

DINÁMICA DE EXCRECIÓN DE HUEVOS DE *Fasciola hepatica* Y *Paramphistomum* spp EN GANADO BOVINO DE TABASCO

Excretion dynamics of *Fasciola hepatica* and *Paramphistomum* spp eggs in grazing cattle of Tabasco

^{1*}Nadia F. Ojeda-Robertos, ¹Ulises Medina-Reynes, ¹Gabriela Garduza-Arias, ²Luis J. Rangel-Ruiz

¹División Académica de Ciencias Agropecuarias, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
Carr. Villahermosa-Teapa, km 25, CP 86280. Villahermosa, Tabasco, México.

*nojedar@hotmail.com

²División Académica de Ciencia biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

Nota científica recibido: 06 de agosto de 2013, aceptado: 12 de diciembre de 2013

RESUMEN. El objetivo del presente trabajo fue describir la dinámica de excreción de huevos de *F. hepatica* y *Paramphistomum* spp en heces de bovinos en pastoreo. Se realizó un estudio prospectivo con visitas mensuales. Se obtuvo la frecuencia mensual de muestras positivas y se relacionó con la época del año. La mayor cantidad de muestras positivas se detectó en la época de lluvias.

Palabras clave: Frecuencia, bovinos, trematodos.

ABSTRACT. The purpose of this study was to describe the excretion dynamics of *F. hepatica* and *Paramphistomum* spp eggs in feces of grazing cattle. A prospective study was carried out with monthly visits. The monthly frequency of positive samples was obtained and this was related to the season of the year. Most of the positive samples were detected in the rainy season.

Key words: Frequency, cattle, trematodes.

INTRODUCCIÓN

El trematodo *Fasciola hepatica* es un agente parasitario que causa una enfermedad zoonótica de distribución cosmopolita conocida como fasciolosis bovina. Se estima que existen 2.65 millones de humanos infectados con el parásito, de estos, 94 % se encuentran en Egipto, Irán, Bolivia, Ecuador y Perú (Torgerson 2013). La presencia de la fasciolosis origina disminución del 8 al 28 % en la producción de carne (Cawdery et al. 1997), merma en la producción de leche y en las ganancias económicas debido al decomiso de hígados en el rastro. Por otro lado, *Paramphistomum* spp. es un parásito del rumen responsable de una enfermedad emergente que se caracteriza por producir erosiones y necrosis en la mucosa intestinal durante su etapa juvenil, con la consecuente pérdida de apetito y anorexia (Cordero del Campillo et al. 1999). Este parásito

ha sido poco estudiado a nivel mundial y México no es la excepción. Para la evaluación del impacto de una enfermedad en una zona, es necesario conocer la presencia del agente causal y su dinámica a lo largo del año (Kapplan et al. 1997). Los trematodos tienen un ciclo de vida complejo que involucra dos hospederos. Brevemente, el parásito adulto vive en los conductos biliares o en el rumen del hospedero definitivo, luego el ciclo continua en la pastura por un corto periodo de tiempo, ya sea como huevo o miracidio antes de que ocurra la penetración y desarrollo dentro del hospedero intermedio *Lymnea* (*Galba cubensis*) (Rangel-Ruiz 2005), seguido por la multiplicación y el enquistamiento como metacercaria en la pastura antes de la ingestión por el hospedero definitivo. Las etapas que se llevan a cabo fuera del hospedero definitivo son susceptibles a las condiciones climáticas, principalmente humedad y temperatura, mientras que en

el hospedero el desarrollo es más constante (Claxton *et al.* 1997). El estado de Tabasco posee las condiciones ambientales que favorecen la presencia de *F. hepatica* (Rangel *et al.* 1999), *Paramphistomum cervi* (Rangel-Ruiz *et al.* 2003) y del hospedero intermediario (*Galba cubensis*) (Rangel 1994). Sin embargo, no existe información de la frecuencia y dinámica de eliminación de huevos a lo largo del año en bovinos manejados bajo condiciones de pastoreo. La eliminación de los huevos al medio externo es el momento en que los animales eliminadores se convierten en fuente de infección para otros animales (Valero *et al.* 2006) y para el hospedero intermediario. Bajo condiciones ambientales del estado es importante conocer y comprender la epidemiología de ambas enfermedades para proponer medidas eficaces de control. El objetivo del presente trabajo fue describir la dinámica de excreción de huevos de *F. hepatica* y *Paramphimstomum spp* en heces de bovinos en pastoreo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del área de estudio

El trabajo se llevó a cabo en un rancho bovino localizado en el municipio de Jalapa, en el poblado de Jahuacapa ($17^{\circ} 43' N$ y $92^{\circ} 48' O$), perteneciente a la región Sierra al sur del estado de Tabasco. El municipio de Jalapa tiene un clima cálido húmedo con lluvias durante la mayor parte del año. El promedio más alto de precipitación pluvial se presenta en septiembre (728 mm) y el más bajo en abril (81 mm), el promedio anual es de 2 237 mm. La temperatura media anual es $25.7^{\circ} C$ (De Dios-Vallejo 2001, Gobierno del Estado de Tabasco 2006).

Diseño experimental

Se efectuó un estudio prospectivo con una duración de doce meses (enero a diciembre de 2012), se realizaron visitas cada 30 días. El rancho fue elegido en septiembre de 2011 y los criterios de inclusión fueron: su localización (región con reporte de presencia de *F. hepatica*), además por entrevista realizada al propietario del rancho, se confirmó el decomiso de hígados infectados de animales prove-

nientes del rancho en el rastro municipal de Jalapa. De forma adicional se efectuó un recorrido por los potreros del rancho, y se determinó la presencia del caracol hospedero intermediario *Galba cubensis*.

Manejo de animales

La población total de bovinos en el rancho fue de 250 animales, se incluyeron por conveniencia 80 hembras bovinas de nueve meses de edad, peso inicial promedio de 150 (± 20) kg y diferente grado de encaste entre Cebú-Simbrah, Cebú-Suizo y Holstein-F1. El número de animales incluidos fueron los que podrían mantenerse en el rancho durante los 12 meses de duración del estudio. La población inicial (enero 2012) y final (diciembre 2012) fue de 80 y 68 animales, respectivamente. Se registraron en total cuatro muertes, por diversas causas, tres en el mes de febrero y una en el mes de marzo. En junio, ocho animales fueron eliminados del hato debido a que fueron reactores positivos a tuberculosis mediante la prueba doble comparativa.

Los animales fueron desparasitados en dos ocasiones (abril y agosto), según los resultados de laboratorio del mes anterior, cuando se detectó un incremento en el número de animales positivos a *F. hepatica*. Se administró Triclabendazol (Fasinex[®], Novartis) a una dosis de 12 mg kg^{-1} por vía oral. Los animales se pesaron en una báscula electrónica y se les administró el tratamiento con base en el peso vivo individual.

Sistema de alimentación

El sistema de alimentación se basó en pastoreo intensivo rotacional. El tiempo de ocupación de los potreros varió dependiendo de la época del año, cobertura y disponibilidad del pasto. Las especies de pastos presentes en las praderas fueron *Paspalum paniculatum* (Camalote), *Cynodon plectostachys* (Estrella) y *Echinochloa polystachya* (Alemán). Estos potreros son atravesados transversalmente por una efluente del río de La Sierra, que durante la época de lluvias se desborda y provoca inundaciones en los potreros, creando zonas con las condiciones para el establecimiento del hospedero intermediario.

Obtención y procesamiento de muestras de heces

En cada visita se obtuvieron 100 g de heces directamente del recto de cada animal. Las heces fueron colectadas en bolsas de plástico e identificadas. Para preservar el material biológico, las muestras se conservaron a 4 °C en nevera de plástico. Las muestras fueron enviadas al laboratorio de Parasitología Veterinaria de la División Académica Ciencias Agropecuarias de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Se procesaron individualmente el mismo día de la obtención mediante la técnica cualitativa de sedimentación rápida modificada para identificación de huevos de trematodos (Urquahart *et al.* 1996). Se utilizaron dos gramos de heces, que fueron diluidas con agua de la llave y maceradas manualmente usando abatelenguas de madera, posteriormente se dejaron sedimentar en vasos plásticos, por períodos de 15 minutos. En total se efectuaron cuatro lavados, hasta que el agua sobrenadante estuvo lo más claro posible. El sedimento final fue pasado por un colador plástico (140 μ), para separar impurezas del sedimento y partículas grandes que pudieran dificultar la visión y la identificación de los huevos. Se recuperó el sedimento limpio que se conservó en tubos para centrifugado de 15 ml. Los tubos se conservaron en refrigeración para su lectura posterior. El día de la lectura, las muestras se decantaron, y se les agregó 0.5 ml de tinción verde de malaquita, se homogeneizaron y se dejaron en reposo por cinco minutos. Las muestras fueron observadas utilizando un microscopio óptico con aumentos de 10X y 40X (Karl Zeiss). De cada muestra se realizaron al menos dos lecturas. Se determinó la presencia de los huevos de *F. hepatica* y *Paramphistomum spp.* con base a la morfología de los huevos usando las guías de referencia (Soulsby 1982).

Datos climáticos

Se obtuvo el promedio de temperatura (mínimas y máximas), humedad relativa (%) y precipitación pluvial (mm/mes), registradas durante el año 2012 en la estación meteorológica Pueblo Nuevo perteneciente a la Comisión Nacional del Agua (Tabla 1).

Análisis de datos

La frecuencia mensual y anual de *F. hepatica*, *Paramphistomum spp* y de ambos parásitos (mixto) se calculó utilizando la fórmula propuesta por Thrusfield (1990). Para determinar la relación entre la frecuencia y época del año, se agruparon los datos por parásito en tres épocas, seca (marzo-junio), lluvias (julio-octubre) y nortes (enero, febrero, noviembre, diciembre). El número de datos por época varió dependiendo de la población de bovinos en cada mes. Los datos se analizaron por medio de una chi cuadrada (X^2) en tablas de contingencia de 2 X 3. Los análisis estadísticos se realizaron con el software IBM SPSS (Statistics 19.0 2010).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El presente trabajo presenta la dinámica de eliminación de huevos de los trematodos *F. hepatica* y *Paramphistomum spp* en heces de ganado bovino de una zona endémica del estado de Tabasco durante el año 2012. La eliminación de huevos en las heces mostró un claro patrón estacional (Figura 1), la mayor cantidad de muestras positivas a *F. hepatica* se detectaron en los meses de julio y agosto (13.2 y 16.2 %), seguido de marzo y abril (9.2 %). Durante la época de lluvias el 11.8 % de las muestras fueron positivas a *F. hepatica* (Tabla 1), y se relacionó con la temporada (*F. hepatica*: $X^2 = 14.198$ gl: 2, $p = 0.001$) y coincide con lo reportado para climas tropicales en ganado bovino (Schillhorn van Veen 1980, Keyyu *et al.* 2005). La presencia de mayor cantidad de animales eliminando huevos de *F. hepatica* sugiere que los animales se infectaron al final de la estación de secas (mayo-junio) y al final de la época de nortes (enero-febrero), considerando que el periodo desde la ingestión de la metacercaria hasta la eliminación de huevos es de 10 a 14 semanas (Ross 1967). En el caso de *Paramphistomum spp*, la mayor cantidad de muestras positivas se detectó en los meses de julio (72.1 %) y diciembre (48.5 %). Durante la época de lluvias se detectó la mayor cantidad de muestras positivas (41.9 %) que en la de nortes y secas (*Paramphistomum spp*: $X^2 = 121.554$, gl=2, $p = 0.000$). Al respecto, Rangel-Ruiz *et al.* (2003) menciona que en el estado de Tabasco, la

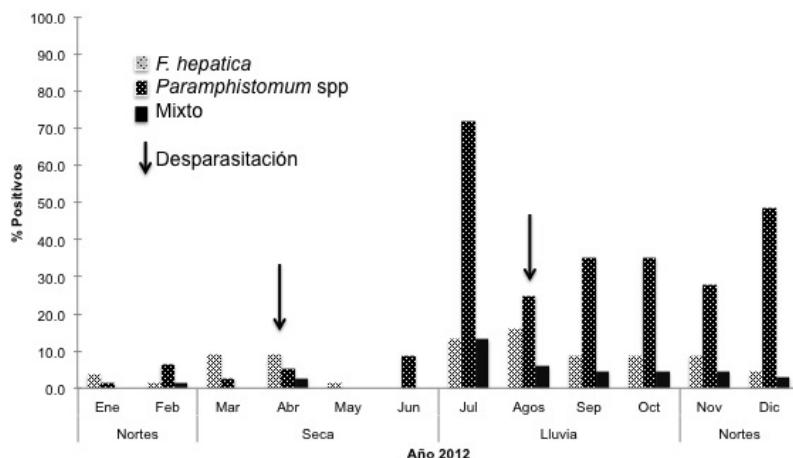


Figura 1. Frecuencia mensual de muestras positivas a huevos de trematodos de *Fasciola hepatica*, *Paramphistomum spp* y parasitosis mixta (*F. hepatica* + *Paramphistomum spp*) en bovinos bajo sistema de pastoreo en una zona endémica de Tabasco.

Figure 1. Monthly frequency of samples positive to eggs of *Fasciola hepatica*, *Paramphistomum spp* and both trematodes (*F. hepatica* + *Paramphistomum spp*) in cattle in a grazing system in an endemic area of Tabasco.

Tabla 1. Porcentaje de muestras positivas a *F. hepatica*, *Paramphistomum spp* y a ambos parásitos (*F. hepatica* + *Paramphistomum spp*) durante la época de secas, lluvias y nortes en el año 2012.

Table 1. Percentage of positive samples to *F. hepatica*, *Paramphistomum spp* and both parasites (*F. hepatica* + *Paramphistomum spp*) during the dry, rainy and northerly seasons of the year 2012.

	Seca (Mar-Jun) (n = 296)*	Lluvias (Jul-Oct) (n = 272)*	Nortes (Nov-Feb) (n = 293)*	Total (n=861)	Valor de p (X ²)
<i>F. hepatica</i>					
% positivos	5.1	11.8	4.4	7.0	0.001
<i>Paramphistomum spp</i>					
% Positivas	4.1	41.9	19.8	21.4	0.000
Mixto					
% Positivas	0.7	7.0	2.0	3.2	0.000

*El número de muestras por época corresponde a la suma de muestras en el periodo (ene= 80, feb= 77, mar-may= 76, jun-dic= 68)

mayor cantidad de animales infectados con *P. cervi* ocurre durante la época de lluvias (julio-octubre) y de nortes (noviembre-febrero), y en coincidencia con otros trabajos su presencia se relaciona con la época de mayor precipitación pluvial (Szmidt-Adjidé *et al.* 2000, Khajuria *et al.* 2013). En el mes de julio, el 100 % de las muestras positivas a *F. hepatica* fueron también positivas a *Paramphistomum* (parasitismo mixto) y para los meses de agosto a diciembre se detectó 50 % de las muestras con ambos parásitos. Lo que sugiere la coexistencia den-

tro del hospedero definitivo y también que pudieran compartir el mismo hospedador intermedio de la familia Lymnaeidae (Percedo 1989, Abrois *et al.* 1999). El incremento en la cantidad de muestras positivas es la evidencia de que mayor cantidad de animales eliminan huevos al medio ambiente, con lo que aumenta el potencial infectante de la pradera. Por otro lado el desarrollo del miracidio dentro del huevo depende de la temperatura (26 °C bajo condiciones de laboratorio) siendo el factor limitante la humedad (Rojo-Vázquez 2012). En el

Tabla 2. Promedio, máxima y mínima de temperatura ($^{\circ}\text{C}$), porcentaje de humedad y precipitación pluvial (mm) por mes y anual registrados durante el año 2012 en la zona de Jalapa, Tabasco.

Table 2. Mean, maximum and minimum temperatures ($^{\circ}\text{C}$), percentage of humidity and rainfall (mm) per month and for the year recorded during 2012 in the area of Jalapa, Tabasco.

Mes	Temp $^{\circ}\text{C}$				
	Media	Max	Min	Humedad %	Precipitación Pluvial (mm)
Ene	24.3	30.1	18.5	85.9	6.4
Feb	24.6	29.9	19.4	84.6	2.2
Mar	27.0	34.3	19.7	76.4	0.7
Abr	27.8	35.5	20.0	74.3	0.0
May	29.4	36.3	22.4	73.6	6.1
Jun	29.2	35.5	22.9	74.1	10.7
Jul	28.9	35.6	22.3	69.3	3.6
Agos	28.8	34.9	22.8	71.4	11.5
Sept	28.8	35.1	22.5	83.3	11.9
Oct	27.7	33.7	21.5	86.9	4.9
Nov	24.6	32.4	16.9	81.5	0.0
Dic	24.9	31.9	17.8	84.6	1.5
Prom/anual	27.2	33.8	20.6	78.81	5.0

(Fuente: CNA, 2012)

año 2012, el promedio anual de temperatura fue de $27.2\ ^{\circ}\text{C}$, con variaciones de uno a dos grados (Tabla 2), la mayor temperatura promedio se registró en la época de seca (marzo a junio), que correspondería al periodo de ingestión de metacercarias, los meses con mayor precipitación pluvial fueron junio ($10.72\ \text{mm/mes}$), agosto ($11.48\ \text{mm/mes}$) y septiembre ($11.85\ \text{mm/mes}$), periodo cuando iniciaría la eliminación de los huevos al medio ambiente y se aumenta la probabilidad de éxito de desarrollo de los huevos a miracidio y luego a metacercaria y con eso garantizar la continuidad del ciclo.

En mayo y septiembre, se detectó menor cantidad de muestras positivas a *F. hepatica* después de la administración del Triclabendazol (TCBZ), posiblemente por el efecto depresor del producto sobre la producción de huevos (Ibarra-Velarde et al. 2001, Tonner et al. 2011). El número de muestras positivas a *Paramphistomum spp* pos administración del TCBZ, en el mes de mayo disminuyó a cero y en septiembre se incrementó respecto al mes anterior.

La frecuencia total de *F. hepatica* y *Paramphistomum spp* fue 7 y 21.4 %, respectivamente. La prevalencia reportada para el estado de Tabasco es 19.70 %, lo cual es superior a lo encontrado en

este trabajo. A nivel mundial se reportan prevalencias de *F. hepatica* de 0.72 a 94 % dependiendo de las condiciones climáticas y orográficas de la región (Bundy et al. 1983). El municipio de Jalapa, Tabasco, está localizado en una zona de alta prevalencia de *F. hepatica* debido a la presencia de ríos y a las condiciones orográficas y climáticas que favorecen la presencia del hospedero intermediario (Rangel-Ruiz y Martínez-Duran 1994).

Existen dos trabajos que reportan estudios en los que la prevalencia de *Paramphistomum spp* varió desde 0.06 % en el estado de México y 40 % en Tabasco. En México, este parásito ha sido poco estudiado o la información no esta disponible. Por su parte, Rangel-Ruiz et al (2003) en un estudio realizado en un rastro bovino, reportan para el municipio de Jalapa (Tabasco) una prevalencia anual de 46.6 %, registrando variaciones a lo largo de las épocas del año, lo que es superior al 21.4 % detectado en el presente trabajo, que se realizó en la misma zona reportada por el autor.

El conocimiento de la dinámica poblacional de los parásitos trematodos *F. hepatica* y *Paramphistomum spp*, a partir de heces de animales bajo pastoreo brinda la oportunidad de avanzar en el

conocimiento de la epidemiología de ambos parásitos, para proponer medidas de control. Se sugiere continuar con estudios en los que se determine el grado de eliminación de huevos por gramo de heces de ambos parásitos, para conocer la severidad de las cargas en diferentes épocas del año, así como realizar estudios en los que se detecte la presencia de *F. hepatica* por medio de pruebas serológicas en animales con infecciones tempranas.

AGRADECIMIENTOS

Al Fondo Mixto CONACYT-Gobierno del Estado de Tabasco, por el apoyo del proyecto Pro-

grama de control de la Fasciolosis bovina en el Estado de Tabasco. Al Ing. Ricardo Priego Rocha por las facilidades y apoyo para la realización de este trabajo. Al Técnico MVZ Cruz Ulin-Izquierdo por su invaluable ayuda en la lectura de las muestras. Al M. en C. Carlos Baak Baak, por la ayuda y asesoría en los análisis estadísticos. A los estudiantes de MVZ-UJAT, Aldo Hernández C, Adrián Ventura, Benjamín Pérez Díaz, Andrés Torres Sánchez, Felipe Campos Rodríguez, José Frías de la Cruz, Plinio Lastra Sala y Elizabeth Castro Solís.

LITERATURA CITADA

- Abrois M, Rondelaud D, Dreyfuss G (1999) *Paramphistomum daubneyi* and *Fasciola hepatica*: influence of temperature changes on the sheedding of cercarie from dually infected *Lymnaea tuncatula*. Parasitology Research 85: 765-769.
- Bundy DAP, Arambulo PV, Grey CL (1983) Fasciolasis in Jamaica: epidemiologic and economic aspects of snail-borne parasitic zoonosis. Bulletin Panamerican Animal Health 17: 243-258.
- Cawdery MJH, Strickland KL, Kondway A, Crowe PJ (1997) Production effects of liver fluke in cattle. The effects of infection on live weight gain, food intake and food conversion efficiency in beef cattle. British Veterinary Journal 133: 145-158.
- Claxton JR, Zambrano H, Ortiz P, Amorós C, Delgado E, Escurra E, Clarkson MJ (1997) The epidemiology of fasciolosis in the inter-Andean valley of Cajamarca, Peru. Parasitology International 46: 281-288.
- Cordero del Campillo M, Rojo FD, Martínez AR, Sánchez MC, Hernández S, Navarrete I, Diez P, Quiroz H, Carvalho M (1999) Parasitología Veterinaria. Mc-Graw Hill Interamericana. Madrid: 968 p.
- De Dios-Vallejo OO (2001) El medio ambiente tropical. En: Ecología de los bovinos en sistemas de producción del trópico húmedo. Colección José N. Rovirosa. Edit. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Tabasco, México. pp: 17-39.
- Gobierno del Estado de Tabasco (2006). Enciclopedia de los municipios de México. Ed. Gobierno del Estado de Tabasco. pp: 247-248.
- Ibarra-Velarde F, Vera-Montenegro Y, Nájera FR, Sanchez AA (2001) Efficacy of combined chemotherapy against gastrointestinal nematodes and *Fasciola hepatica* in cattle. Veterinary Parasitology 99: 199-204.
- Kapplan RM, Dame JB, Reddy GR, Courtney CH (1997) The prevalence of *Fasciola hepatica* in its snails intermediate host determinated by DNA probe assay. International Journal Parasitology 27: 1585- 1593.
- Keyyu JD, Monrad J, Kyvsgaard NC, Kassuku AA (2005) Epidemiology of *Fasciola hepatica* and Amphistomes in cattle on traditional, small scale Dairy and Large scale dairy farms in the southern highlands of Tanzania. Tropical Animal Health and Production 37: 303-31.
- Khajuria JK, Katoch R, Anish Yadav, Godara R, Gupta SK, Ajitpal Singh (2013) Seasonal prevalence of gastrointestinal helminths in sheep and goats of middle agro-climatic zone of Jammu providence. Journal of Parasitic Diseases 37(1): 21-25.

- Percedo M L (1989) Infestación natural de *Fossaria cubensis*, Pfeiffer, 1839, por estadios larvarios de la familia Paramphistomidae. Revista Cubana Ciencia Veterinaria 2(4): 233-238.
- Rangel-Ruiz LJ (1994) *Fossaria viatrix* Orbigny, hospedero intermedio de *Fasciola hepatica* Linnaeus en Tabasco, México. Walkeriana 7(17/18): 29-37.
- Rangel-Ruiz LJ, Gamboa AJ (2005) Estructura de la comunidad y dinámica poblacional de gasterópodos en una zona enzootica de fasciolosis en Tabasco, México. Acta Zoologica Mexicana 21: 79-85.
- Rangel-Ruiz LJ, Martínez-Duran E (1994) Pérdidas económicas por decomiso de hígados y distribución geográfica de las Fasciolasis bovina en el Estado de Tabasco, México. Veterinaria México 25(4): 327-331.
- Rangel-Ruiz LJ, Albores-Brahms ST, Gamboa-Aguilar J (2003) Seasonal trends of *Paramphistomum cervi* in Tabasco, México. Veterinary Parasitology 116: 217-222.
- Rangel-Ruiz LJ, Izquierdo MR, Nogueira BG (1999) Bovine fasciolosis in Tabasco, Mexico. Veterinary Parasitology 81: 119-127.
- Rojo-Vazquez FA, Meana A, Valcárcel F, Martínez-Valladares M (2012) Update on nematode sheep infections in sheep. Veterinary Parasitology 189:15-38.
- Ross JG (1967) Experimental infections of cattle with *Fasciola hepatica*: high level single infections in calves. Journal Helminthology 41: 217-222.
- Schillhorn van Veen TW, Folaranmi DOB, Usman S, Ishaya T (1980) Incidence of liver fluke infections (*Fasciola gigantica* and *Dicrocoelium hospes*) in ruminants in northern Nigeria. Tropical Animal Health and Production 12: 97-104.
- Soulsby EJL (1982) Helminth, Arthropod and Protozoa of domestic animals. 7th ed. Bailliere Tindall, London, UK. 809 p.
- Statistics (2010) Version 19.0. IBM Corp. Released Armonk, NY: IBM Corp.
- Szmidt-Adjidé V, Abrous M, Adjidé CC, Dreyfuss G, Lecompte A, Cabaret J, Rondelaud D (2000) Prevalence of *Paramphistomum daubneyi* infection in central France. Veterinary Parasitology 87: 133-138.
- Thursfield M (1990) Epidemiología veterinaria. Edi Acribia. Zaragoza, España. 339 p.
- Tonner E, Brennan GP, Hanna REB, Edgar HWJ, Fairwather I (2011) Disruption of egg formation by *Fasciola hepatica* following treatment in vitro with triclabendazole in the sheep host. Veterinary Parasitology 177: 79-89.
- Torgerson PR (2013) One world health: socioeconomic burden and parasitic disease control priorities. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.04.004>
- Urquhart GM, Armour J, Duncan JL, Dunn AM, Jennings FW (1996) Veterinary Parasitology. 2nd ed. Blackwell Science, Oxford, U.K.
- Valero MA, De Renzi M, Panova M, García-Bodelón MA, Periago MV, Ordoñez D, Mas-Coma S (2006) Crowding effect on adult growth pre-patent period and egg shedding of *Fasciola hepatica*. Parasitology 133: 453-463.