyó el día 90.

Evaluación de la eficacia

El criterio para valorar la eficacia del compuesto alfa en los grupos tratados con respecto al testigo sin tratamiento, se realizó con base en el porcentaje de muestras positivas obtenido en los días 14 y 21, utilizando la fórmula descrita por Besvir *et al.*,¹⁵ en donde:

$$\% \text{ Eficacia} = \frac{\text{Núm. promedio de huevos en el grupo testigo} - \text{Núm. promedio de huevos en el grupo tratado}}{\text{Núm. promedio de huevos en el grupo testigo}} \times 100$$

Asimismo, se determinó la intensidad o promedio de huevos (x de hpg), la desviación estándar, la máxima y mínima cantidad de huevos del trematodo.

La información obtenida se sometió a un análisis no paramétrico de Friedman, comparando el porcentaje de eficacia entre los días 14 y 21 de cada grupo. Asimismo, el porcentaje de reducción de huevos generado entre fármacos para los días señalados fue sometido a un análisis no paramétrico de Kruskal Wallis.¹⁶

Por otro lado, con los datos del conteo de huevos obtenidos en cada uno de los muestreos, se compararon los tratamientos utilizando la prueba de Kruskal Wallis y en aquellos muestreos en donde se encontraron diferencias se procedió a realizar una comparación múltiple, utilizando la prueba de Nemeng.¹⁷

centage reduction on the number of animals eliminating fasciola eggs in the group) was measured. In addition, the intensity effect (percentage reduction of the intensity of egg elimination in the group) was also determined.¹⁸ The analysis was carried out using the Statistical Analysis System package (SAS).¹⁹

Results

The percentage of efficacy exerted by the compounds and evaluated based on *F. hepatica* egg reduction on days 14 and 21 post treatment, was 90% and 85% for compound alpha; 91% and 96%, for triclabendazole and 82% and 92% for closantel, respectively.

The statistical analysis showed no differences between the efficacies exerted by the treatments; however, comparisons between treatments *versus* the number of eggs observed on day -15, were statistically different ($P < 0.05$) on day 14 and ($P < 0.01$) on day 21.

Figure 1 shows the percentage of efficacy on the basis of sequential coprologic examinations with respect to the percentage of positive samples post treatment for each of the compounds, throughout the study, as well as for the control group. A clear reduction on the number of eggs in feces from day seven was observed, lower values having been reached by day 21, then rising, with all groups being positive on samples from day 60.

Adicionalmente con los datos obtenidos en todos los muestreos postratamiento, se determinó por cada fasciolida el efecto extensión (porcentaje de reducción en el número de animales que eliminan huevos en el grupo) y el efecto de intensidad (porcentaje de reducción en la intensidad de eliminación de huevos en el grupo).¹⁸ El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el paquete SAS.¹⁹

Resultados

El porcentaje de eficacia ejercida por los compuestos y valorada con base en la reducción de huevos de *F. hepatica* en los días 14 y 21 postratamiento, fue de 90% y 85% para el compuesto alfa; 91% y 96% para triclabendazol y 82% y 92% para closantel, respectivamente.

El análisis estadístico no indicó diferencias significativas entre la eficacia conferida por los tratamientos. Sin embargo, las comparaciones entre tratamientos contra el número de huevos observados el día -15, fueron estadísticamente diferentes ($P < 0.05$) el día 14 y ($P < 0.01$) el día 21.

La Figura 1 muestra el porcentaje de eficacia con base en el seguimiento coprológico secuencial con respecto al porcentaje de muestras positivas de fasciolosis postratamiento para cada uno de los compuestos, a lo largo del estudio, así como del grupo testigo. Se observa una reducción clara en el número de huevos en heces a partir del día siete, llegando a valores más bajos el día 21 que empiezan a ascender para ser nuevamente positivos todos los grupos en el muestreo del día 60.

El análisis estadístico indicó que no había diferencia significativa entre grupos ($P > 0.05$).

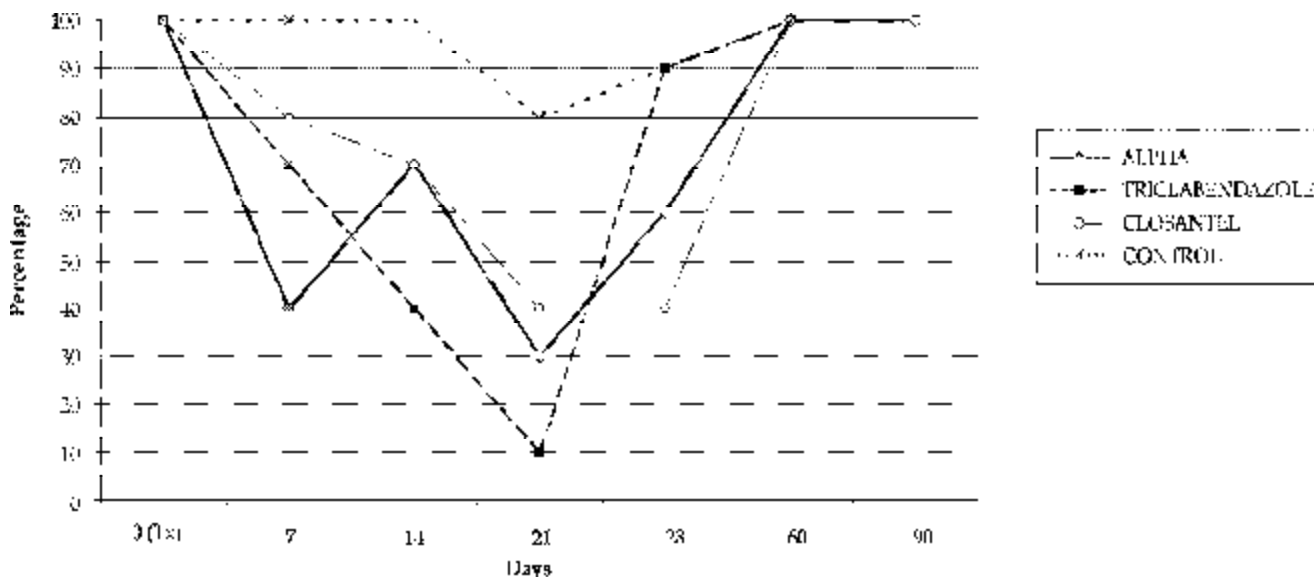


Figura 1. Prevalencia fasciolosis postratamiento con los compuestos alfa, triclabendazol y closantel, así como del grupo no tratado en bovinos infectados en forma natural.

Prevalence of fasciolosis post treatment with the compounds alpha, triclabendazole and closantel as well as the control group in naturally infected cattle.

Cuadro 1
 PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DE HUEVOS DE *Fasciola hepatica*
 EN BOVINOS HOLSTEIN FREISIAN INFECTADOS EN FORMA NATURAL
 PERCENTAGE OF EGG REDUCTION OF *Fasciola hepatica*
 IN NATURALLY INFECTED HOLSTEIN FREISIAN CATTLE

Compound	Days after treatment*	
	Day 14	Day 21
(n=10 cows/group)		
Alpha	90.1 ^a	85.3 ^a
Triclabendazole	91.5 ^a	96.5 ^a
Closantel	82.1 ^a	92.1 ^a
Control

^a Comparisons in the same row or column with the same superscript, are not significant different (P>0.05).

* Comparisons of treatments versus the number of eggs on day -15 were statistically different (P<0.05) for day 14 and (P<0.01) for day 21.

The statistical analysis showed no differences between groups (P > 0.05).

Table 2 shows the *F. hepatica* egg counts post treatment. It is generally observed that the egg average per group corresponding to each sampling decreases from days seven to 28. Elimination of eggs increases again by day 60, when cattle are all positive to the trematode eggs. The statistical analyses showed no differences between the average numbers of eggs in the treated groups (P < 0.05).

Extension effect

By day seven the calculations carried out for compound alpha, triclabendazole and closantel were 60%, 80% and 20%, respectively. On day 21, compound alpha reached 70% on the extensity effect with 40% and 60% for triclabendazole and closantel, respectively. This effect continued until day 28 in a relation of 40%, 10% and 60%, respectively, and by days 60 and 90, this parameter was impossible to calculate since all animals were positive to the trematode eggs (Table 3).

The statistical analysis indicated that no differences were observed on the extension effect when treatments were compared between groups (P < 0.05). The data obtained showed great similarity for each of the days analyzed, and therefore the statistical analysis did not register differences on the intensity effect of the fasciolicides.

Discussion

Bovine fasciolosis in Mexico is considerably more important than ovine fasciolosis;²⁰ this is the reason

El Cuadro 2 muestra los conteos de huevos de *F. hepatica* postratamiento. De manera general, se observa que el promedio de huevos por grupo correspondiente a cada fecha de muestreo, decrece en los días siete a 28. Para el día 60, la eliminación de huevos aumenta nuevamente y aparecen todos los bovinos positivos a huevos del trematodo. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre los promedios de huevos en los grupos tratados (P < 0.05).

Efecto de extensión

Para el día siete los cálculos efectuados para los compuestos alfa, triclabendazol y closantel fueron de 60%, 80% y 20%, respectivamente. Ya en el día 21, el alfa toma ventaja con 70% de efecto de extensión y 40% y 60% para triclabendazol y closantel, respectivamente. Este efecto continúa para el día 28 en una relación de 40%, 10% y 60%, respectivamente, y para los días 60 y 90, este parámetro ya no fue posible calcularlo, en virtud de que todos los animales estaban positivos a huevos del trematodo (Cuadro 3).

El análisis estadístico indicó que no hubo diferencias en el efecto de extensión al comparar tratamientos entre grupos (P < 0.05). Los datos obtenidos mostraron gran similitud para cada uno de los días de muestreo analizados, por lo que el análisis estadístico no registró diferencias en el efecto de intensidad de los fármacos.

Discusión

La fasciolosis bovina en México rebasa considerablemente en importancia a la ovina,²⁰ razón por la cual se decidió comparar inicialmente la eficacia del compuesto alfa con dos de los fasciolicidas comerciales más



Cuadro 2

CONTEOS DE HUEVOS DE *F. hepatica* POSTRATAMIENTO CON LOS COMPUESTOS ALFA, TRICLABENDAZOL Y CLOSANTEL EN BOVINOS INFECTADOS EN FORMA NATURAL
 EGGS COUNTS OF *F. hepatica* POST TREATMENT WITH THE COMPOUNDS ALFA, TRICLABENDAZOLE AND CLOSANTEL IN NATURALLY INFECTED CATTLE

Days	Alpha*		Triclabendazole*		Closantel*		Control	
	Min - Max	x ± E.D.**	Min - Max	x ± E.D.**	Min-Max	x ± D.E.**	Min - Max	x ± D.E.**
-15	10 - 85	32.3 ± 22.8 ^a	8 - 66	27.1 ± 17.5 ^a	6 - 60	24.6 ± 16.2 ^a	8 - 73	29.6 ± 19.8 ^a
-8	10 - 33	14.3 ± 6.9 ^a	14 - 34	14.5 ± 7.0 ^a	9 - 22	13.8 ± 3.9 ^a	3 - 29	17.7 ± 8.6 ^a
0 (Tx***)	8 - 27	14.3 ± 5.2 ^a	1 - 32	14.5 ± 10.6 ^a	3 - 10	10.3 ± 4.3 ^a	7 - 34	17.8 ± 8.6 ^a
7	1 - 12	6.2 ± 3.6 ^{ab}	1 - 10	3.7 ± 3.7 ^a	1 - 8	2.1 ± 4.3 ^a	2 - 22	11.2 ± 7.3 ^b
14	1 - 4	2.1 ± 1.7 ^a	1 - 5	1.8 ± 1.8 ^a	1 - 9	3.8 ± 3.8 ^a	4 - 48	21.2 ± 11.4 ^b
21	1 - 17	1.9 ± 5.3 ^a	1 - 1	0.4 ± 0.5 ^{ab}	1 - 5	0.9 ± 1.5 ^{ab}	2 - 49	11.6 ± 16.3 ^b
28	2 - 5	1.5 ± 2.1 ^a	3 - 3	0.3 ± 0.9 ^a	1 - 6	1.7 ± 2.5 ^a	1 - 52	13.2 ± 14.9 ^b
60	1 - 12	5.1 ± 3.7 ^a	1 - 8	3.7 ± 2.8 ^{ab}	4 - 11	6.4 ± 3.1 ^a	7 - 34	13.3 ± 8.3 ^b
90	3 - 13	7.2 ± 3.4 ^{ab}	1 - 14	6.4 ± 3.7 ^a	1 - 9	5.5 ± 2.6 ^a	5 - 43	15.4 ± 10.4 ^b

* Average of eggs with same script in the same row are not statistically different (P < 0.05).

** Standard deviation

*** Treatment

Cuadro 3

EFFECTO DE EXTENSIÓN E INTENSIDAD GENERADO POR LOS FASCIOLICIDAS EN BOVINOS HOLSTEIN FREISIAN INFECTADOS EN FORMA NATURAL
 EXTENSION AND INTENSITY EFFECT EXERTED BY THE FASCIOLICIDES IN NATURALLY INFECTED HOLSTEIN FREISIAN CATTLE

Days	Alpha ⁺		Triclabendazole ⁺		Closantel ⁺	
	E.E.*	I.E.**	E.E.	I.E.	E.E.	I.E.
0 (Tx)	%	%	%	%	%	%
7	60	80	80	86	20	91
14	30	93	70	93	30	84
21	70	94	40	98	60	96
28	40	95	10	98	60	93
60	0	84	0	86	0	73
90	0	77	0	73	0	77

* Extensity effect.

** Intensity effect



why it was decided to initially compare the efficacy of compound alpha with two of the most used commercial fasciolicides used in cattle worldwide which were originally used on sheep, by analyzing the percentage of egg reduction of the parasite.

Powers *et al.*²¹ have shown that these clinical field tests on percentages of egg reduction afford very valuable information even when it is not known whether all fasciolas are eliminated or not. As a matter of fact, these authors also mention that the most suitable time to evaluate the efficacy of a compound is at 14 or 21 days after treatment which is why greater relevance was given to these data.

The collected data show that none of the fasciolicides used were capable of eliminating all present trematodes in the animals, as was demonstrated by the presence of fasciola eggs on days 14 and 21, respectively.

Ibarra *et al.*²² and Ibarra and Vera²³ have pointed out that in naturally infected bovines located in a temperate climate (Tulancingo, Hidalgo, Mexico) and others located in a warm humid climate (Nautla, Veracruz, Mexico), treated with triclabendazole at oral doses of 12 mg/kg, did not eliminate all fasciolas present since 30% of cattle harbored parasite eggs three weeks after the treatment. These observations are in accord with Quiroz,²⁴ who indicates that after a 12 mg/kg of triclabendazole dose, 25% of animals were found to be positive.

Echevarría *et al.*²⁵ have mentioned that there is reduction of egg excretion even without treatment, as can be observed in the control group in samples from days 21 and 28. This can also be explained since, in cattle, the egg production of *F. hepatica* decreases once the parasites reach six months of age.²³

On the other hand, Shing-Sung *et al.*²⁶ treated 41 cows with closantel at an oral dose of 5 mg/kg. Their results indicate that after the third week post treatment, there were trematode eggs, indicating that some immature fasciolas survived and reached maturity, and then began to eliminate eggs.

In another study, Romaniuk *et al.*²⁷ administered closantel at a dose of 5 mg/kg/sc on 2 335 young cattle from eight ranches. The authors randomized 560 fecal samples, which were analyzed to determine the presence of eggs of the trematode; 97.5% efficacy was obtained. This information was analyzed with the data of Shing-Sung *et al.*²⁶ and some differences of the efficacy were observed which might indicate a lack of consistence in maintaining the fasciolicide activity with this compound at the recommended dose. In the present study, the performance of closantel was better than the one mentioned by Shing-Sung *et al.*²⁶

utilizados en vacunos en el mundo, originalmente usados para ganado ovino, analizando el porcentaje de reducción de huevos del parásito.

Powers *et al.*²¹ señalan que estas pruebas clínicas de campo sobre porcentajes de reducción de huevos del parásito aportan información muy valiosa, aún cuando se desconoce si todas las fasciolas fueron eliminadas. De hecho, estos autores también mencionan que el tiempo más adecuado para evaluar la eficacia de un compuesto es a los 14 o 21 días postratamiento, razón por la cual se dio mayor relevancia a la información sobre eficacia obtenida en estos días.

Los datos colectados mostraron que ninguno de los fasciolicias utilizados fueron capaces de eliminar a los trematodos presentes en los animales, según se demostró por la presencia de huevos los días 14 y 21, respectivamente.

Ibarra *et al.*²² e Ibarra y Vera²³ señalan que en bovinos fasciolosos con infección natural localizados en clima templado (Tulancingo, Hidalgo, México) y otros en clima cálido-húmedo (Nautla, Veracruz, México), tratados con triclabendazol a dosis oral de 12 mg/kg, no se eliminaron todas las fasciolas en virtud de que 30% del ganado presentaban huevos del parásito a las tres semanas postratamiento. Estas observaciones también concuerdan con Quiroz,²⁴ quien indica que después de aplicar una dosis de 12 mg/kg de triclabendazol, se encontró 25% de animales positivos.

Echevarría *et al.*²⁵ mencionan que hay reducción en la excreción de huevos aun sin tratamiento, como se puede observar en el grupo testigo en los muestreos de los días 21 y 28. Esto también es explicable porque en bovinos la producción de huevos de *Fasciola* declina después de que los parásitos han alcanzado los seis meses de edad.²³

Por otro lado, Shing-Sung *et al.*²⁶ trataron 41 vacas fasciolosas con closantel a una dosis oral de 5 mg/kg. Sus resultados indicaron que desde la tercera semana postratamiento, aparecieron huevos del trematodo, lo que refleja que algunas fasciolas inmaduras sobrevivieron hasta alcanzar madurez y comenzaron a eliminar huevos.

En otro estudio, Romaniuk *et al.*²⁷ señalan las bondades de closantel al administrarlo a dosis de 5 mg/kg/sc en 2 335 bovinos jóvenes con fasciolosis provenientes de ocho ranchos. Los autores señalan que al analizar muestras fecales de 560 reses tomadas al azar, para determinar la presencia de huevos del trematodo, se obtuvo una eficacia de 97.5%. Al comparar esta información con los datos de Shing-Sung *et al.*²⁶ y con la del presente estudio, se observan nuevamente diferencias de eficacia que pueden indicar una falta de constancia para mantener actividad fasciolicida con este fármaco a la dosis recomendada. En el presente estudio, el comportamiento de closantel fue mejor al citado por estos autores.

Con relación a los efectos de extensión e intensidad, se observó que sus valores fueron disminuyendo en los muestreos más cercanos al día del tratamiento y poste-

With regard to the extension and intensity effects, it was observed that their values began to decrease in the samplings closer to the day of treatment, but afterwards increased proportionally, thus indicating that possibly some juvenile fasciolas which were not eliminated by the treatment reached the adult stage and therefore were eliminating fluke eggs by days 60 and 90. However, these values never reached the egg number observed on day -15, when the study began. It is also worth mentioning that since this experiment began at the end of autumn the number of metacercariae available to reinfect the cattle was possibly lower and therefore, in the last fecal analysis the number of eggs observed was not similar to the number observed at the beginning of the experiment.

Prichard²⁸ mentioned that in the 80's, the choice for fasciolicides were triclabendazole, closantel and clorsulon, which represented a good potential for the control of parasites. However, since 1983, when triclabendazole was launched, no new fasciolicide has been produced, a situation that has motivated us to develop a drug with these characteristics. The results of this experiment show high efficacy exerted by compound alpha thus suggesting that it can be a good choice when integrated in a control program to reduce the effects caused by fasciolosis in cattle.

This is the first field evaluation on the efficacy of compound alpha which is still in a progress of experimental evaluation. To date, compound alpha shows similar efficacy to that exerted by the best commercial fasciolicides and in the near future it is expected that more controlled field evaluations will be available to determine the real potential of this compound. It is concluded that the efficacy exerted by the three fasciolicides tested, measured by the percentage of egg reduction of the trematode, can be considered as good, although the fasciolicide activity exerted by the drugs never reached 100% reduction in any of the samplings.

Acknowledgements

We thank Dr. Fernando Fosado from "El Colorado" for all given facilities. Study supported by PAPIIT-IN227998, UNAM and Conacyt- 34942-B.

Referencias

1. Nari A, Fiel A. Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos. Montevideo, Uruguay: Hemisferio Sur, 1995.
2. Soulsby E.J.L. Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. 7ª ed. México (DF): Nueva Editorial Interamericana, 1987.

riormente aumentaron proporcionalmente, indicando que posiblemente algunas fasciolas juveniles que no fueron eliminadas por el tratamiento, alcanzaron el estado adulto y por ende para los días 60 y 90 todos los animales estaban positivos a huevos del trematodo, sin que estos valores alcanzaran los números de huevos del día -15 con que inició el estudio. También es pertinente aclarar que este experimento se inició al final del otoño y posiblemente el número de metacercarias disponibles para reinfectar los bovinos en estudio era menor y, por tanto, en los últimos muestreos fecales no se observan valores de huevos similares en número como al inicio del experimento.

Prichard²⁸ menciona que desde los años ochenta del siglo XX, los fasciolicidas de elección son triclabendazol, closantel y clorsulon, los cuales representan un potencial para el control de parásitos. Sin embargo, desde 1983, cuando se lanzó al mercado el triclabendazol, no se ha producido ningún nuevo fasciolicida, razón que motiva a desarrollar un fármaco de estas características. Los resultados de este experimento mostraron una alta eficacia generada por el compuesto alfa, lo que sugiere que puede ser una buena opción para integrarlo en un programa de control indicado para reducir los efectos de fasciolosis en bovinos.

Es importante aclarar que ésta es la primera evaluación de campo realizada sobre la eficacia del compuesto alfa, el cual continúa en proceso de evaluación experimental. Hasta el momento, el compuesto muestra una eficacia similar a la ejercida por los mejores fasciolicidas comerciales y se espera que, en un futuro cercano, se pueda contar con más evaluaciones de campo y pruebas controladas, para determinar el potencial real de este compuesto. Se concluye que la eficacia generada por los tres fasciolicidas, medida mediante el porcentaje de reducción de huevos del trematodo, puede considerarse como buena, aun cuando la actividad fasciolicida ejercida por los fármacos no alcanzó en ningún muestreo 100% de reducción.

Agradecimientos

Se agradece a Fernando Fosado que facilitara su rancho para realizar el presente estudio. Estudio financiado por el proyecto PAPIIT-IN227998, UNAM y Proyecto Conacyt número 34942-B.

3. Urquhart GM, Armour J, Duncan J.J.L, Dunn AM, Jennings FW. Veterinary parasitology. 5ª ed. London (UK): Longman Scientific & Technical, 1992.
4. Castellanos HA, Escutia SJ, Quiroz RH. Frecuencia de fasciolosis hepática en bovinos sacrificados en Plantas Tipo Inspección Federal en México de los años 1979-1987. Vet Méx 1992;23:339-342.

5. Quiroz RH, Ibarra VF, Vera MY. Eficacia del triclabendazol contra formas inmaduras de *Fasciola hepatica* y la ganancia de peso en bovinos. *Vet Méx* 1988;19:29-33.
6. Ogunrinade A, Bola IO. Economic importance of bovine fascioliasis in Nigeria. *Trop Ann Hlth Prod* 1980;12:155-160.
7. Ibarra VF, Vera MY, Hernández CA, Castillo BR. Síntesis de un compuesto fasciolicida experimental y su evaluación *in vitro* e *in vivo* en conejos. *Téc Pecu Méx* 1995;33:17-24.
8. Ibarra F, Vera Y, Hernández CA, Castillo BR. Eficacia de un compuesto experimental contra *Fasciola hepatica* juvenil y adulta en ganado ovino. *Vet Méx* 1996;27:119-122.
9. 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;28:291-296.
10. 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.
11. Ibarra VF, Montenegro N, Flores CJ, Hernández CA, Castillo BR. Evaluación de cuatro vehículos para formular un fasciolicida experimental. *Vet Méx* 2000;31:47-51.
12. Vertiz SG. Evaluación farmacocinética de alfa-bioF10 en ganado bovino (tesis de maestría). México (DF) México: Facultad de Química. UNAM, 2000.
13. Wood IB, Amaral NK, Bairden K, Duncan JL, Kassai J, Malone JB, *et al.* World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine and caprine). *Vet Parasitol* 1995;58:181-213.
14. Anónimo. Manual of veterinary parasitological laboratory techniques. Technical bulletin No. 18. London (UK): Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 1987.
15. Besvir J, Rapic D, Dzakula N, Blagovic S, Pompe-Gotal J. Fasinex (triclabendazole)-New fasciolicide. *Prax Vet* 1986;34:239-242.
16. Margolis L, Esch GW, Holmes JC, Kuris AM, Schad GA. The use of ecological terms in parasitology (report of an *ad hoc* committee of the American Society of Parasitologists). *J Parasitol* 1982;32:131-133.
17. Nemeng P. Biostatistical analysis. 3rd ed. London (UK): Prentice Hall, 1996.
18. Eckert J, Schneider G, Wolf K. Fasinex (Triclabendazole)-ein neues Faszicid. *Berl Münch Tierärztl Wschr* 1984;91:249-356.
19. SAS Institute Inc. SAS/STAT user's guide. 4th ed. Cary (NC): SAS Institute Inc., 1990.
20. SAGARPA. Sistema integral de información agroalimentaria y pesquera (S.I.A.P.). México (DF): Secretaría de Agricultura, Ganadería y Recursos Pesqueros, 2002.
21. Powers KG, Wood IB, Eckert J, Gibson T, Smith HJ. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine and ovine). *Vet Parasitol* 1982;10:265-284.
22. Ibarra VF, Quiroz RH, Vera MY, Tello RM. Determinación de la extensión del efecto del triclabendazol, rafoxanide, nitroxinil y meniclofolan en bovinos infectados en forma natural con *Fasciola hepatica*. *Téc Pecu Méx* 1987;25:404-407.
23. Ibarra VF, Vera MY. Comparación del efecto extensivo de cinco fasciolicidas en bovinos en clima cálido. *Vet Méx* 1991;22:159-163.
24. Quiroz RH. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. 7^a ed. México (DF): Limusa, 1997.
25. Echevarría FAM, Correa MBC, Wherle RD, Correa IF. Experiments on anthelmintic control of *Fasciola hepatica* in Brazil. *Vet Parasitol* 1992;43:211-222.
26. Shin-Sung S, Lee-Chung G, Cho-Shinn H, Kim-Jong T, Wee-Sung H, Shin S, *et al.* Efficacy of closantel for the treatment of naturally-acquired and experimentally induced *Fasciola hepatica* infections in cattle. *Korean J Vet Res* 1995;35:347-352.
27. Romaniuk K, Lipinsky Z, Bab M. Flukiver (Closantel) effective anthelmintics for treatment of fascioliasis and gastrointestinal parasitosis in sheep and cattle. *Mag Wet* 1995;4:444-447.
28. Prichard RK. The pharmacology of anthelmintics in livestock. *Int. J. Parasit* 1987;17:473.