

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**  
**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**



**SENSIBILIDAD DE LA TÉCNICA DE SEDIMENTACIÓN  
NATURAL MODIFICADA POR ROJAS Y TORREL EN EL  
DIAGNÓSTICO DE FASCIOSIS EN BOVINOS, UTILIZANDO  
DIFERENTES CANTIDADES DE HECES**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de  
**MÉDICO VETERINARIO**

Presentada por la Bachiller  
**MARÍA NOEMI VALENCIA ALEGRIA**

Asesor  
**M.Cs. M.V. Juan de Dios Rojas Moncada**

**CAJAMARCA - PERÚ**  
**2017**

## DEDICATORIA

A mis padres: Eulogio y Margarita,  
que me apoyaron de manera  
incondicional en la parte moral y  
económico para llegar a ser una  
profesional.

A mi hermana: Emily Daniela,  
por estar siempre a mi lado y  
con sus ocurrencias alegrarme  
la vida día a día.

**NOEMI**

## **AGRADECIMIENTO**

Le agradezco a Dios, por haberme dado la vida y permitirme haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mis padres, que me apoyaron en cada momento, por los valores que me han inculcado y por haberme dado la oportunidad de terminar una carrera, sobre todo por ser un excelente ejemplo de vida a seguir.

A mis abuelitos Santiago y Sebastiana, por haberme apoyado de una u otra forma para la culminación de mi carrera.

A mi asesor de Tesis M.Cs. M.V. Juan de Dios Rojas Moncada, por brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y amplios conocimientos, así como también, haberme tenido la paciencia para guiarme durante todo el desarrollo de la tesis.

A la Universidad Nacional de Cajamarca, Facultad de Ciencias Veterinarias, por acogerme y formarme profesionalmente.

A todas las personas que me apoyaron y brindaron su amistad sincera, durante la culminación de mi carrera. A ellos mil gracias.

**NOEMI**

## RESUMEN

Este estudio se realizó con la finalidad de determinar la sensibilidad de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel en el diagnóstico de fasciolosis crónica en bovinos, utilizando 2 g, 3 g, 4 g, y 5 g de heces; respectivamente. Se utilizó 100 bovinos de diferente edad y sexo, positivos a *Fasciola hepatica* adultas en conductos biliares del hígado, observadas a la necropsia como prueba de oro. De cada animal al momento de la evisceración se extrajo muestra de heces del recto en aproximadamente 100 g y el hígado para examinarlo, la sensibilidad se calculó aplicando la fórmula  $VP/(VP+FN) \times 100$ . En los resultados se determinó una sensibilidad de  $92 \pm 5,3$  % cuando se utilizó 2 g, 3 g, 4 g de heces, respectivamente; y de  $95 \pm 4,3$  % cuando se utilizó 5 g de heces, que al ser comparada estadísticamente entre los diferentes gramos evaluados, no muestra diferencia significativa  $p < 0,05$ . Del mismo modo, no hay diferencia significativa al compararlo con la sensibilidad  $93 \pm 3,4$  % de la técnica cuando utiliza 1g de heces. Se concluye que es igual utilizar 2 g, 3 g, 4 g ó 5 g en la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel, considerándose una técnica eficiente para el diagnóstico de fasciolosis crónica en bovinos causada por *F. hepatica*.

**Palabras clave:** Sensibilidad, fasciolosis bovina, sedimentación.

## ABSTRACT

This study is carried out in order to determine the sensitivity of the natural sedimentation technique modified by Rojas and Torrel in the diagnosis of chronic fasciolosis in cattle, using 2 g, 3 g, 4 g, and 5 g of feces, respectively. We used 100 bovines of different age and sex, positive to adult *Fasciola hepatica* in liver bile ducts observed at necropsy as a gold test. From each animal at the time of evisceration, stool sample was extracted from the rectum in approximately 100 g and the liver was examined, for sensitivity calculated using the formula  $VP / (VP + FN) \times 100$ . In the results a sensitivity of  $92 \pm 5.3\%$  was determined when 2 g, 3 g, 4 g of feces were used, respectively; and  $95 \pm 4.3\%$  when 5 g of feces were used, which when compared statistically between the different grams evaluated did not show a significant difference  $p < 0.05$ . Similarly, there is no significant difference when compared to the  $93 \pm 3.4\%$  sensitivity of the technique when using 1 g feces. It is concluded that it is the same as using 2 g, 3 g, 4 g or 5 g in the natural sedimentation technique modified by Rojas and Torrel, being considered an efficient technique for the diagnosis of chronic fasciolosis in cattle caused by *F. hepatica*.

**Key words:** Sensitivity, bovine fasciolosis, sedimentation.

## ÍNDICE

**DEDICATORIA**

**AGRADECIMIENTO**

**RESUMEN**

**ABSTRACT**

<b>CAPÍTULO I</b>	<b>Pág.</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
Objetivos.....	3
<b>CAPÍTULO II</b>	
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	4
2.1. Antecedentes de la investigación .....	4
2.2. Base teórica .....	5
2.2.1. Fasciolosis .....	5
2.2.2. Técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel.....	12
<b>CAPÍTULO III</b>	
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	14
3.1. Localización del trabajo de investigación.....	14

3.2. Materiales y equipos.....	15
3.2.1. Material biológico.....	15
3.2.2. Material de trabajo de campo .....	15
3.2.3. Material y equipo de laboratorio .....	15
3.3. Metodología .....	16
3.3.1. Determinación del tamaño de muestra .....	16
3.3.2. Trabajo en campo .....	17
3.3.3. Trabajo en laboratorio .....	18
3.3.4. Estadística .....	19
3.3.5. Análisis de datos .....	19
<b>CAPÍTULO IV</b>	
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>21</b>
<b>CAPÍTULO V</b>	
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>24</b>
<b>CAPÍTULO VI</b>	
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>27</b>
<b>CAPÍTULO VII</b>	
<b>LISTA DE REFERENCIAS .....</b>	<b>28</b>
<b>ANEXO .....</b>	<b>31</b>
Anexo 1. Figuras que registran la localización del trabajo de tesis y la metodología utilizada en campo .....	32
Figura 1. Localización: Instalaciones del matadero municipal provincial de Cajamarca .....	32

Figura 2. Material biológico: Bovinos .....	32
Anexo 2. Material y equipo de laboratorio de la Técnica Sedimentación Natural modificada por Rojas y Torrel .....	33
Figura 3. Equipo de laboratorio de la técnica en evaluación...	33
Anexo 3. Trabajo en el matadero municipal provincial de Cajamarca .....	34
Figura 4. Extracción e identificación de muestra de heces.....	34
Figura 5. Extracción del hígado y su codificación.....	34
Figura 6. Identificación del rumen .....	34
Figura 7. Verificación de la ausencia de <i>Calicophoron</i> <i>microbothrioides</i> estadio adulto .....	34
Figura 8. Inspección macroscópica del hígado .....	35
Figura 9. Hígado positivo a fasciolas adultas .....	35
Anexo 4. Trabajo en Laboratorio: Figuras que registran la ejecución del protocolo de la Técnica de Sedimentación Natural Modificada por Rojas y Torrel.....	36
Figura 10. Verificando la codificación de las muestras de heces .....	36
Figura 11. Pesando muestra de heces.....	36
Figura 12. Homogenizando con batidora eléctrica las heces en agua.....	36
Figura 13. Tamizando el material homogenizado.....	36
Figura 14. Reposo de 5 minutos para sedimentación en 2 g, 3 g, 4 g, 5g .....	37
Figura 15. Tres decantaciones para 2g, 3g, 4g, 5g de heces...	37
Figura 16. Teñido al sedimento con lugol fuerte .....	37



Figura 17. Sedimento teñido con lugol fuerte en la placa Petri para la observación .....	37
Figura 18. Realizando el diagnóstico en estereoscopio.....	37
Anexo 5. Estadística y análisis de datos.....	38
Tabla 4. Análisis de datos obtenidos de las técnicas de diagnóstico: Sedimentación Natural Modificada por Rojas y Torrel en relación a la necropsia como prueba confirmatoria en bovinos .....	38
Cálculo de la sensibilidad e intervalo de confianza.....	42

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

La fasciolosis ocasiona una inflamación del hígado y conductos biliares, con frecuencia de carácter crónico y acompañado de trastornos nutritivos. Afecta a bovinos, ovinos, caprinos, caballos, asnos, cerdos, conejos, y aun al hombre; es la enfermedad parasitaria más difundida en el mundo e importante en el ganado (Cordero y col., 1999; Adams, 2003; Olaechea, 2004). Se estima que aproximadamente, un cuarto de la población total de bovinos y ovinos del mundo pastorean en áreas donde existe la metacercaria de la *Fasciola hepatica* y el medio ambiente es favorable para su mantenimiento y dispersión (Nari y Fiel, 1995). La epidemiología de este trematodo depende de la presencia del hospedador intermediario (*Lymnaea*), condiciones óptimas de humedad y temperatura, factores topográficos y sistemas de pastoreo (Cordero y col., 1999).

En una investigación realizada con datos de registros de decomisos de hígados de bovinos por la presencia de *Fasciola hepatica* en los camales de la provincia de Cajamarca (Cajamarca y Baños del Inca), nos muestran una alta prevalencia de fasciolosis bovina, de 80,8 % a nivel provincial (Rojas y Palacios, 2009). Del mismo modo, se conoce que la prevalencia de fasciolosis bovina en el valle de Cajamarca es de 43±5%, investigación realizada utilizando la técnica de sedimentación natural con 2 g de heces (Torrel y col., 2015).

El diagnóstico de la fasciolosis, puede realizarse mediante la observación de la sintomatología, la utilización de técnicas específicas (biopatológicas, parasitológicas e inmunológicas) y los hallazgos de necropsia (Cordero y col., 1999). El diagnóstico se confirma por el hallazgo de huevos en las heces (Soulsby, 1987).

El método de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel (2013), tiene una sensibilidad de 93% en el diagnóstico de *F. hepatica* en bovinos, quedando una proporción de falsos negativos que en realidad podrían ser positivos, pues si utilizamos más de 1 g heces en la técnica mencionada, aumentaría su sensibilidad si usamos 2, 3, 4 ó 5 g de heces cuyos resultados servirán para hacer corrección de la tasa de la prevalencia de Fasciolosis bovina medida por coprología en futuros trabajos de investigación; por tal motivo se planteó la presente investigación.

## 1. OBJETIVOS

### 1.1. Objetivo general

Evaluar la sensibilidad de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel (2013) en el diagnóstico de *Fasciola hepática* en bovinos, utilizando diferentes cantidades de heces.

### 1.2. Objetivo específico:

Determinar la sensibilidad de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel (2013) en el diagnóstico de *Fasciola Hepática* en bovinos, utilizando 2 g, 3 g, 4 g ó 5 g de heces.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

En México, se reporta que el método de sedimentación para el diagnóstico de *Fasciola hepatica* en bovinos tiene una efectividad de 70 % cuando se utiliza 5 gramo de heces (Quiroz, 2011).

En la Universidad de Antioquia, Colombia; reportan el 73,2% de sensibilidad de la técnica modificada de Dennis para el diagnóstico de fasciolosis bovina. El protocolo utilizado fue el siguiente: 25 g de heces diluidas en 200 mL de agua, luego filtrado en un embudo con gasa doblada en cuatro y recibido en un vaso de precipitación de 500 mL de capacidad, seguidamente añadieron 300 mL de agua. La decantación fue por tres veces, el primer reposo para sedimentar de 20 minutos, el segundo reposo 15 minutos y el tercer reposo 10 minutos. Posteriormente, se agregó formalina al 5% al sedimento obtenido; la observación fue a 3,5 de aumento en un esteroscopio, de la mezcla de 0,5 ml del sedimento con 2 ml de agua del grifo en una caja Petri (Correa y col., 2016).

En la Universidad Nacional de Cajamarca, en una investigación se determinó que la sensibilidad del método de sedimentación de Dennis, Stone, Swanson modificada en el diagnóstico de *Fasciola hepatica* en bovinos fue de 79,80% confirmada a la necropsia; en este método se utilizó 3 gramos de heces, la homogenización de la muestra fue con bagueta, tres decantaciones, 5 minutos de espera por cada sedimentación, tamiz metálico de 48 hilos/pulg (Paredes, 1997). Sin embargo, en una reciente investigación en la Universidad Nacional de Cajamarca, se indica que la sensibilidad de la técnica de sedimentación

natural modificada por Rojas y Torrel en el diagnóstico de *Fasciola hepatica* en bovinos verificada a la necropsia es de  $93\% \pm 3,4\%$  (89,6% a 96,4%) cuando se utiliza 1 gramo de heces, la homogenización de la muestra realizada con batidora eléctrica de uso doméstico, tamiz de 80 hilos/pulg., una sola decantación, 5 minutos de espera para la sedimentación (Rojas y col., 2013).

## 2.2 BASE TEÓRICA

### 2.2.1. FASCIOSIS

- **Definición.** La fasciolosis es una enfermedad parasitaria que se debe a la presencia y acción de *Fasciola hepatica* en el parénquima y conductos biliares de bovinos, ovinos, caprinos, cerdos, equinos, conejos, hombre y animales silvestres, entre ellos los venados. Es un proceso crónico que produce trastornos digestivos y de la nutrición (Quiroz, 2011).
- **Sinonimia.** Alicuya, gusano del hígado, duela del hígado, jallo jallo, ccallutaca, dístoma, saguaype, palomilla del hígado, babosa y lengua (Leguía, 1991).
- **Etiología.** *Fasciola hepática*, trematodo más común del hígado. Los hospedadores son la mayoría de mamíferos herbívoros y los humanos, es prevalente en áreas templadas y regiones de gran altitud de los trópicos y subtrópicos (Kassai, 2002).
- **Taxonomía.** Pertenece al Phylum Platyhelminthes, Clase Trematoda, Sub clase Digenea, Familia Fasciolidae, Género *Fasciola*, Especie *hepatica*; referido por (Soulsby, 1987).
- **Morfología.** *Fasciola hepatica* adulta alcanza un tamaño de 30 mm x 13 mm, es de color marrón grisáceo y aplanado dorsoventralmente en forma de hoja (Minter y col., 1981). El extremo anterior tiene una prolongación cefálica de 3-4 mm de

longitud, hacia atrás se ensancha formando a modo de “hombros”, siguiendo luego el cuerpo propiamente dicho, inicialmente más ensanchado, pero a partir del primer tercio se estrecha, para terminar algo como (Borchert, 1964). El cuerpo posee espinas dirigidas hacia atrás (Urquhart, y col., 2001). Los órganos internos (aparato digestivo y reproductor) son ramificados, especialmente los ciegos, que son largos y con numerosos divertículos laterales; los dos testículos ocupan la parte media corporal; el cirro está bien desarrollado y la bolsa del cirro incluye también a la próstata y la vesícula seminal. El ovario y el útero están localizados anteriormente a los testículos, las glándulas vitelógenas formadas por finos folículos, ocupan márgenes laterales del trematodo. Los conductos de los folículos se unen formando dos conductos transversales que drenan en la glándula de Mehlis, desde la cual se comunican con el ootipo (Cordero y col., 1999). Los huevos miden 130-150 por 63-90 micras y no embrionados cuando son eliminados con las heces (Soulsby, 1987).

- **Localización.** El parásito en sus formas juveniles se localiza en el parénquima hepático y en su estado adulto en los conductos biliares y vesícula biliar (Borchert, 1964; Kassai, 2002), ocasionalmente se les encuentra en los pulmones del ganado y muy rara vez en algún otro órgano (Angus, 1983).
- **Ciclo de vida.** Los huevos abandonan el trematodo y llegan por los conductos biliares a la vesícula biliar donde pasan al duodeno con la bilis y salen del huésped con las heces al exterior sin embrionar (Borchert, 1964). Es necesario un medio hídrico para que puedan continuar su desarrollo, como charcos, canales de curso lento, etc. (Quiroz, 2011). Para su desarrollo los huevos requieren de su separación de la masa fecal y una temperatura ambiental que oscila entre 10 °C y 30 °C, siendo

indispensable estar recubiertos de una fina película de agua (Cordero y col., 1999). El desarrollo y nacimiento del miracidio ocurre a los 9 días a una temperatura de 26 °C, es ciliado y mide 150 x 40 micras, abandona el huevo por el opérculo (Quiroz, 2011). El desarrollo ulterior tiene lugar en un hospedador intermediario, un caracol del género *Lymnaea*, el miracidio es atraído hacia la superficie del agua por la acción fototrópica positiva de la mancha ocular donde llega hasta el caracol a través del pie del caracol penetra con ayuda de su espolón cefálico (Borchert, 1964).

El miracidio origina un agujero en el caracol *Lymnaea* a través del cual inyecta un conjunto de células blásticas, quedando la capa ciliada como desecho en el medio ambiente. Las células blásticas se originan en los tejidos del caracol, originando una cavidad que constituye la segunda forma larvaria, el esporocisto, en cuya pared interior se efectúa una primera reproducción asexual, dando lugar de 5 a 8 redias. Estas redias rompen el esporocisto y migran a otros tejidos como el hepatopáncreas, riñones, etc., y en su interior ocurre una segunda reproducción asexual llegando a formar de 15 a 20 cercarias por cada redia. Estas cercarias rompen la redia, abandonan el caracol; su desarrollo dentro del caracol demora alrededor de 6 a 7 semanas (Rojas, 1990). La cercaria se eliminan del caracol y se fijan en superficies sólidas, como hojas de hierbas, donde se enquistan y se transforman en metacercarias infectantes (Urquhart y col., 2001).

La infección de los rumiantes tiene lugar durante el pastoreo, aunque también es posible que ocurra en estabulación, mediante el agua de bebida o al administrar henos o ensilados mal realizados. El desenquistamiento de la metacercaria tiene lugar en dos fases. La primera o de activación acontece en el rumen y es activada por una alta concentración de dióxido de



carbono, ambiente reductor y temperatura de 39 °C; la segunda fase o emergencia ocurre en el intestino delgado, por debajo de la desembocadura del conducto colédoco y es desencadenada por la bilis y el propio parásito tras el desenquistamiento, las jóvenes fasciolas atraviesan la pared intestinal, pasan a la cavidad peritoneal desde allí alcanzan el hígado. A las 90 horas, comienza la penetración de la cápsula de Glisson, en este momento, las fasciolas tienen forma lanceolada y miden de 1-2 mm (Cordero y col., 1999). Migran y se alimentan de parénquima hepático durante 4-7 semanas, alcanzando finalmente los conductos biliares transformándose en adultos (Kassai, 2002).

- **Epidemiología.** *Fasciola hepatica* en el Perú, afecta a los animales que viven en todos los pisos altitudinales del país, con menos frecuencia la selva baja, y más frecuente en la región Quechua (Rojas, 1990). Se han reportado tasas de infección hasta del 100% a lo largo de la sierra que constituye una zona enzoótica de la enfermedad (Zaldívar, 1990).

Los requisitos necesarios para la fasciolosis son: hospedadores eliminadores de huevos, medios húmedos (manantiales, cursos lentos de agua con orillas pantanosas, canales de riego, charcos con pH ligeramente ácido, especies de caracoles adecuados (Kassai, 2002).

- **Patogenia.** La Fasciolosis aguda y subaguda, ocasionalmente se puede observar en terneros jóvenes, siendo la forma crónica la más importante en esta especie animal. En bovinos se presenta entre 2 y 6 semanas después de la ingestión de un gran número de metacercarias, generalmente 2 000, es debida a las graves hemorragias resultantes de la rotura de vasos sanguíneos durante la migración de las fasciolas juveniles por

el parénquima hepático, la lesión que producen en el parénquima hepático es también grave (Urquhart y col., 2001). La destrucción de tejidos y la irritación de conductos biliares causado por las espinas de la *Fasciola hepatica*, requieren reemplazo de células. La incapacidad del huésped de lograr un reemplazo completo celular, permite el derrame de proteínas sanguíneas dentro del conducto biliar y de éste al intestino (Minter y col., 1981).

La fasciolosis crónica en bovinos se manifiesta entre 4 y 5 meses después de la ingestión de un número moderado de metacercarias (200-500). Los principales efectos patógenos son anemia e hipoalbuminemia. Diariamente se pueden perder en los conductos biliares más de 0,5 mL de sangre por cada *Fasciola*, causando una anemia por deficiencia de hierro (Minter y col., 1981; Urquhart y col., 2001).

- **Hallazgos clínicos.** Depende del número de metacercarias ingeridas y de su capacidad de implantación (Cordero y col., 1999). Siendo los síntomas más frecuentes anemia, bajo rendimiento, edema submandibular, reducción en la secreción láctea (Merck y col., 1988).

Dolor a la palpación del hipocondrio derecho, distensión abdominal, problemas digestivos de tipo indigestión, algunas veces con diarrea, atonía ruminal, estreñimiento con apetito variable, disminución del proceso reproductivo, disminución en el desarrollo, pérdida de peso (Quiroz, 2011). Abatimiento, debilidad, inapetencia, caquexia, adelgazamiento. En caso de infestación masiva, muerte súbita (Mehlhorn y col., 1993).

- **Diagnóstico.** El diagnóstico de fasciolosis está basado en primer lugar en los síntomas, aparición estacional, antecedentes de fasciolosis en la explotación o de detección de los hábitats de los caracoles (Urquhart y col., 2001). Para llegar a un diagnóstico se utilizan varias técnicas. Éstas tienen como objetivo determinar la presencia de parásitos adultos o de distintos estadios evolutivos, ya sea forma directa o indirecta (Nuñez, 1987).

La forma indirecta se puede utilizar durante el periodo de la invasión a través de la determinación de las modificaciones bioquímicas, citológicas e inmunológicas (Quiroz, 2011). En cuanto a las modificaciones bioquímicas se estima por la presencia de enzimas plasmáticas liberadas como consecuencia de la lesión de las células hepáticas. La enzima glutamato deshidrogenasa (GLDH) se libera cuando las células parenquimatosas están dañadas y se incrementa durante las primeras semanas post infección. En tanto, que la liberación de la enzima gamma glutamil transpeptidasa (GGT) indica lesión en las células epiteliales que tapizan los conductos biliares y se incrementa especialmente una vez que las fasciolas alcanzan los conductos biliares, manteniéndose niveles elevados durante un periodo de tiempo más prolongado.

En la detección de anticuerpos mediante diagnóstico inmunológico está la técnica ELISA y la hemaglutinación pasiva, son los métodos más fiables para la detección de anticuerpos (Nari y Fiel, 1995; Urquhart y col., 2001).

En la forma directa es mediante el diagnóstico parasitológico, ésta se basa en la detección de huevos de *Fasciola hepatica* en las heces de los animales sospechosos, es útil para

diagnosticar la fasciolosis crónica (Cordero y col., 1999). La técnica de sedimentación es la más difundida y utilizada por su sencillez (Nari y Fiel, 1995; Kassai, 2002; Quiroz, 2011). En tanto que la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel alcanza un sensibilidad de 93% y especificidad de 91% (Rojas y col, 2013).

La eliminación de huevos de *F. hepática* es en forma intermitente (Borchert, 1964). Hay una variación entre las diferentes horas del día entre 5% y 10% que pueden ser falsos negativos. La identificación y cuantificación de huevos es posible después de tres meses de la infección (Quiroz, 2011).

El método de sedimentación se fundamenta en la mayor densidad de los huevos de los trematodos que los detritus que se hallan en las heces, lo que permite concentrarlos en el sedimento (Cordero y col., 1999). La densidad de los huevos de *F. hepatica* es de 1,2 (Ueno y Gonçalves,1998).

- **Tratamiento.** El tratamiento para la fasciolosis hepática va dirigido a destruir la migración de las fasciolas inmaduras y las adultas que se sitúan en los conductos biliares, para tal fin existen productos como: Clorsulón, Closantel, Nitroxinil, Triclabendazol, Rafoxanide, entre otros (Merck y col., 1988). La elección del fármaco debe basarse en el conocimiento de su eficacia frente a las diferentes fases del desarrollo de *Fasciola hepatica*; y la epidemiología local, que nos permite conocer cuando es mayor el riesgo de infección (Cordero y col., 1999).
- **Control.** La forma más importante y generalizada de control en todo el mundo es la aplicación estratégica de fasciolicidas, drenaje de las zonas encharcadas donde existen caracoles (Merck y col., 1988). Los tratamientos antihelmínticos deben

combinarse siempre con medidas adecuadas de manejo en las explotaciones (Kassai, 2002).

- **Importancia económica.** Las alteraciones estructurales y metabólicas que produce *Fasciola hepatica* son de factor limitante en la producción ganadera. Las pérdidas directas por muertes o decomisos son cuantiosas para la industria cárnica, aunque la mayor frecuencia de la forma subclínica hace que las pérdidas indirectas sean superiores. No obstante, son más difíciles de cuantificar y se refieren a la reducción de los índices de crecimiento y conversión, a la disminución de las producciones láctea y cárnica, a interferencias en la fertilidad y fecundidad, la mayor receptividad frente a otras infecciones, así como los gastos terapéuticos (Cordero y col., 1999).

Obviamente es difícil realizar un cálculo real de las pérdidas económicas atribuibles a esta enfermedad, ya que en el campo los animales son sometidos a infecciones mixtas por helmintos, sin embargo se han realizado estimados que permiten ubicar a la distomatosis como la segunda en importancia desde el punto de vista parasitario, con una pérdida relativa de 10.5 millones de dólares anuales, de los cuales 3.5 corresponden a mortalidad; 2.8, 2.2 y 0.3 a disminución de producción de carne, leche y lana, respectivamente; y 1.7 millones, a decomiso de hígados infectados (Zaldivar, 1990).

- 2.2.2. Técnica de Sedimentación Natural modificada por Rojas y Torrel.** Esta técnica se utiliza como diagnóstico cuantitativo (H.P.G) y cualitativo de huevos de *Fasciola* en heces de bovino. Es sencilla y práctica (Rojas y col., 2013).

## Sensibilidad

La sensibilidad, es la proporción de verdaderos positivos que son detectados por un método diagnóstico (Thrusfield, 1990).

$$S = \frac{PV}{PV+FN} \times 100$$

Donde:

S: Sensibilidad

PV: Positivos verdaderos

FN: Falsos negativos

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Localización del trabajo de investigación

La presente investigación se realizó en el Camal Municipal de Cajamarca (Anexo 1. Fig. 1) y en el Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca.

El distrito de Cajamarca, presenta las siguientes características geográficas y climatológicas (\*):

Altitud	: 2 720 msnm
Latitud sur	: 7° 10'
Longitud Oeste	: 78° 30'
Clima	: Templado seco
Temperatura media anual	: 15,4 °C
Temperatura mínima media anual	: 8,9 °C
Temperatura máxima media anual	: 22,04 ° C
Precipitación pluvial anual	: 707,4 mm
Humedad relativa media anual	: 62,9 %
Brillo solar media anual	: 5,5 horas/día
Presión barométrica	: 740,5 milibares

---

(\*)Fuente: Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología SENAMHI, Cajamarca.2015.

## **3.2. Materiales y equipos**

### **3.2.1. Material biológico**

100 bovinos de diferente edad y sexo. Positivos a *Fasciola hepatica* (Anexo 1, Fig. 2).

### **3.2.2. Material de trabajo de campo**

- Mameluco
- Botas de jebe
- Cuchillos
- Bolsas de polietileno
- Guantes de látex quirúrgicos
- Equipo de disección
- Lápiz de tinta indeleble
- Formatos para registro de datos
- Tablero
- Cámara fotográfica digital

### **3.2.3. Material y equipo de laboratorio: (Anexo 2, Fig. 3)**

- Balanza de precisión de medición en gramos y hasta centigramos (marca Kern).
- Vasos plásticos de 400 mL de capacidad, 8 cm de diámetro superior, 6 cm de diámetro inferior; 10,5 cm de altura.
- Batidora eléctrica de uso doméstico de 7 velocidades (marca Continental).
- Embudo de 8 cm de diámetro de apertura, con malla metálica de 5,5 cm de diámetro, 80 hilos /pul, 213 micras de orificio.
- Vasos de vidrio cónico de 260 mL de capacidad, 7 cm de diámetro superior, 2 cm de diámetro inferior, 12 cm de altura.



- Placas Petri de vidrio, de 10 centímetros de diámetro, 1 cm de altura, marcadas con líneas paralelas de 1 centímetro de separación.
- Estereoscopio con luz incorporada.
- Estilete (jeringa tuberculina).
- Lápiz de tinta indeleble.
- Lugol parasitológico fuerte: 5 g de Yodo metálico + 10 g Yoduro de potasio + 100 mL Agua.

**3.3. Metodología.** La investigación es de naturaleza aplicada, explicativa y transversal.

### **3.3.1. Determinación del tamaño de muestra**

El tamaño de muestra se tomó teniendo en cuenta que la sensibilidad de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel utilizando 1 gramo de heces tiene una sensibilidad de 93%, con un margen de error máximo aceptar de 5% y un nivel de confianza del 95%. Aplicando la siguiente fórmula: (Thrusfield, 1990).

$$n = \frac{Z^2 \cdot p \cdot q}{e^2}$$

Leyenda:

Z = nivel de confianza o seguridad: 1,96

p = proporción esperada o a favor: 0,93

q = 1 – p, proporción en contra: 0.07

e = precisión o margen de error máximo: 5%

Datos:

$$\begin{aligned} Z &= 1,96 \\ p &= 0,93 \\ q &= 1 - 0,93=0,07 \\ e &= 5\% \end{aligned}$$

$$n = \frac{(1.96)^2 \times (0.93) \times (0.07)}{(0.05)^2} = 100$$

### 3.3.2. Trabajo en campo

#### Toma de muestra

En horas de la mañana, inmediatamente después de la evisceración de cada animal, se procedió al trabajo de campo, que comprendió en dos actividades:

- **Primera actividad.** Por presión del recto se extrajo una muestra de heces en aproximadamente de 100 g y fue colectada en una bolsa de polietileno, con su respectiva codificación con un número correlativo del 001 al 100 (Anexo 3, Fig. 4). Fueron almacenadas en una caja tecnopor y transportadas al laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias, para su análisis.
- **Segunda actividad.** Extraído el hígado, se lo codificó con el mismo número correlativo que se colocó en la muestra de heces. Esta numeración se realizó con bisturí, en la superficie parietal y fue trasladado a la mesa de inspección para su revisión (Anexo 3, Fig. 5).

**Examen macroscópico del hígado (necropsia).** En la mesa de inspección sanitaria del Camal, el hígado fue colocado con la superficie visceral a la vista para realizar cortes transversales de los canalículos biliares y determinar la presencia o ausencia de fasciolas adultas (Anexo 3, Figs. 8 y 9). La necropsia se consideró como prueba confirmatoria.

### **3.3.3. Trabajo en laboratorio**

Protocolo del método de sedimentación natural modificado por Rojas y Torre: (Anexo 4, Figs. 10 a 18).

1. Homogenizar la muestra total de heces obtenida directamente del recto (aproximado 100 g).
2. En un vaso de plástico de 400 ml de capacidad, pesar 2 g, 3 g, 4 g ó 5 g de heces; respectivamente.
3. Agregar aproximadamente 200 ml de agua de caño, homogenizar la muestra con una batidora eléctrica (batidora doméstica de mano) por aproximadamente 10 segundos.
4. Pasar por un embudo con malla metálica de 80 hilos por pulgada hacia otro vaso de vidrio de forma cónica de 250 mL de capacidad, agregar más agua de caño hasta llenar a 1 cm del borde del vaso.
5. Dejar reposar por 5 minutos.
6. Decantar el sobrenadante dejando aproximadamente 15 mL de sedimento en el vaso.  
Hubo una variante en la decantación. El número de decantaciones fue de tres veces cuando se utilizó 2, 3, 4 y 5 g de heces; respectivamente.
7. Colocar 3 gotas de lugol fuerte y esperar 5 minutos para colorear los huevos.

8. Vaciar el sedimento a una placa petri rayada y observar al estereoscopio a 16 aumentos (10x ocular por 1,6x de objetivo).

También, hubo una variante en este paso del protocolo. El sedimento fue dividido hasta en tres placas Petri para la observación, debido al abundante sedimento.

### **Criterio de inclusión**

Solamente fueron incluidos los animales que no presentaron estadios adultos de *Calicophoron microbothrioides* en rumen (Anexo 3, Figs. 6 y 7).

- 3.3.4. Estadística.** Se aplicó la fórmula de sensibilidad, intervalo de confianza, cuadros y tablas.

$$S = \frac{PV}{PV+FN} \times 100$$

Leyenda:

S: Sensibilidad

PV: Positivos verdaderos

FN: Falsos negativos

### **Intervalo de confianza:**

$$I.C. = p \pm z \sqrt{\frac{p \cdot q}{n}}$$

### **3.3.5. Análisis de datos**

Se comparó los resultados obtenidos de la necropsia y de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel, en 2 g, 3 g, 4 g, 5g; respectivamente.

En el resultado de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel, se consideró como resultado positivo a *F. hepatica*, cuando se observó al menos 1 huevo en el sedimento de la muestra de heces en 2g, 3g, 4g, 5g, respectivamente; y como resultado negativo a *F. hepatica*, cuando hubo ausencia de huevos en el sedimento de la muestra de heces en 2 g, 3 g, 4 g, 5 g, respectivamente.

El diagnóstico definitivo se consideró a la necropsia como prueba confirmatoria a la presencia de *F. hepatica* en conductos biliares del hígado.

En el análisis de datos se determinó verdaderos positivos (VP) y falsos negativos (FN); que a continuación se indica:

- **Verdaderos positivos (VP).** Se consideró a aquellos bovinos infectados con la presencia de *F. hepatica* en conductos biliares y que dieron positivos a la Técnica de Sedimentación Natural Modificada por Rojas y Torrel (Anexo 5, cuadro 1).
- **Falsos negativos (FN).** Se consideró a aquellos bovinos infectados con la presencia de *F. hepatica* en conductos biliares, pero que dieron como resultado negativos a la Técnica de Sedimentación Natural Modificada por Rojas y Torrel (Anexo 5, cuadro 1).

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS

Tabla 1. Análisis de los resultados obtenidos entre la Técnica de Sedimentación Natural Modificada por Rojas y Torrel, utilizando 2 g, 3 g, 4 g de heces comparada con la necropsia como prueba confirmatoria de una población de 100 animales.

<b>Resultado de la Técnica de Sedimentación Natural Modificada por Rojas y Torrel</b>	<b>Necropsia como Prueba confirmatoria</b>
	<b>POSITIVO</b> Presencia de <i>F. hepatica</i> adulta en conductos biliares
<b>POSITIVO</b> (Presencia de huevos)	Verdaderos positivos (VP) (92)
<b>NEGATIVO</b> (Ausencia de huevos)	Falsos negativos (FN) (08)
<b>TOTAL</b>	100

Tabla 2. Análisis de los resultados obtenidos entre la Técnica de Sedimentación Natural Modificada por Rojas y Torrel, utilizando 5 g de heces comparada con la necropsia como prueba confirmatoria de una población de 100 animales.

<b>Resultado de la Técnica de Sedimentación Natural Modificada por Rojas y Torrel</b>	<b>Necropsia como Prueba confirmatoria</b>
	<p style="text-align: center;">POSITIVO</p> <p>Presencia de <i>F. hepatica</i> adulta en conductos biliares</p>
<p style="text-align: center;">POSITIVO (Presencia de huevos)</p>	<p style="text-align: center;">Verdaderos positivos (VP) (95)</p>
<p style="text-align: center;">NEGATIVO (Ausencia de huevos)</p>	<p style="text-align: center;">Falsos negativos (FN) (05)</p>
<p style="text-align: center;">TOTAL</p>	<p style="text-align: center;">100</p>

Tabla 3. Sensibilidad de la Técnica Sedimentación Natural Modificada por Rojas y Torrel, en el diagnóstico de Fasciolosis crónica en bovinos, utilizando diferentes g de heces de una población de 100 animales.

$S = \frac{PV}{PV + FN} \times 100$	Cantidad de muestra de heces utilizada en la técnica	Sensibilidad	Intervalo de confianza
	(g)	(%)	(%)
Sensibilidad (92/100) x 100	2	92 ± 5,3	(86,7 a 97,3)
Sensibilidad (92/100) x 100	3	92 ± 5,3	(86,7 a 97,3)
Sensibilidad (92/100) x 100	4	92 ± 5,3	(86,7 a 97,3)
Sensibilidad (95/100) x 100	5	95 ± 4,3	(90,7 a 99,3)



## CAPÍTULO V

### DISCUSIÓN

Para llegar a un diagnóstico de la fasciolosis se utilizan distintas técnicas, para determinar la presencia de parásitos adultos o de distintos estadios evolutivos, ya sea forma directa o indirecta (Nuñez, 1987). En la forma directa es mediante el diagnóstico parasitológico, basada en la detección de huevos de *Fasciola hepatica* en las heces de los animales sospechosos. El método de sedimentación se fundamenta en la mayor densidad de los huevos de los trematodos que los detritus que se hallan en las heces, lo que permite concentrarlos en el sedimento (Cordero y col., 1999).

Los resultados obtenidos de la Técnica de Sedimentación Natural Modificada por Rojas y Torrel utilizando 2 g, 3 g, 4 g de heces y la necropsia como prueba diagnóstica confirmatoria en la fasciolosis bovina, se observa que de 100 bovinos positivos a la presencia de *F. hepatica* adulta, resultaron 92 positivos a la técnica evaluada, es decir 92 verdaderos positivos y 08 falsos negativos (Tabla 1). Datos que al ser procesados dieron una sensibilidad de 92% con un intervalo de confianza de  $\pm 5,3\%$ , (Tabla 3).

En 5 g de heces se obtuvo 95 verdaderos positivos y 05 falsos negativos (Tabla 2), dando una sensibilidad de 95% con un intervalo de confianza de  $\pm 4,3\%$ , (Tabla 3).

Los resultados de sensibilidad de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel, nos muestra que estadísticamente no hay diferencia significativa, cuando se utiliza 2 g, 3 g, 4 g ó 5g de heces, respectivamente; debido a que los márgenes de intervalo de confianza  $p < 0,05$  están comprendidos entre los valores extremos de 86,7% a 97,3% y de 90,7% a 99,3% cuando se utiliza 5 g de heces.

De igual modo, no hay diferencia significativa comparando con la utilización de 1g de heces cuya sensibilidad reportada es de 93% con un intervalo de confianza de  $\pm 3,4\%$ , debido a que sus valores extremos están entre 89,6% a 96,3%.

Sin embargo, nuestros resultados son mayores al reportado por Paredes (1997), quien indica que la sensibilidad del método de sedimentación de Dennis, Stone, Swanson modificada en el diagnóstico de *F. hepatica* en bovinos es de 79,80 % confirmada a la necropsia; en este método se utilizó 3 gramos de heces, la homogenización de la muestra fue con bagueta, tres decantaciones, 5 minutos de espera por cada sedimentación, tamiz metálico de 48 hilos/pulg.

De igual modo, la técnica evaluada tiene mayor sensibilidad al referido por Quiroz (2011), que manifiesta que el método de sedimentación para el diagnóstico de *Fasciola hepatica* en bovinos tiene una efectividad de 70 % cuando se utiliza 5 gramo de heces.

Así mismo, es mayor a lo señalado por Correa y col., (2016), quienes encuentran una sensibilidad de 73,2% de sensibilidad de la técnica modificada de Dennis para el diagnóstico de fasciolosis bovina cuando utilizan 25 g de heces, como filtro utilizan gasa doblado en cuatro, tres decantaciones.

La sensibilidad de la técnica evaluada, consideramos que es una prueba bastante eficiente debido a que es capaz de detectar el 92% de probabilidad de verdaderos positivos a la presencia de *Fasciola hepatica* en estadio adulto en conductos biliares de bovinos, lo cual podría deberse a

que en el protocolo de la Técnica de Sedimentación Natural Modificada por Rojas y Torrel, para la homogenización de las heces con el agua el uso de la batidora eléctrica; hace suponer que los movimientos a alta velocidad realizado por este artefacto los huevos sean desprendidos en su totalidad de las fibras vegetales o de otras detritus presentes en las heces, probablemente no logrado con la utilización de la bagueta que utilizan otros autores en modificaciones de la técnicas de sedimentación. Asimismo, el estilete que se usa para la separación del sedimento en la base de la placa Petri en el transcurso de la observación nos da una alta probabilidad de evitar un diagnóstico que resulte un falso negativo debido a que un huevo podría estar tapado con alguna partícula del sedimento, la utilización de la placa Petri con rayas paralelas a 10 mm de separación forman columnas que asegura la observación de toda el área de la base de la placa debido a que cuando se utiliza estereoscopio a 16 aumentos (1,6x de objetivo y 10x de ocular), la observación cubre el ancho de cada columna.

La presencia de falsos negativos, podría ser a que las fasciolas hayan estado en periodo prepatente lo cual concordaría con Quiroz (2011), quien señala que los resultados pueden ser falsos negativos a la técnica de sedimentación cuando la *F. hepatica* no está en periodo patente, es decir, antes de los tres meses pos infección; indica también que debe considerarse que en la eliminación de huevos hay una variación entre las diferentes horas del día de 5% y 10%. También podría deberse a otros factores como por ejemplo la poca cantidad de heces presentes en el recto, la reducida carga parasitaria de fasciolas adultas en estadio reproductivo del trematodo en conductos biliares, la poca cantidad de muestra de heces utilizada en la técnica.

## **CAPÍTULO VI**

### **CONCLUSIONES**

Bajo las condiciones de la evaluación de la Técnica de Sedimentación Natural Modificada por Rojas y Torrel, en el diagnóstico de Fasciolosis bovina se llegó a la siguiente conclusión:

- ✓ Estadísticamente, es igual la sensibilidad de la Técnica de Sedimentación Natural Modificada por Rojas y Torrel en el diagnóstico de Fasciolosis crónica en bovinos cuando se utiliza 2 g, 3 g, 4 g y 5 g de heces.

## CAPÍTULO VII

### LISTA DE REFERENCIAS

**Adams, H. 2003.** Farmacología y terapéutica veterinaria, 2ª edición, editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. p1055.

**Angus, M. 1983.** Helmintología Veterinaria. 2ª Edición. Editorial El Manual Moderno, S.A. México. pp112-120.

**Borchert, A. 1964.** Parasitología Veterinaria, 3ª Edición, Editorial Acribia, S.A. Zaragoza-España. pp45-81.

**Cordero, M., Rojo, F., Martínez, A., Sánchez, M., Hernández, S., Navarrete, I., Diez, P., Quiroz, H., Carvalho, M. 1999.** Parasitología Veterinaria, 1ª Edición, Editorial Mcgraw-Hill-Inteamericana. Madrid, España. pp260-271.

**Correa, S., Martínez, Y., López, J., Velásquez, L. 2016.** Evaluación de la técnica modificada de Dennis para el diagnóstico de fasciolosis bovina. Disponible en:

<http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/2875/312>

3. Consultado el 15 de noviembre de 2016.

**Kassai, T. 2002.** Helmintología Veterinaria, 1ª Edición. Editorial Acribia S.A., Zaragoza-España. 2002. pp4-10.

**Leguía, G. 1991.** Distomatosis hepática en el Perú: Epidemiología y control. 2ª Edición. Editorial Hoechst. Lima - Perú. p8.

**Mehlhorn, H., Duwel, D., Raether, W. 1993.** Manual de Parasitología Veterinaria. 1ª Edición. Editorial Grass-Iatros. Colombia. p203.

**Merck, C., Amstutz, H., Archibald, J., Armour, J., Blood, D., Newberne, P., Snoeyenbos, G. 1988.** El Manual Merck de Veterinaria: Un manual de diagnóstico, tratamiento, prevención y control de las enfermedades, para el veterinario. 3ª Edición. Editorial Centrum. Madrid-España. pp245-246.

**Minter, P., Yakstis, J., Johnstone, C. 1981.** Parásitos de los bovinos. Editorial MSD AGVET. New Jersey-U.S.A. pp 50-51.

**Nari, A., Fiel, C. 1995.** Enfermedades Parasitarias de Importancia Económica en Bovinos. Bases epidemiológicas para su prevención y control. Editorial Hemisferio Sur. Montevideo – Uruguay. p 233.

**Nuñez, J. 1987.** Fundamentos de Parasitología Veterinaria. 1ª Edición. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires-Argentina. p 7-13.

**Olaechea, F. 2004.** Comunicación Técnica N° 449, Área producción animal - *Fasciola hepatica*; Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, argentina 2004. Disponible en:  
[www.produccionanimal.com.ar/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/parasitarias/parasitarias\\_bovinos/81-hidatidosis.pdf](http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/parasitarias/parasitarias_bovinos/81-hidatidosis.pdf) Consultado el 01 agosto 2016.

**Paredes, U. 1997.** Efectividad del análisis coproscópico en el diagnóstico de la fasciolosis comparado con la necropsia en vacunos y ovinos sacrificados en el camal municipal de Cajamarca. Tesis para optar título profesional de Médico Veterinario, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Cajamarca. Cajamarca- Perú. 54p.

**Quiroz, H. 2011.** Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos. Editorial Limusa S.A., México. pp232-250.

**Rojas, J., Palacios, S. 2009.** Impacto económico por decomiso de hígados infectados con *Fasciola hepatica* en camales de la Región Cajamarca, 2008. Trabajo de investigación docente, Universidad Nacional de Cajamarca, Perú. 24p

**Rojas, J., Torrel, S., Raico, M. 2013.** Validación de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel en el diagnóstico de fasciolosis crónica en bovinos, Cajamarca. Perú". (Resúmenes de la XXIII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal (ALPA) y IV Congreso Internacional de Producción Animal. La Habana- Cuba, 2013).

**Rojas, M. 1990.** Parasitismo de los Rumiantes Domésticos: Terapia, prevención y modelos para su aprendizaje 1ª Edición. Editorial MAIJOSA. Lima - Perú. pp112-117.

**Soulsby, E. 1987.** Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7ª Edición. Editorial Interamericana. México. pp4-48.

**Thrusfield, M. 1990.** Epidemiología Veterinaria. Zaragoza-España. Editorial Acribia S.A. pp 130-131.

**Torrel, T., Rojas, J., Vera, Y., Huamán, O., Plasencia, O., Oblitas, I. 2015.** Prevalencia de paranfistomidosis y fasciolosis en ganado bovino lechero del valle de Cajamarca-Perú. Resúmenes del XXIV Congreso de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal (ALPA) y XL Congreso de la Sociedad Chilena de Producción Animal Sochipa. A.G. Puerto Varas - Chile. p993.

**Urquhart, G., Armour, J., Duncan, J., Dunn, A., Jennings, F. 2001.** Parasitología Veterinaria, 2ª Edición, Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. pp117-126.

**Ueno, H., Gonçalves, P. 1998.** Manual para el diagnóstico de los helmintos de Rumiantes. 4ª Edición. Editorial Japan Internacional Cooperation Agency (JICA). Tokio, Japan. pp6,52-56.

**Zaldivar, R. 1990.** Zooparásitos de interés Veterinario en el Perú. 1ª Edición. Editorial Maijosa. Lima-Perú. pp 3-4.

## **ANEXO**



Anexo 1. Figuras que registran la localización del trabajo de tesis y la metodología utilizada en campo.



Anexo 2. Material y equipo de laboratorio: Técnica de Sedimentación Natural Modificada por Rojas y Torrel, evaluado en la presente investigación (Rojas y col., 2013).

- ✓ Balanza de precisión electrónica que mide hasta decigramos.
- ✓ Vaso de plástico de 400 mL de capacidad.
- ✓ Vaso de vidrio cónico de 260 mL de capacidad.
- ✓ Embudo con malla metálica de 80 hilos/pul.
- ✓ Placa Petri de 10 centímetros de diámetro, con líneas paralelas de 10 mm de separación.
- ✓ Bagueta.
- ✓ Estereoscopio con luz incorporada.
- ✓ Batidora eléctrica de mano.
- ✓ Estilete (aguja N°22x ½pulg.).
- ✓ Lugol parasitológico.



Fig. 3. Materiales y equipos de la técnica en evaluación.

## Anexo 3. Trabajo en el Camal:



Fig. 4. Extracción e identificación de muestra de heces.



Fig. 5. Extracción e identificación del hígado.



Fig. 6. Identificación del rumen.



Fig. 7. Verificación de la ausencia de *Calicophoron microbothrioides* estadio adulto.



Fig. 8. Inspección macroscópica del hígado.



Fig. 9. Hígado positivo a Fasciolas adultas.

Anexo 4. Trabajo en Laboratorio: Figuras que registran la ejecución del protocolo de la Técnica de Sedimentación Natural Modificada por Rojas y Torrel.

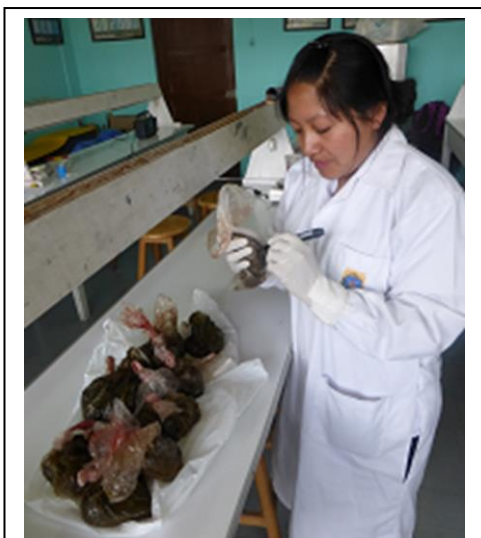


Fig. 10. Verificando la codificación de las muestras de heces.

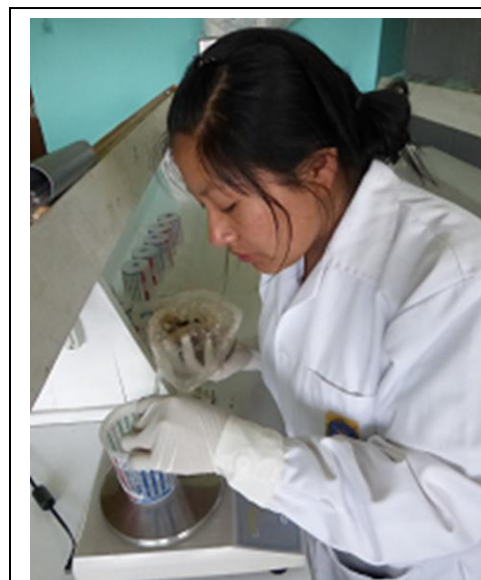


Fig. 11. Pesando muestra de heces.

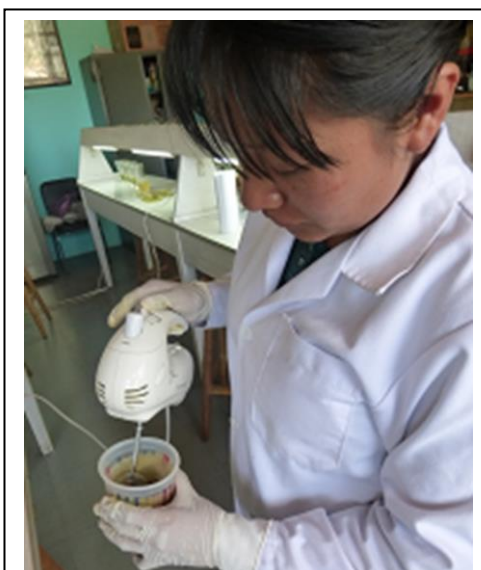


Fig. 12. Homogenizando con batidora eléctrica las heces en agua.



Fig. 13. Tamizando el material homogenizado.



Fig. 14. Reposo de 5 minutos para sedimentación en 2g, 3g, 4g, 5g.



Fig. 15. Tres decantaciones para 2g, 3g, 4g, 5g de heces



Fig. 16. Teñido al sedimento con lugol fuerte.

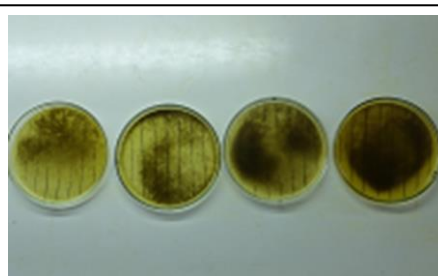


Figura 17. Sedimento teñido con lugol fuerte en la placa Petri para la observación

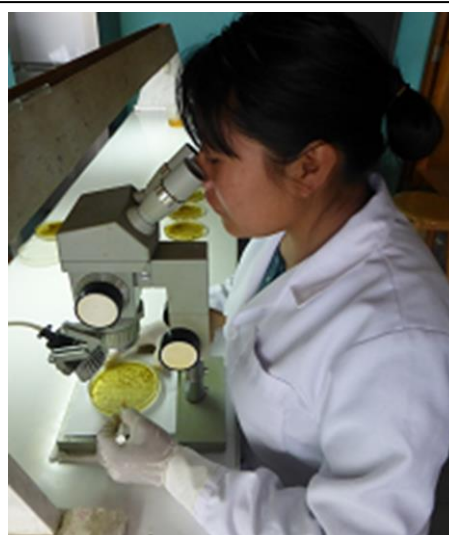


Fig. 18. Realizando el diagnóstico en estereoscopio.

## Anexo 5. Estadística y análisis de datos

Tabla 4. Análisis de datos obtenidos de las técnicas de diagnóstico:  
Sedimentación Natural Modificada por Rojas y Torrel en relación  
a la necropsia como prueba confirmatoria en bovinos.

Muestra (Nº)	Resultado de la necropsia  Presencia fasciolas en conductos bilíares: ( + )	Resultado de la técnica sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel  Positivo a huevos de <i>F.</i> <i>hepatica</i> : ( + )  Negativo a huevos de <i>F.</i> <i>hepatica</i> : ( - )				Análisis de los resultados obtenidos de la técnica parasitológica y la necropsia  Verdadero Positivo a <i>F.</i> <i>hepatica</i> : ( VP )  Falso Negativo a <i>F.</i> <i>hepatica</i> : ( FN )			
		2g	3g	4g	5g	2g	3g	4g	5g
001	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
002	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
003	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
004	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
005	+	-	-	-	+	FN	FN	FN	VP
006	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
007	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
008	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
009	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
010	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
011	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
012	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
013	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
014	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
015	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
016	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
017	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
018	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
019	+	-	-	-	-	FN	FN	FN	FN
020	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP

021	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
022	+	-	-	-	-	FN	FN	FN	FN
023	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
024	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
025	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
026	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
027	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
028	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
029	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
030	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
031	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
032	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
033	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
034	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
035	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
036	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
037	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
038	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
039	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
040	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
041	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
042	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
043	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
044	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
045	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
046	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
047	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
048	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
049	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
050	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
051	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
052	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
053	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP



054	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
055	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
056	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
057	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
058	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
059	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
060	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
061	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
062	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
063	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
064	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
065	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
066	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
067	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
068	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
069	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
070	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
071	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
072	+	-	-	-	-	FN	FN	FN	FN
073	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
074	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
075	+	+	-	+	+	VP	FN	VP	VP
076	+	+	+	-	+	VP	VP	FN	VP
077	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
078	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
079	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
080	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
081	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
082	+	-	-	-	-	FN	FN	FN	FN
083	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
084	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
085	+	+	+	-	+	VP	VP	FN	VP
086	+	-	-	+	+	FN	FN	VP	VP

087	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
088	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
089	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
090	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
091	+	-	-	-	-	FN	FN	FN	FN
092	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
093	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
094	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
095	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
096	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
097	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
098	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP
099	+	-	+	+	+	FN	VP	VP	VP
100	+	+	+	+	+	VP	VP	VP	VP

Leyenda:

( + ) : Positivo a huevos de *F. hepatica*

( - ) : Negativo a huevos de *F. hepatica*

(VP) : Verdadero positivo

(FN) : Falso negativo

#### En 2 gramos de heces

VP : Verdadero Positivo (92)

FN : Falso negativo (08)

S : Sensibilidad (92%)

IC : Intervalo de confianza ( $\pm 5.3\%$ )

#### En 3 gramos de heces

VP : Verdadero Positivo (92)

FN : Falso negativo (08)

S : Sensibilidad (92%)

IC : Intervalo de confianza ( $\pm 5.3\%$ )

En 4 gramos de heces

VP : Verdadero Positivo (92)

FN : Falso negativo (08)

S : Sensibilidad (92%)

IC : Intervalo de confianza ( $\pm 5.3\%$ )En 5 gramos de heces

VP : Verdadero Positivo (95)

FN : Falso negativo (05)

S : Sensibilidad (95%)

IC : Intervalo de confianza ( $\pm 4.3\%$ )**Cálculo de la sensibilidad****Sensibilidad (S)**

$$S = \frac{VP}{VP+FN} \times 100$$

**Para 2, 3 y 4 gramos de heces**

$$S = \frac{92}{92+8} \times 100 = 92\%$$

**Para 5 g de heces**

$$S = \frac{95}{95+5} \times 100 = 95\%$$

**Intervalo de confianza al 95% de significancia estadística:**

$$I.C. = p \pm Z \sqrt{\frac{p \cdot q}{n}}$$

**Intervalo de confianza para Sensibilidad en 2, 3 y 4 gramos de heces**

$$I.C. = 92 \pm 1.96 \sqrt{\frac{92 \times 8}{100}}$$

$$= 92 \pm 5.3\%$$

**Interpretación.** La sensibilidad de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel está entre 86.7% a 97.3% con el 95% de confianza.

**Intervalo de confianza para Sensibilidad en 5 gramos de heces**

$$I.C. = 95 \pm 1.96 \sqrt{\frac{95 \times 5}{100}}$$

$$= 95 \pm 4,3\%$$

**Interpretación.** La sensibilidad de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel está entre 90,7% a 99,3%  $p < 0,05$  de confianza.