

Prevalencia y control de *Cotylophoron* spp.: Una parasitosis emergente entre rebaños bovinos lecheros establecidos en zonas rurales de los Andes tropicales, Mérida, Venezuela.

Prevalence and control of *Cotylophoron* spp.: An emerging parasitic infection among dairy cattle herds established in rural areas of the tropical Andes, Merida, Venezuela

Anacelmira Urbina-Andueza¹ , Juan Pablo Uzcátegui-Varela^{1,2*} , Janeth Caamaño-Carrero¹ , Osmary Araque¹ , Adriana Morgado-Osorio³ , Hector Nava-Trujillo⁴ 

¹Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

²Grupo de Investigación en Ciencia Animal y Plantas Tropicales. Universidad Nacional Experimental Sur del Lago "Jesús María Semprum" (UNESUR) Núcleo La Victoria, Mérida, Venezuela.

³Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracay, Venezuela.

⁴University of Missouri. Division of Animal Science. Columbia. EUA.

*Autor por correspondencia: uzcateguij@unesur.edu.ve

RESUMEN

Con el propósito de determinar la prevalencia y el efecto control de dos antihelmínticos sobre *Cotylophoron* spp. en rebaños bovinos de Mérida-Venezuela, se visitaron cuatro granjas lecheras donde fueron seleccionadas al azar por cada una, 30 vacas de 449,54 ± 59,20 kg promedio y condición corporal media de 2,98 ± 0,62, todas, naturalmente infectadas con *Cotylophoron* spp. Para el diagnóstico parasitológico, se tomaron muestras fecales directamente del recto y depositadas en bolsas plásticas rotuladas para ser conservadas a 4°C hasta su llegada al laboratorio; seguidamente, se organizaron aleatoriamente tres grupos conformados por 10 animales cada uno, al primero, le fue administrado vía subcutánea 3 mg de rafoxanida/kg de peso vivo; el siguiente, recibió vía oral la mezcla antihelmíntica 15 mg de oxiclozanida/kg + 7,5 mg de levamisol/kg y, el grupo control, permaneció sin medicación. Para monitorear la efectividad de los fármacos, se realizaron análisis coprológicos mediante la prueba modificada sedimentación y tamizado los días 0, 15, 30, 60 y 90 post-tratamiento, así como el registro de peso corporal. La prevalencia de *Cotylophoron* spp. se ubicó en 97,29 ± 2,19% promediándose 140,5 ± 83,21 huevos en el total de heces evaluadas; entre tanto, los animales desparasitados con oxiclozanida + levamisol mostraron una reducción significativa ($P \leq 0,05$) del 92,23 ± 4,70% sobre la carga parasitaria al día 15 del tratamiento, mientras los tratados con rafoxanida redujeron en 43,88 ± 18,80% los huevos presentes en las heces; asimismo, hubo un incremento de peso ($P \leq 0,05$) en las vacas que recibieron oxiclozanida + levamisol, un valor muy distante al obtenido entre los animales tratados con rafoxanida y el control, siendo estos estadísticamente similares ($P \geq 0,05$). Se concluye que *Cotylophoron* spp. es resistente al uso de rafoxanida, mientras la mezcla oxiclozanida + levamisol ejerció eficacia reducida para su control.

Palabras clave: Antihelmíntico; coprología; desparasitación; eficacia; oxiclozanida

ABSTRACT

In order to determine the prevalence and the controlled effect of two anthelmintics on *Cotylophoron* spp. in bovine herds in Mérida, Venezuela, four dairy farms were visited where 30 cows, with an average weight of 449.54 ± 59.20 kg and a mean body condition score of 2.98 ± 0.62, were randomly selected from each farm, all of which were naturally infected with *Cotylophoron* spp. For the parasitological diagnosis, fecal samples were taken directly from the rectum and placed in labeled plastic bags to be stored at 4°C until they arrived at the laboratory; subsequently, three groups were randomly organized, each consisting of 10 animals. The first group was administered 3 mg of rafoxanide/kg of body weight subcutaneously; the second group received an oral mixture of 15 mg of oxiclozanide/kg + 7.5 mg of levamisole/kg, and the control group remained untreated. To monitor the effectiveness of the drugs, coprological analyses were conducted using the modified sedimentation and sieving test on days 0, 15, 30, 60, and 90 post-treatment, along with the recording of body weight. The prevalence of *Cotylophoron* spp. was found to be 97.29 ± 2.19%, averaging 140.5 ± 83.21 eggs in the total feces evaluated; meanwhile, the animals dewormed with oxiclozanide + levamisole showed a significant reduction ($P \leq 0.05$) of 92.23 ± 4.70% in parasitic load by d 15 of treatment, while those treated with rafoxanide reduced the eggs present in the feces by 43.88 ± 18.80%; additionally, there was a weight gain ($P \leq 0.05$) in the cows that received oxiclozanide + levamisole, a value significantly different from that obtained in animals treated with rafoxanide and the control, which were statistically similar ($P \geq 0.05$). It is concluded that *Cotylophoron* spp. is resistant to the use of rafoxanide, while the combination of oxiclozanide and levamisole showed reduced efficacy for its control.

Key words: Anthelmintic; coprologic; deworming; efficacy; oxiclozanide

INTRODUCCIÓN

En el trópico americano, las enfermedades parasitarias se consideran un tema crítico en materia de salud animal para la gestión de sistemas ganaderos sostenibles, puesto que comprometen significativamente el bienestar animal e incrementan los costos de producción. Las parasitosis poseen una compleja etiología, la cual, está determinada por factores propios de la interacción parásito-huésped-ambiente que agrupa diferentes agentes propios del agroecosistema como garrapatas, moscas, piojos, helmintos y protozoos, cuyo tamaño, forma, rutas de infección y etapas de vida pueden persistir dentro de sus huéspedes según la especie, sin ningún beneficio para el animal, es decir, el parásito en forma temporal o permanente se nutre a expensas de otro organismo, imponiendo altos costos energéticos mientras obtiene los nutrientes que exige, ocasionando daño estructural o funcional que deriva en una patología para el huésped [1].

La recurrente presencia de signos clínicos compatibles con parasitosis gastrointestinal en rumiantes, representa una de las principales causas de pérdidas económicas para los planteles lecheros a nivel mundial, esto, debido a que afecta negativamente la conversión alimenticia, un lento crecimiento de las crías, limitada productividad y reducción significativa en la respuesta inmune. Las infecciones por helmintos son ubicuas, se transmiten regularmente vía oral mediante la ingestión de trazas fecales presentes en el agua, suelo o alimentos, siendo los bovinos a pastoreo la especie más susceptible a contraer patologías parasitarias debido a la dinámica constante de reinfección en las pasturas [2, 3].

Las pérdidas económicas por diagnóstico de parasitosis gastrointestinal, en su mayoría, no son atribuidas a la mortalidad, sino a un curso crónico de anemia, diarrea, crecimiento deficiente y baja tasa reproductiva; sin embargo, infecciones por helmintos comunes en el ganado bovino cada día resultan más difíciles de controlar, principalmente la trematodosis, responsable no solo de condicionar los indicadores de eficiencia biológica en los rebaños, sino que algunas resultan zoonóticas, generando preocupaciones de salud pública e impactando negativamente al sector ganadero; al respecto, en América Latina y el Caribe, hay un déficit de estudios sobre la diversidad de duelas ruminales y las enfermedades que causan, al respecto, prevenir y tratar estas cargas parasitarias es un paso importante para incrementar la capacidad de los productores para criar ganado bovino sano, mantener buena rentabilidad y satisfacer la demanda proteica [4].

Los parafistomas, un grupo de trematodos gastrointestinales que infectan a todo el ganado rumiante, incluidos vacunos, bufalinos, ovinos, caprinos y cérvidos, parece no despertar atención en los planes de control sanitario que se disponen en gran parte de los sistemas ganaderos del trópico, donde su prevalencia y morbilidad es muy relevante, esto, debido a que las condiciones climáticas resultan ideales para que en el hospedador intermediario (caracoles acuáticos) el parásito crezca y complete su ciclo de vida; por otra parte, durante la fase juvenil (1-2 mm de longitud), permanece enquistado a nivel del intestino delgado (duodeno) de su huésped final, lesionando el revestimiento intestinal donde se fija para alimentarse causando Parafistomosis larval [5]. La familia Paramphistomidae contiene

la mayoría de especies conocidas de trematodos que afectan a los rumiantes domésticos y salvajes, en especial los géneros *Paramphistomum* spp. y *Cotylophoron* spp., ambos tienen una amplia distribución geográfica a nivel mundial y mayor prevalencia que las especies de otros géneros; al respecto, expertos comentan que *Cotylophoron* spp. (Fischöeder, 1901) ha desarrollado mecanismos fisiológicos y bioquímicos que le permite sobrevivir dentro del entorno especializado del huésped, causa gastroenteritis parasitaria con un cuadro clínico que sólo se manifiesta cuando la carga de sus formas inmaduras es muy alta, resultando en un síndrome de mala digestión que en casos extremos produce anorexia y muerte [6].

Sivaraman y col. [7] documentan en un caso clínico que, aunque trematodos adultos como *Cotylophoron* spp. dispuestos en el rumen de los animales aparentemente sanos causan poco daño, la tasa de mortalidad debido a parafistomas inmaduros es considerable, alcanzando una tasa del 80% aproximadamente. Los adultos de *Cotylophoron* spp. se encuentran principalmente en el rumen y retículo, poseen cuerpo alargado, cónico, oval y aplanado, son de color rosa o rojo oscuro, miden de 5-8 por 2,5-3,5 milímetros (mm), no hematófagos que se alimentan exclusivamente del contenido ruminal [8]. El ciclo de vida es complejo, muy similar al de *Fasciola hepatica*, pues precisa de un pequeño molusco como hospedador intermediario. Los huevos operculados de *Cotylophoron* spp. se eliminan con la materia fecal y, dependiendo de la temperatura, eclosionan a los 12 o 21 días (d), dando origen a miracidios ciliados móviles que invaden caracoles acuáticos del género *Fossaria* sp., *Planorbis* sp. y *Bulinus* sp., estos miracidios se multiplican asexualmente a los 11 d en el hospedador intermedio para convertirse en cercarias, las cuales, después de una maduración adicional de 23 d aproximadamente en el interior del caracol, se desprenden continuamente durante un año, fijándose en las pasturas como metacercarias viables durante tres meses, las cuales son ingeridas por el huésped final mientras pastorea y permanecen allí durante unas 6 u 8 semanas. Los juveniles de *Cotylophoron* spp. se adhieren firmemente a la mucosa duodenal, la cual permanece enrojecida con secciones de hemorragias petequiales, siendo este, el indicador anatomopatológico de que ocurre la migración hacia el rumen, lugar donde maduran y comienzan a producir los nuevos huevos mientras se desencadena una respuesta inmune [2, 8, 9].

La incidencia de trematodiasis está presente todo el año, con mayor tasa de prevalencia durante la temporada de lluvias, además, sujeta a las características ecológicas que poseen las áreas de pastoreo, en su mayoría pantanosas e inundadas como comúnmente se describen en climas tropicales, donde las condiciones cálidas y húmedas favorecen la eclosión rápida de los huevos, maximiza la propagación de los caracoles huéspedes intermediarios e incrementa la viabilidad de las metacercarias infecciosas presentes en el pasto, por lo tanto, regularmente se estima para las zonas ganaderas, una alta prevalencia de infección [9, 10]. En este sentido, debido al cambio climático, desde hace más de una década se proyecta un aumento significativo de la temperatura y humedad, así como cambios importantes en los patrones de precipitación que hoy, son una realidad en los Andes tropicales de Venezuela, por ello, Forstmaier y col. [11] recomiendan prestar más atención a estas enfermedades

parasitarias por razones de salud y bienestar animal, pues las zonas agroecológicas en el trópico americano, en especial, los predios ubicados a mayor altitud, ofrece las mejores condiciones de vida para trematodos como *Cotylophoron* spp.

En la última década, se ha registrado un incremento progresivo sobre la prevalencia de infecciones por duelas ruminales en gran parte de Europa, sin embargo, son escasos los reportes con sustento científico sobre el diagnóstico, impacto económico, patogenia y control de *Cotylophoron* spp., afirmándose, entre expertos, que no existe una medida de control específica que enfrente a largo plazo la incidencia y prevalencia del parásito, sugiriendo la integración de estrategias zootécnicas orientadas a alcanzar mejores índices de salud animal en los predios. Por esta razón, para controlar con eficiencia los parásitos gastrointestinales, es necesario disponer de un diagnóstico preciso y oportuno mediante la técnica de sedimentación, tamizado y cultivo fecal, las tres prácticas más frecuentes empleadas por los parasitólogos para identificar *Cotylophoron* spp.; asimismo, se considera indispensable suministrar, bajo supervisión profesional, un esquema/tratamiento farmacológico basado en salicilanilidas, tomando en cuenta que su uso inadecuado puede provocar problemas graves de resistencia, razón por la cual, su efectividad puede variar con el tiempo, un escenario que obliga a introducir regularmente nuevas formas de manejo que estén ajustadas a la biología propia del parásito [12].

Aunque el acceso a experiencias documentadas que demuestren el control sostenido de *Cotylophoron* spp. en grandes rumiantes es limitado, el uso de salicilanilidas halogenadas como oxiclozanida y rafoxanida se han utilizado ampliamente durante años a nivel mundial para el control de trematodos, pero la disponibilidad de estos fármacos en Venezuela resulta compleja debido a regulaciones de importación; por esta razón, avances sanitarios sobre *Cotylophoron* spp. en el país caribeño, siguen siendo precarios; por ello, se planteó como objetivo, determinar la prevalencia y control de *Cotylophoron* spp. empleando oxiclozanida + levamisol y rafoxanida como principios activos antiparasitarios en vacas mestizas *Bos taurus* ubicadas en la zona alta del estado Mérida, Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localidad

La investigación se llevó a cabo entre los meses abril y agosto de 2024 en un área de 2.115 ha, localidad rural de Jají, municipio Campo Elías, estado Mérida, Venezuela entre las coordenadas geográficas 8°35'08,5" N y 71°20'38,4" O (FIG. 1), cuyas características ecológicas corresponden según Villa y col. [13] a una zona de vida compatible para selva nublada de montaña tropical con altitud de 1.781 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.), temperatura media anual de 21°C, humedad relativa del 77% y un régimen pluviométrico de 1.260 mm anuales según reporte electrónico de una estación meteorológica móvil Celestron®-EEUU y GPS GARMIN® modelo Etrex 10 Lcd. 2.2-EEUU.

Muestreo

En función a un diagnóstico coprológico previo en diferentes unidades de producción del área en estudio, se identificaron animales positivos infectados de forma natural con una carga parasitaria superior a un huevo por gramo de heces (hgh), reportándose al momento, una alta prevalencia (92,98%) del parásito ruminal *Cotylophoron* spp.; esta condición sanitaria podría estar relacionada con las prácticas de manejo zootécnico y control del pastoreo, pues la infección por *Cotylophoron* spp. radica en la presencia metacercarias del microorganismo dispuestas en el pasto, infectando a los animales cuando ingiere los piensos forrajeros contaminados, un fundamento discutido y demostrado por Win y col. [14]. En este sentido, se visitaron cuatro granjas lecheras con dominancia racial mestiza Holstein-Friesian x Jersey, optándose por un muestreo no probabilístico de conveniencia, seleccionando 10 animales por tratamiento en cada unidad de producción, pues la logística para acceder a los planteles lecheros resultó complicada y costosa, un criterio igualmente justificado por Althubaiti [15].

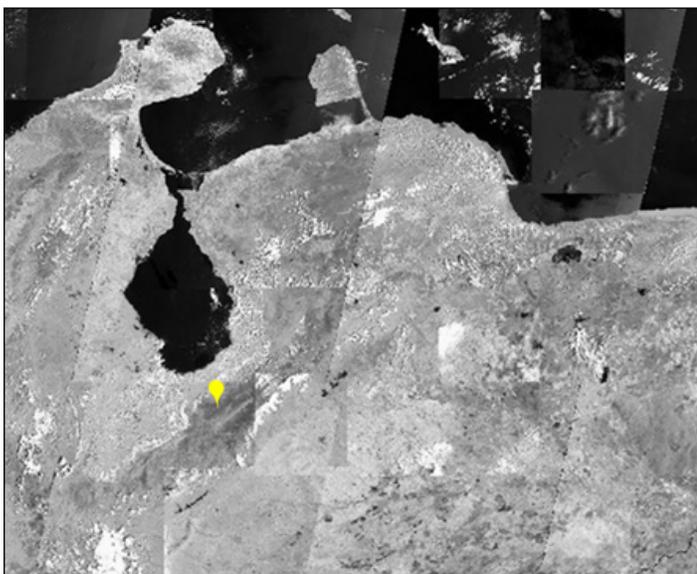
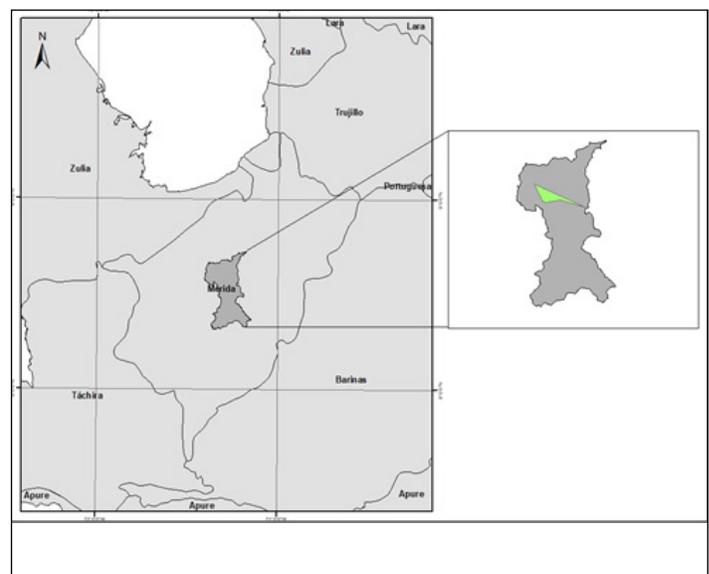


FIGURA 1. Ubicación geográfica de la zona rural estudiada



Animales

Fueron seleccionadas aleatoriamente por granja 30 hembras bovinas infectadas naturalmente con *Cotylophoron* spp., todas, vacas con registro de tres partos y en el primer tercio de lactancia, peso promedio de $449,54 \pm 59,20$ kg y una condición corporal media de $2,98 \pm 0,62$ sin hallarse diferencias estadísticamente significativas entre los grupos mediante la prueba ANOVA ($P > 0,05$). Los rebaños considerados para el ensayo, eran manejados bajo criterios de sistemas ganaderos semi-intensivo, donde los animales pastoreaban en áreas próximas a la sala de ordeño dos veces al día, recibían suplementación diaria con mezcla base concentrada para el mantenimiento de rumiantes Procría® (12% proteína cruda, 1% grasa, 15% fibra cruda, 2% calcio, 0,1% fósforo, 45% extracto libre de nitrógeno) a razón de 2 kg/vaca/d, sin haber recibido tratamiento farmacológico eficaz contra parafistómidos durante las 12 semanas previas al inicio del estudio.

Toma de muestra y diagnóstico coprológico

A primera hora de la mañana, empleando guantes de látex desechables mediante estimulación del esfínter anal, se colectaron muestras fecales directamente del recto de cada animal seleccionado, estas, fueron depositadas individualmente en bolsas plásticas Ziplock® 17,7 cm x 18,8 cm con doble cierre hermético, rotuladas y conservadas en hieleras de transporte a 4°C para ser enviadas al Laboratorio de Diagnóstico Zoonosario de la Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela para su evaluación microscópica. Cada muestra se sometió a la prueba coproparasitológica sedimentación y tamizado, la cual fue modificada en función de los protocolos desarrollados por Batista-Carneiro y col. [16] y Graham-Brown y col. [17]; para ello, se colocaron 5 g de heces en un recipiente plástico con 50 mL de agua del grifo, seguidamente con agitación constante, la mezcla fue homogeneizada y empleando una gasa tipo USP VII de algodón, la suspensión se filtró en un tubo de ensayo Pyrex® 16 x 150 mm dejándola reposar durante 10 minutos (min). El sobrenadante se descartó con cuidado y el sedimento hidratado resultante, se lavó con abundante agua corriente del grifo fragmentándose completamente la muestra mientras atravesaba diferentes tamices apilados (Retsch®, Düsseldorf, Alemania) de tamaño grande (100 mesh), mediano (200 mesh) y malla pequeña (250 mesh), respectivamente. Una vez que el agua corría sin turbidez por el tamiz más pequeño, se retiraron los dos tamices superiores y se descartó su contenido, a continuación, el residuo hallado en el tamiz con malla más pequeña fue colocado en una cápsula de Petri 35 mm x 15 mm, a ésta, se le añadió 3 mL de agua destilada y tres gotas de azul de metileno al 1% (p/v) para dejar reposar durante 5 min. Los recuentos de huevos para reconocer *Cotylophoron* spp. se realizaron empleando un microscopio óptico Olympus® CX21FS1-Japón con aumento hasta 10X, realizando un barrido en zigzag sobre el área ocupada por la solución dispuesta en la placa Petri. Obtenidos los resultados, se determinó el valor de prevalencia mediante la ecuación compartida por Thanasuwan y col. [18]: Prevalencia (%) = $(a/b) * 100$ donde “a” corresponde al número de individuos que padecen una enfermedad en un momento determinado y

“b” se refiere a la cantidad de individuos en la población que permanecen en riesgo.

Fármacos y tratamientos

Debido al poco interés por ampliar conocimientos sobre biología y epidemiología de los trematodos ruminales, el uso de salicilanilidas como agentes antihelmínticos en rumiantes a pastoreo ha sido una práctica sanitaria común en los sistemas ganaderos del trópico americano, ya que se trata de una molécula sintética capaz de interrumpir la fosforilación oxidativa en las mitocondrias celulares, perjudicando la motilidad de diversos parásitos gastrointestinales, principalmente trematodos y nematodos adultos e inmaduros [19]. Por esta razón, el uso del principio activo rafoxanida se viene empleando regularmente en la zona ganadera dominada por planteles lecheros de Mérida-Venezuela, sin observarse un control eficaz de *Cotylophoron* spp.; sin embargo, Kahl y col. [2] afirman que la oxiclozanida, otra salicilanilida, se considera el único fármaco empleado en gran parte de Europa para regular la prevalencia e incidencia de *Cotylophoron* spp.; por ello, en cada unidad pecuaria considerada durante el ensayo, 10 de las vacas seleccionadas recibieron dosis única parenteral subcutánea de rafoxanida al 15% (3 mg de rafoxanida/kg de peso vivo), otras 10 vacas, recibieron la mezcla antihelmíntica oxiclozanida + levamisol vía oral a razón de 7,5 mg de levamisol/kg de peso vivo y 15 mg de oxiclozanida/kg de peso vivo, en la práctica, 2,5 mL del producto comercial por cada 10 kg de peso vivo y, 10 vacas no recibieron tratamiento antihelmíntico por ser el grupo control. Para ajustar la dosificación y evaluar el efecto de ambos tratamientos sobre el peso corporal, todos los animales fueron pesados utilizando una báscula de paso automatizada (DeLaval®-Brasil) dispuesta en cada granja durante los muestreos. Las recolecciones de muestras fecales posteriores al tratamiento se realizaron el día que recibieron la primera dosis del desparasitante y nuevamente a los 15, 30, 60 y 90 días. El efecto de los desparasitantes evaluados, se midió en función del recuento de huevos de *Cotylophoron* spp. hallados en 5 gramos de heces (hp5gh) y la eficacia del fármaco, para ello, se emplearon los criterios de cálculo empleados por André y col. [20]: Eficacia = $100 \{1 - [(Ta * Cb) / (Tb * Ca)]\}$, donde Ta, se refiere a la cantidad de huevos identificados post-tratamiento; Cb, corresponde a los huevos hallados en heces del grupo control antes de iniciar los tratamientos; Tb, corresponde al número de huevos pre-tratamiento; y Ca, son los huevos contados al grupo control luego de aplicar tratamiento a los animales experimentados.

Análisis estadístico

La información descriptiva recopilada durante los muestreos y las pruebas coprológicas en laboratorio, fue registrada y tabulada en una hoja de cálculo Microsoft® Excel. Asimismo, siguiendo las recomendaciones metodológicas de Nzalawahe y col. [21] los datos fueron sometidos a la prueba de normalidad Shapiro-Willk, evidenciándose la no distribución normal de los mismos, por tal motivo, para evaluar el efecto de los tratamientos sobre las variables respuesta consideradas en el estudio, se ejecutó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ($P \leq 0,05$) utilizando el

software libre para procesamiento y análisis de datos R versión 4.3.3 [22].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La presencia del trematodo *Cotylophoron* spp. ha sido reseñada en gran parte de los sistemas ganaderos con vacunos, bufalinos, ovinos y caprinos que hoy, están establecidos por toda América Latina y el Caribe; sin embargo, la disponibilidad de reportes epidemiológicos abordados desde una perspectiva científica sobre prevalencia y control del trematodo en vacas lecheras, es muy limitado, una realidad que ha condicionado el abordaje exitoso de estrategias zootécnicas y agronómicas que podrían favorecer los indicadores de eficiencia biológica en la ganadería del trópico húmedo americano.

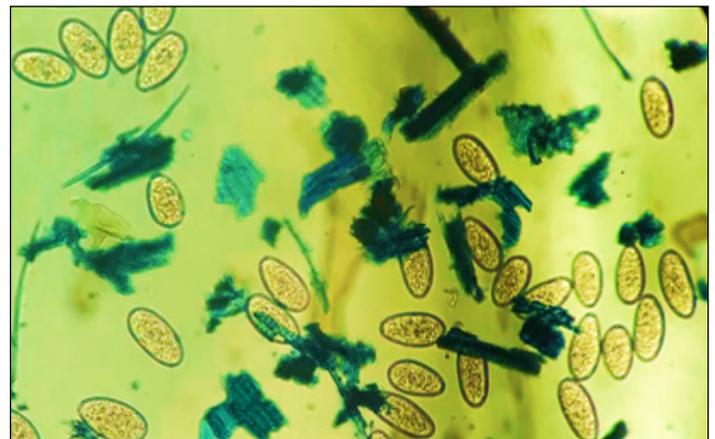
Durante el ensayo, los animales permanecieron clínicamente sanos, sin reportarse reacciones adversas luego de suministrar los fármacos raxofanida y oxiclozanida + levamisol. La prevalencia por rebaño resultó similar entre las granjas evaluadas con un valor promedio de $97,29 \pm 2,19\%$, lo cual indica que los porcentajes calculados en cada caso, se agruparon estrechamente alrededor de la media general. Para el diagnóstico de parásitos gastrointestinales en rumiantes, particularmente *Cotylophoron* spp., Forstmaier y col. [11] consideran la técnica coprológica por sedimentación y tamizado como el método más expedito para detectar trematodos ruminales, lo cual facilita la ejecución efectiva de la vigilancia epidemiológica; en este aspecto, se cuantificaron entre fincas $140,5 \pm 83,21$ huevos promedio con forma elipsoide, operculados, color transparente y con una dimensión aproximada de $132 \mu\text{m}$ de largo y $68 \mu\text{m}$ de ancho, todas, características que coinciden con la descripción morfológica que hacen Hernández-Hernández y col. [23] para huevos de *Cotylophoron* spp. (FIG. 2). Los casos positivos a parasitosis gastrointestinales son altamente prevalentes en sistemas ganaderos del trópico, una afirmación que coincide con el valor de prevalencia aquí calculado, el cual resultó próximo al porcentaje determinado por Forlano y col. [24] al identificar huevos de *Cotylophoron* spp. en las heces del 96% de las vacas mestizas Cebú x Holstein muestreadas en una zona de vida categorizada como bosque seco tropical de los llanos occidentales de Venezuela.



FIGURA 2. Huevos de *Cotylophoron* spp.

Con igual interés, Mitchell y col. [4] y Hajipour y col. [10] hallaron una prevalencia global de 19,5% para *Cotylophoron cotylophorum* en hembras vacunas lactantes al sureste de Irán y en la Isla de St. Kitts respectivamente con un manejo muy distante al adoptado tradicionalmente en el trópico; sin embargo, en este caso, la comparabilidad con otros estudios no siempre resulta confiable, pues los enfoques que pudieron haberse adoptado durante la experiencia en campo son complejos e influyen sobre las conclusiones preliminares, además, el rango del valor porcentual que regularmente se discute, es muy amplio, tal y como lo documentó Tookh y col. [5] al reseñar que la prevalencia para *C. cotylophorum* a partir de hallazgos coprológicos en vacunos puede variar entre 0,8% y 98,17%, siendo las zonas rurales ubicadas a mayor altitud en el trópico las más prevalentes o endémicas, esto, debido a que las condiciones climáticas son ideales para que el huésped intermedio le permita al parásito completar su ciclo de vida, en consecuencia, es posible que la alta prevalencia de *Cotylophoron* spp. esté relacionada directamente con la zona de vida y el alto mestizaje *Bos taurus* que poseen los animales.

En la FIG. 3, se ilustra la dinámica liberadora de huevos adoptada por los adultos de *Cotylophoron* spp. adheridos a la mucosa ruminal según el tratamiento antiparasitario empleado para su control experimental; sin embargo, ante la muy limitada disponibilidad de material bibliográfico especializado que ofrezca una escala referencial sobre el grado patológico que representa la cantidad de huevos compatibles con *Cotylophoron* spp. hallados en 5 g de heces; en el presente trabajo, se recopilieron experiencias documentadas desde granjas ganaderas y otros registros coprológicos previos que permitieron, según la historia clínica de los animales estudiados, proponer rangos específicos para clasificar el nivel de infección parasitaria por *Cotylophoron* spp. según la cantidad de huevos presentes en las heces del ganado bovino, dicha estimación considera una carga parasitaria baja cuando existen entre 1-25 hp5gh, media: >25-50 hp5gh, alta: >50-75 hp5gh y muy alta: >75 hp5gh.



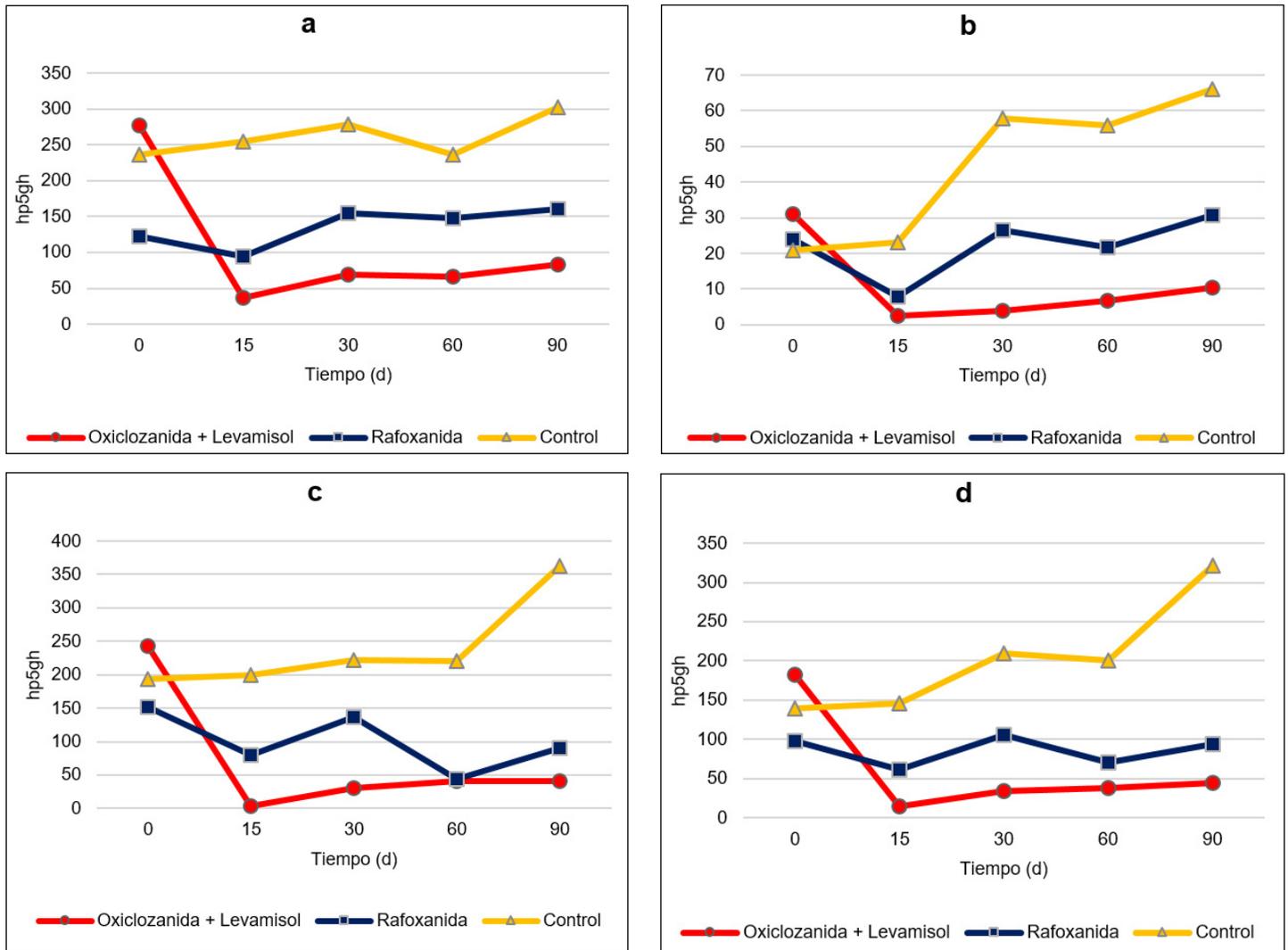


FIGURA 3. Huevos de *Cotylophoron* spp. contabilizados en muestras fecales de vacas lactantes Holstein-Friesian x Jersey sin control antiparasitario (T0), y animales que recibieron dosis terapéuticas de oxiclozanida + levamisol (T1) y rafoxanida (T2) en cada granja (a-d) considerada para el ensayo.

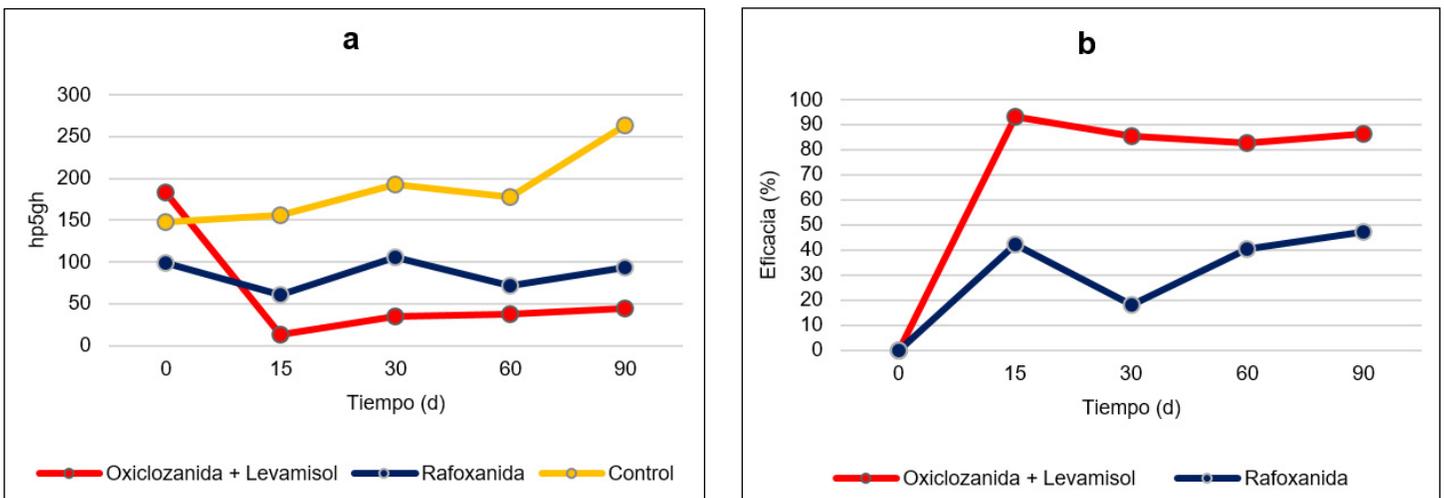


FIGURA 4. Respuesta media del conteo de huevos compatibles con *Cotylophoron* spp. en vacas lecheras según el efecto de los principios activos oxiclozanida + levamisol y rafoxanida. a. Tendencia general promedio del recuento de huevos de *Cotylophoron* spp. entre los rebaños monitoreados sin acción farmacológica (control), y los grupos que recibieron medicación con oxiclozanida + levamisol (T1) y rafoxanida (T2). b. Eficacia del fármaco antiparasitario oxiclozanida + levamisol y rafoxanida para el control de *Cotylophoron* spp.

La alta prevalencia, y el promedio de huevos consistentes con *Cotylophoron* spp. reportados al inicio del ensayo, resultó un indicador determinante para alertar a los ganaderos radicados en la zona alta del estado Mérida-Venezuela, sobre la magnitud de la carga parasitaria y cómo esta puede extrapolarse a todos sus rebaños, ya que basado en los criterios epidemiológicos expuestos por Hofmeester y col. [25] el número de animales positivos a parásitos gastrointestinales no reportados previamente en la zona, aumenta progresivamente a ritmos de contagios que están sujetos al ciclo de vida del parásito, por tanto, su prevalencia se incrementa como consecuencia del tiempo transcurrido sin haberse diagnosticado la enfermedad, de manera que las acciones para su control ocurren a destiempo y con ello, probablemente la cantidad de huevos aquí reportados en el muestreo inicial, estuvo altamente correlacionada con la presión del parásito y otras características asociadas a la ecología e inmunología del huésped.

Priya y col. [6] aseguran que el control químico de las parafistomosis, junto con una eficiente gestión de manejo zootécnico, impacta positivamente en la salud animal preventiva, pero, los crecientes problemas sobre resistencia en helmintos y la aparente inexistencia de principios activos comerciales disponibles e indicados para *Cotylophoron* spp., han llevado a evaluar otras opciones farmacéuticas, como ocurrió con García-Dios y col. [26] quienes emplearon una dosis por vía oral de 15 mg.kg⁻¹ de oxiclozanida para reducir el número de parafistomas en ovejas infectadas naturalmente con *Cotylophoron* spp. en las praderas de Galicia, España, y recomendaron la oxiclozanida como único antihelmíntico eficaz contra los trematodos ruminales en pequeños rumiantes, igualmente, sugieren dar mayor importancia a programas sostenibles de monitoreo para reducir la presencia de hospederos intermediarios en los potreros; por su parte, Ico-Gómez y col. [27] concluyeron en su experiencia con vacas lecheras del trópico húmedo mexicano que, el compuesto oxiclozanida muestra una eficacia del 92,7% sobre parásitos de la familia Paramphistomidae el d 21 después de haber sido administrada; a su vez, Rojas-Moncada y col. [28] controlaron con 17 mg.kg⁻¹ de peso vivo de oxiclozanida vía oral 97% de la carga parasitaria correspondiente a *Calicophoron microbothrioides* prevalente en un rebaño de ganado lechero ubicado por el Valle de Cajamarca-Perú, y Tookhy y col. [5] documentaron que el uso de oxiclozanida en *Bubalus bubalis* para atender los altos grados de infección por *Cotylophoron cotylophorum* puede reducir hasta 99% del recuento de huevos en heces.

Los antecedentes aquí expuestos, corresponden al uso experimental de oxiclozanida sin asociarse con otro fármaco; al respecto, es importante destacar que el medicamento evaluado posee una concentración adicional de levamisol (3%), el cual, es un fármaco antihelmíntico de amplio espectro efectivo contra la mayoría de nematodos gastrointestinales y puede actuar a lo que Gokbulut y col. [29] denominaron agente inmunoestimulante o inmunosupresor, e influir sobre la respuesta animal según su capacidad metabólica natural, pues se han reportado episodios de reacciones adversas debido al estrecho índice terapéutico y su dinámica bioquímica semejante a la prescrita sobre nicotina, lo cual pudiese afectar en algunos casos, la farmacocinética del compuesto oxiclozanida.

Para el ensayo, se consideró la presentación comercial oxiclozanida + levamisol, una combinación farmacológica que resultó con 86,98 ± 4,52% de efectividad, calculada en función de la reducción del recuento promedio de huevos de *Cotylophoron* spp. obtenido entre los cuatro momentos de diagnóstico coproparasitológico seleccionados durante los 90 d de evaluación; sobre el particular, Kiju y col. [30] aseguran que un fármaco antihelmíntico ha ejercido resistencia cuando el porcentaje de reducción en el recuento de huevos es inferior al 95%, mientras Ico-Gómez y col. [27] consideran a una especie de parásito gastrointestinal resistente a un fármaco, cuando menos del 90% de la carga parasitaria logra controlarse; por tanto, resulta preocupante el valor de efectividad obtenida contra el estado maduro del trematodo estudiado, ya que los valores de reducción estuvieron al final del monitoreo coprológico por debajo del 90%, una respuesta muy similar a la obtenida por Osman y Goreish [31] en terneros tratados con oxiclozanida (12 mg.kg⁻¹) para controlar *Fasciola gigantica*, en esta experiencia, los investigadores lograron demostrar que la eficacia del producto se acorta progresivamente hasta el d 56 cuando fue determinada una eficacia del 80%, asimismo, dejan claro que, aunque los antihelmínticos de amplio espectro se consideran eficaces, la mayoría de ellos suelen utilizarse para infecciones concretas; sin embargo, la mayor eficacia exhibida por la oxiclozanida + levamisol se notó a los 15 d de iniciado el trabajo diagnóstico, dado que el valor porcentual de efectividad se ubicó en 92,23 ± 4,70% y, aunque gradualmente con el paso del tiempo fue reduciéndose, es decir, con una eficacia reducida de tipo temporal, probablemente para asegurar mayor eficiencia, se amerita una segunda dosis en este punto del tratamiento antiparasitario y no una única dosis cada 90 d como indica el laboratorio fabricante, dejando entrever, que ninguno de los regímenes antihelmínticos de dosis única se reconoce como terapia curativa, ya que una alta intensidad de la infección puede interferir con la biodisponibilidad del fármaco, además, según las apreciaciones compiladas por Gokbulut y col. [29] en ganadería caprina, la repetición de la dosis podría ser una estrategia para garantizar mayor concentración plasmática del compuesto y así, mejorar el control de adultos *Cotylophoron* spp.

De la misma forma, Sanabria y col. [32] demostraron que la oxiclozanida administrada por vía oral a ovejas en dos oportunidades, es segura y no se han detectado reacciones adversas en los animales tratados; no obstante, Dong y col. [33] evaluaron la tolerancia del ganado vacuno Simmental a la oxiclozanida, confirmando que la dosis clínica recomendada por el fabricante es la correcta y, consideran, según los datos por ellos proyectados, una segunda dosis como opción no tóxica para el control de trematodos, pero, a su vez, constataron que la sobremedicación o la administración del fármaco en repetidas oportunidades entre cortos periodos de tiempo, ejerce efectos graves, observándose diarrea intensa, depresión, hipersalivación, pérdida de peso, convulsiones mioclónicas e incluso la muerte; de allí que, ante la no disponibilidad de productos autorizados específicos para restringir la duela ruminal, al parecer, solo el uso de oxiclozanida con levamisol ha mostrado los mejores indicadores de efectividad, aunque no resulten ideales; aun así, es crucial dejar claro que, una eficacia limitada del principio activo que se considera hasta ahora como el más efectivo contra

Cotylophoron spp., y no ofrece un significativo umbral de control entre los baños con rumiantes a pastoreo en Venezuela, es preocupante, no solo por los costos que implica el uso constante del producto, sino la resistencia que van desarrollando los parásitos gastrointestinales, una consideración técnico-sanitaria igualmente discutida por Shaheen y col. [34] y Atcheso y col. [35]. A su vez, el empleo de rafoxanida, habitualmente administrada por productores de la zona alta de Mérida-Venezuela con la firme creencia de combatir *Cotylophoron spp.* en sus animales, los resultados obtenidos muestran un porcentaje de efecto control inferior al 50%, lo cual evidencia un alto grado de resistencia a este principio activo, una concepción igualmente sostenida por Nzalawahe y col. [21] al afirmar que cada trematocida disponible a la venta, ejerce un espectro de acción diferente contra los parásitos fijados al rumen, en este caso, su uso para el control de *Cotylophoron spp.* no es efectivo.

Otro de los elementos importantes de comentar sobre el tema, es el cambio climático, un desbalance en el entorno natural que viene impactando negativamente la abundancia, prevalencia, severidad y distribución geográfica de los parásitos gastrointestinales, alterando así, los ya conocidos patrones de infección parasitaria que caracteriza a los sistemas con rumiantes [36]. Para la zona estudiada, expertos como Trenberth [37] señalan que hay una influencia directa del calentamiento global sobre las tasas pluviométricas, produciéndose mayor evaporación en la superficie cultivada, lo cual está generando un aumento de la intensidad y duración del periodo seco; referente a eso, el mayor recuento de huevos de *Cotylophoron spp.* se registró, independientemente del tratamiento recibido, durante el lapso temporal que existe entre el fin de la temporada lluviosa e inmediatamente las semanas más secas; una premisa que concuerda con lo observado por Pfukenyi y Mukaratirwa [38] al confirmar que los mayores repuntes de infecciones por anfitomas ocurren durante la época seca, momento en el cual, caracoles y metacercarias se concentran cerca de los depósitos de agua y pueden acceder a pasto fresco, un ciclo de vida claramente definido que explica la liberación intermitente de huevos observada en las gráficas de la FIG. 3, nótese

como los huevos contados se reducen e incrementan con frecuencias regulares, pero sujetas al efecto del tratamiento; estas variaciones las justifica García-Dios y col. [26] como fluctuaciones de carácter biológico propias de trematodos ruminales adultos para la eliminación de sus huevos en las heces del hospedador final. Con respecto al peso vivo, la FIG. 5 detalla el comportamiento de esta variable durante el ensayo, notándose un incremento diario de peso superior entre los animales que recibieron por vía oral oxiclozanida + levamisol al promediar $0,33 \pm 0,03$ kg.d-1, mientras el peso diario alcanzado en el grupo de vacas dosificadas vía parenteral con rafoxanida fue $0,09 \pm 0,02$ kg.d-1 y $0,08 \pm 0,01$ kg.d-1 en los animales que no recibieron tratamiento farmacológico. El análisis de datos aplicado en este apartado, reveló que el uso de oxiclozanida + levamisol para el control de parásitos gastrointestinales del género *Cotylophoron spp.* ejerció un efecto estadísticamente significativo ($P \leq 0,05$) sobre la ganancia diaria de peso (GDP), en tanto, los animales del grupo control y los desparasitados con rafoxanida, resultaron semejantes ($P > 0,05$) entre sí con los menores valores de GDP registradas.

De acuerdo a la anamnesis registrada al inicio de ensayo, las altas cargas de *Cotylophoron spp.* estimadas a partir del recuento de huevos en heces, coincidieron con vacas que presentaban un notable decaimiento, inapetencia, reducción en la producción láctea y pérdida progresiva de peso; en este sentido, los resultados obtenidos reflejaron un efecto positivo de la desparasitación como método profiláctico de control farmacológico para regular el parasitismo gastrointestinal, independientemente del principio activo administrado durante la evaluación, un criterio que igualmente fue demostrado por Davy y col. [39] al confirmar que los tratamientos antihelmínticos de liberación prolongada como los derivados de las salicilanilidas, promueven el aumento de peso en las vacas, un indicador de salud y bienestar animal, aunque en este caso, la eficacia antihelmíntica calculada para oxiclozanida + levamisol fue significativamente superior con respecto al uso de rafoxanida; adicionalmente, Shaheen y col. [34] evaluaron el efecto de la

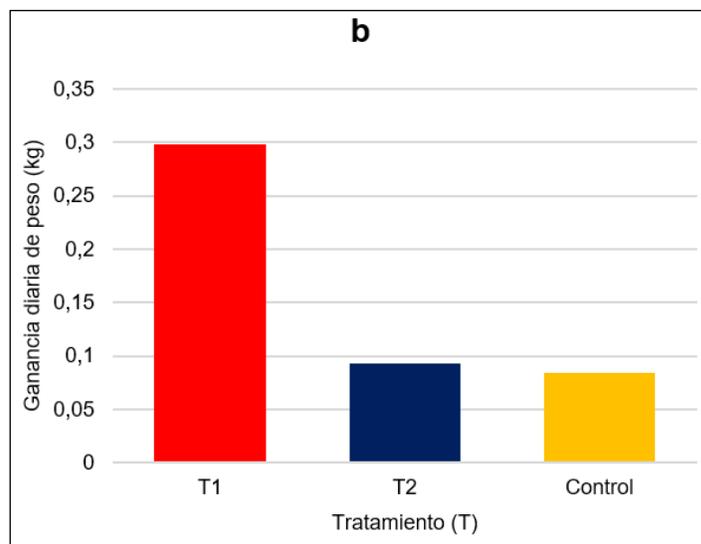
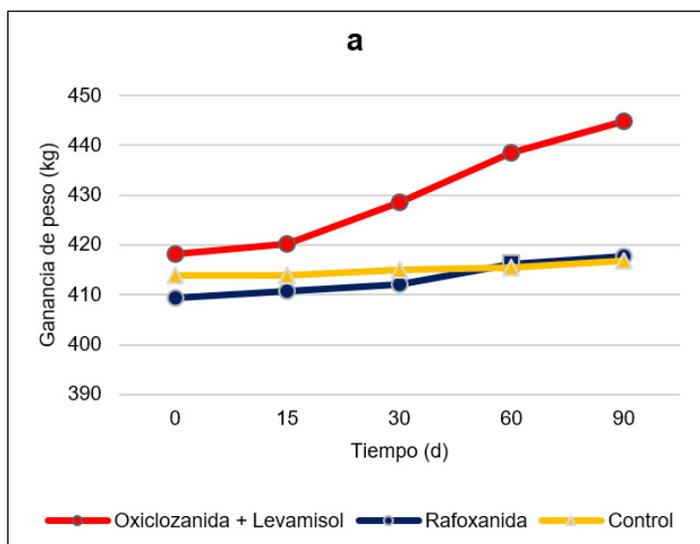


FIGURA 5. Respuesta de la variable peso vivo (kg) durante el ensayo. a. Peso vivo medio (kg) registrado entre las vacas estudiadas según el tratamiento antiparasitario administrado. b. GDP desde el inicio del ensayo y hasta el día 90 de evaluación.

combinación oxiclozanida (15 mg.kg⁻¹) + niclosamida (125 mg.kg⁻¹) en ganado bufalino (*Bubalus bubalis*) positivo a duela ruminal, en esta experiencia, los animales mostraron una importante mejoría ante los signos clínicos más evidentes de la infección por *Paramphistomum* spp., como disminución del recuento de huevos, menor estrés oxidativo, perfiles bioquímicos favorables e incremento de peso; semejante a ello, en el trabajo presentado por Ibrahim y col. [40] la ganancia de peso resultó significativamente mayor a un mes de iniciado el tratamiento con oxiclozanida + levamisol en terneros machos para el control de *Fasciola gigantica* y *Paramphistomum microbothrium*, registrándose en promedio 0,6 kg ganados al día, un valor superior al obtenido en las vacas aquí evaluadas, aun así, se considera un dato apropiado para validar el efecto relevante del desparasitante oxiclozanida + levamisol con respecto a la ganancia de peso, tomando en cuenta que el factor sexo determina en gran medida la respuesta de las variables asociadas al crecimiento. Finalmente, es importante dejar claro que, al hacer uso desmedido del principio activo oxiclozanida + levamisol sin diagnóstico coprológico previo por considerarse hasta ahora, el medicamento con mayor efectividad en el control de *Cotylophoron* spp. podría establecerse una importante resistencia al fármaco y agravar así, la dinámica de Infección en el área abordada; por lo tanto, se necesita con urgencia nuevos antihelmínticos de fácil acceso, efectivos y con una posología sostenible.

CONCLUSIÓN

La desparasitación preventiva periódica del ganado lechero previo diagnóstico coprológico con oxiclozanida + levamisol reduce la amenaza de pérdidas económicas derivadas de infecciones gastrointestinales en los planteles lecheros establecidos en la zona alta de Mérida, Venezuela; para ello, un programa de desparasitación eficaz podría contribuir a un importante beneficio económico entre los ganaderos actualmente afectados por las altas tasas de infección provocadas por *Cotylophoron* spp.

Intereses en conflicto

Los investigadores manifiestan que no existe conflicto de intereses para la divulgación de los resultados aquí presentados.

Agradecimientos

Los autores extienden su gratitud a la Asociación de Ganaderos de la Zona Alta de Mérida-Venezuela (AGZAM), a todas las unidades de producción que fueron consideradas para el abordaje epidemiológico, así como a los Laboratorios de Fisiología Vegetal, Ecofisiología de Cultivos y Cultivos *in vitro* de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales, Universidad de Los Andes (ULA), Mérida-Venezuela por su apoyo técnico e instrumental durante el desarrollo del ensayo, cumpliendo así, con las exigencias académicas del Convenio ULA-AGZAM.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Terfa W, Kumsa B, Ayana D, Maurizio A, Tessarin C, Cassini R. Epidemiology of gastrointestinal parasites of cattle in three Districts in Central Ethiopia. *Animals* [Internet]. 2023; 13(2):285. doi: <https://doi.org/n5ht>
- [2] Kahl A, Samson-Himmelstjerna G, Krücken J, Ganter M. Chronic wasting due to liver and rumen flukes in sheep. *Animals* [Internet]. 2021; 11(2):549. doi: <https://doi.org/n5hv>
- [3] Conga D, Gomez-Puerta L, Mayor P. *Cotylophoron panamensis* (Trematoda: Paramphistomidae) in *Mazama americana* (Artiodactyla: Cervidae) free-living in remote areas in the Peruvian Amazon. *Vet. Parasitol. (Amst.)* [Internet]. 2022; 27:100667. doi: <https://doi.org/n5hw>
- [4] Mitchell G, Ketzis J, Metzler D, Alvarado J, Skuce P, Lawton S. Identification of *Cotylophoron cotylophorum* (Fischöeder, 1901) in cattle on St. Kitts, West Indies and its relationship with African and Asian populations. *Parasitol. Int.* [Internet]. 2023; 95:102751. doi: <https://doi.org/n5hx>
- [5] Tookhy N, Nur-Mahiza M, Mansor R, Yasmin A, Ahmad I, Hamzah N, Idris L. Rumen fluke in cattle and buffaloes in Asia: a review. *Pertanika J. Trop. Agric. Sci.* [Internet]. 2022; 45(3):781-803. doi: <https://doi.org/n5hz>
- [6] Priya P, Veerakumari L. Morphological and histological analysis of *Cotylophoron cotylophorum* treated with *Acacia concinna*. *Trop. Parasitol.* [Internet]. 2017; 7(2):92-97. doi: https://doi.org/10.4103/tp.TP_65_16
- [7] Sivaraman S, Desingu-Raja D, Arulmozhi A, Rajkumar R. Case study: Successful therapeutic management of ascites in a crossbred Jersey cow due to amphistomiasis. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* [Internet]. 2021; 10(2):524-527. doi: <https://doi.org/n5h2>
- [8] Amaral V, Sousa D, Benigno R, Pinheiro R, Gonçalves E, Giese E. *Cotylophoron marajoensis* n. sp. (Digenea: Paramphistomidae) a parasite of *Bubalus bubalis* on Marajó Island, Pará, Brazilian Amazon. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* [Internet]. 2020; 29(4):e018320. doi: <https://doi.org/n5h3>
- [9] Kebede I, Beriso T, Mengistu T, Gebremeskel H. Study on cattle Trematodiasis and related risk factors in Damot Sore District, Wolaita Zone, southern Ethiopia. *J. Parasitol. Res.* [Internet]. 2023; 10:6687665. doi: <https://doi.org/n5h4>
- [10] Hajipour N, Mirshekar F, Hajibemani A, Ghorani M. Prevalence and risk factors associated with amphistome parasites in cattle in Iran. *Vet. Med. Sci.* [Internet]. 2021; 7(1):105-111. doi: <https://doi.org/g6z62>

- [11] Forstmaier T, Knubben-Schweizer G, Strube C, Zablotski Y, Wenzel C. Rumen (*Calicophoron/Paramphistomum* spp.) and liver flukes (*Fasciola hepatica*) in cattle-prevalence, distribution, and impact of management factors in Germany. *Animals*. [Internet]. 2021; 11(9):2727. doi: <https://doi.org/n5h5>
- [12] Strydom T, Lavan R, Torres S, Heaney K. The economic impact of parasitism from nematodes, trematodes and ticks on beef cattle production. *Animals* [Internet]. 2023; 13(10):1599. doi: <https://doi.org/g6vrv>
- [13] Villa P, Pérez-Sánchez A, Nava F, Acevedo A, Cadenas D. Local-scale seasonality shapes anuran community abundance in a cloud forest of the tropical andes. *Zool. Stud.* [Internet]. 2019; 58:17. doi: <https://doi.org/n5h7>
- [14] Win S, Win M, Thwin E, Htun L, Hmoon M, Chel H, Thaw Y, Soe N, Phyo T, Thein S, Khaing Y, Than A, Bawm S. Occurrence of gastrointestinal parasites in small ruminants in the central part of Myanmar. *J. Parasitol. Res.* [Internet]. 2020; 2020:8826327. doi: <https://doi.org/n5h8>
- [15] Althubaiti A. Sample size determination: a practical guide for health researchers. *J. Gen. Fam. Med.* [Internet]. 2023; 24(2):72-78. doi: <https://doi.org/n5h9>
- [16] Batista-Carneiro M, Freire-Martins I, Rauta De Avelar B, Barbour-Scott F. Sedimentation technique (Foreyt, 2005) for quantitative diagnosis of *Fasciola hepatica* eggs. *J. Parasit. Dis. Diagn. Ther.* [Internet]. 2018; 3(1):6-9. doi: <https://doi.org/mm9k>
- [17] Graham-Brown J, Williams D, Skuce P, Zadoks R, Dawes S, Swales H, Van Dijk J. Composite *Fasciola hepatica* faecal egg sedimentation test for cattle. *Vet. Record.* [Internet]. 2019; 184(19):589. doi: <https://doi.org/g6vsn>
- [18] Thanasuwan S, Piratae S, Tankrathok A. Prevalence of gastrointestinal parasites in cattle in Kalasin Province, Thailand. *Vet. World.* [Internet]. 2021; 14(8):2091-2096. doi: <https://doi.org/grmkc8>
- [19] Hasan M, Roy B, Biswas H, Rahman M, Anisuzzaman A, Zahangir M, Talukder H. Efficacy of flukicides on *Fasciola gigantica*, a food-borne zoonotic helminth affecting livestock in Bangladesh. *Parasitology.* [Internet]. 2022; 149(10):1339-1348. doi: <https://doi.org/n5jb>
- [20] André W, Cavalcante G, Ribeiro W, Santos J, Macedo I, Paula H, Morais S, Melo J, Bevilacqua C. Anthelmintic effect of thymol and thymol acetate on sheep gastrointestinal nematodes and their toxicity in mice. *Braz. J. Vet. Parasitol. Jaboticabal* [Internet]. 2017; 26(3):323-330. doi: <https://doi.org/gpwff3>
- [21] Nzalawahe J, Hannah R, Kassuku A, Stothard J, Coles G, Eisler M. Evaluating the effectiveness of trematocides against *Fasciola gigantica* and amphistomes infections in cattle, using faecal egg count reduction tests in Iringa Rural and Arumeru Districts, Tanzania. *Parasites & Vectors.* [Internet]. 2018; 11:384. doi: <https://doi.org/n5jc>
- [22] R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for statistical computing, Vienna, Austria. 2024 [Consultado 18 Julio 2024]. Disponible en: <https://n9.cl/scu0>
- [23] Hernández-Hernández J, González-Garduño R, Ortíz-Pérez D, Villa-Mancera A, Arias-Vázquez M, Paz-Silva A. Prevalence of flukes (*Fasciola hepatica* and *paramphistomids*) in cattle in south-eastern Mexico. *Helminthologia* [Internet]. 2023; 60(2):141-151. doi: <https://doi.org/n5jf>
- [24] Forlano M, Henríquez H, Meléndez R. Incidencia y prevalencia de *Cotylophoron* spp. (Trematoda: Digenea) en bovinos del Asentamiento Campesino “Las Majaguas”. *Portuguesa-Venezuela 1996-1997. Gaceta de Ciencias Veterinarias* [Internet]. 2001 [Consultado 12 Ago. 2024]; 7(1):15-23. Disponible en: <https://goo.su/gXglNaV>
- [25] Hofmeester T, Bügel E, Hendrikx B, Maas M, Franssen F, Sprong H, Matson K. Parasite load and site-specific parasite pressure as determinants of immune indices in two sympatric rodent species. *Animals* [Internet]. 2019; 9(12):1015. doi: <https://doi.org/n5jg>
- [26] García-Dios D, Díaz P, Viña M, Remesar S, Prieto A, López-Lorenzo G, Díaz-Cao J, Panadero R, Díez-Baños P, López C. Efficacy of oxyclozanide and closantel against rumen flukes (Paramphistomidae) in naturally infected sheep. *Animals* [Internet]. 2020; 10(11):1943. doi: <https://doi.org/n5jh>
- [27] Ico-Gómez R, González-Garduño, R, Ortíz-Pérez D, Mosqueda-Gualito J, Flores-Santiago E, Sosa-Pérez G, Salazar-Tapia A. Assessment of anthelmintic effectiveness to control *Fasciola hepatica* and *paramphistome* mixed infection in cattle in the humid tropics of Mexico. *Parasitology* [Internet]. 2021; 148(12):1458-1466. doi: <https://doi.org/g6z6r>
- [28] Rojas-Moncada J, Sotelo-Camacho J, Torrel-Pajares S, Vargas-Rocha L. Oxyclozanide in dairy cattle in the Cajamarca valley, as an alternative in the control of *Calicophoron microbothrioides*. *J. Selva Andin. Anim. Sci.* [Internet]. 2022; 9(2):90-96. doi: <https://doi.org/n5ji>

- [29] Gokbulut C, Yalinkilinc H, Aksit D, Veneziano V. Comparative pharmacokinetics of levamisole-oxyclozanide combination in sheep and goats following per os administration. *Can. Vet. J. Res.* [Internet]. 2014[Consultado 19 Ago.2024]; 78(4):316-320, PMID: 25356001. Disponible en: <https://goo.su/GGMK>
- [30] LKiju P, Sadaula A, Thapa P, Pokheral C. Efficacy of levamisole and oxyclozanide treatment on gastrointestinal nematodes of ungulates at the Central Zoo, Nepal. *J. Threat. Taxa.* [Internet]. 2023; 15(10):24079–24085. doi: <https://doi.org/n5jk>
- [31] Osman O, Goreish I. The Efficacy of triclabendazole and oxyclozanide against natural *Fasciola gigantica* infection in cattle. *Sudan J. Vet. Res.* [Internet]. 2013[Consultado 22 Julio 2024]; 28:37-42. Disponible en: <https://goo.su/EKbW>
- [32] Sanabria R, Moreno L, Alvarez L, Lanusse C, Ramos J. Efficacy of oxyclozanide against adult *Paramphistomum leydeni* in naturally infected sheep. *Vet. Parasitol.* [Internet]. 2014; 206(3-4):277-281. doi: <https://doi.org/f6v842>
- [33] Dong Z, Sun J, Bai Y, Wang W, Zhu Y, Li B, Cheng F, Wei X, Song E, Cheng H, Jiang F, Zhou X, Zhang J. Target animal safety testing of an oral salicylanilide suspension, oxyclozanide, for the treatment of fascioliasis in bovine in China. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* [Internet]. 2019; 103:21-33. doi: <https://doi.org/gq5grt>
- [34] Shaheen H, Sadek K, Bazh E. Evaluation of oxyclozanide and niclosamide combination as alternative antiparamphistomal therapy in buffaloes. *Afr. J. Pharmacy Pharmacol.* [Internet]. 2013; 7(30): 2157-2166. doi: <https://n9.cl/enj5d>
- [35] Atcheson E, Lagan B, McCormick R, Edgar H, Hanna R, Rutherford N, McEvoy A, Huson K, Gordon A, Aubry A, Vickers M, Robinson M, Barley J. The effect of naturally acquired rumen fluke infection on animal health and production in dairy and beef cattle in the UK. *Front. Vet. Sci.* [Internet]. 2022; 9:968753. doi: <https://doi.org/n5jn>
- [36] Alí M, Carlile G, Giasuddin M. Impact of global climate change on livestock health: Bangladesh perspective. *Open Vet. J.* [Internet]. 2020; 10(2):178-188. doi: <https://doi.org/n5jp>
- [37] Trenberth k. Changes in precipitation with climate change. *Clim. Res.* [Internet]. 2011; 47(1-2):123-138. doi: <https://doi.org/ckmtbq>
- [38] Pfukenyi D, Mukaratirwa S. Amphistome infections in domestic and wild ruminants in East and Southern Africa: a review. *Onderstepoort J. Vet. Res.* [Internet]. 2018; 85(1):e1-e13. doi: <https://doi.org/gfjncz>
- [39] Davy J, Forero L, Strickler S, Gillespie J, Maier G. Comparison of deworming strategies for pre-weaned beef calves. *Vet. Parasitol.* [Internet]. 2023; 322:110005. doi: <https://doi.org/n5jq>
- [40] Ibrahim H, Alsenosy A, El-Ktany E, Ata E, Abas O. Anthelmintic efficacy and pharmacodynamic effects of levamisole oxyclozanide combination as (Levanide®) in fattening calves. *Egypt. J. Vet. Sci.* [Internet]. 2023; 54(6):1245-1254. doi: <https://doi.org/n5jr>