

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

ESCUELA DE POSTGRADO



DOCTORADO EN CIENCIAS

MENCIÓN: PRODUCCIÓN ANIMAL

TESIS

HISTOPATOLOGÍA DEL RUMEN POR PARAMPHISTÓMIDOS Y EL EFECTO SOBRE LOS METABOLITOS SANGUÍNEOS EN VACAS LECHERAS, CAJAMARCA - PERÚ.

Por:

JOSÉ FERNANDO CORONADO LEÓN

Asesor:

Dr. SEVERINO TORREL PAJARES

CAJAMARCA - PERÚ

2016

**COPYRIGHT © 2016 by
JOSÉ FERNANDO CORONADO LEÓN
Todos los derechos reservados**

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

ESCUELA DE POSTGRADO



DOCTORADO EN CIENCIAS

MENCIÓN: PRODUCCIÓN ANIMAL

TESIS APROBADA:

HISTOPATOLOGÍA DEL RUMEN POR PARAMPHISTÓMIDOS Y EL EFECTO SOBRE LOS METABOLITOS SANGUÍNEOS EN VACAS LECHERAS, CAJAMARCA - PERÚ.

Por:

JOSÉ FERNANDO CORONADO LEÓN

Comité Científico:

Dr. Jorge Piedra Flores

Miembro Titular

Dra. Cecilia Pajares Acosta

Miembro Titular

Dr. Manuel Paredes Arana

Miembro Titular

Dr. Severino Torrel Pajares

Asesor

Cajamarca - Perú

2016



Universidad Nacional de Cajamarca

Escuela de Pos Grado

CAJAMARCA - PERU

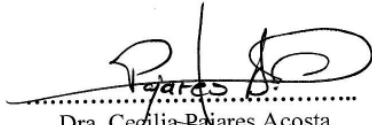
PROGRAMA DE DOCTORADO


ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS DOCTORADO EN CIENCIAS MENCIÓN: PRODUCCIÓN ANIMAL

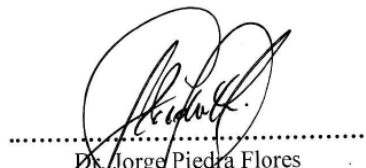
Siendo las cinco de la tarde del día miércoles veintiuno de diciembre del año dos mil dieciséis, reunido en el aula 1Q-205 de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, el Comité Científico Evaluador presidido por el Dr. Jorge Piedra Flores; Dra. Cecilia Pajares Acosta, Dr. Manuel Paredes Arana, como integrantes del jurado titular; y en calidad de Asesor, el Dr. Severino Torrel Pajares. Actuando de conformidad con el Reglamento Interno de la Escuela de Posgrado y el Reglamento del Programa de Doctorado de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, se dio inicio a la SUSTENTACIÓN de la tesis titulada: **HISTOPATOLOGÍA DEL RUMEN POR PARAMPHISTÓMIDOS Y SU EFECTO SOBRE LOS METABOLITOS SANGUÍNEOS EN VACAS LECHERAS, CAJAMARCA – PERÚ**; presentada por el Mg. JOSÉ FERNANDO CORONADO LEÓN con la finalidad de optar el Grado Académico de DOCTOR EN CIENCIAS, Mención PRODUCCIÓN ANIMAL.

Realizada la exposición de la Tesis y absueltas las preguntas formuladas por el Comité Científico Evaluador, y luego de la deliberación, se acordó *APROBAR* con la calificación de *Mayna Cum laude. (18)* la mencionada Tesis; en tal virtud, el Mg. JOSÉ FERNANDO CORONADO LEÓN está apto para recibir en ceremonia especial el Diploma que la acredita como DOCTOR EN CIENCIAS, Mención PRODUCCIÓN ANIMAL.

Siendo las *7:10* horas del mismo día, se dio por concluido el acto.


.....
Dra. Cecilia Pajares Acosta
Comité Científico Evaluador


.....
Dr. Manuel Paredes Arana
Comité Científico Evaluador


.....
Dr. Jorge Piedra Flores
Presidente Comité Científico Evaluador

DEDICATORIA:

A Dios y la Virgen María por brindarme protección y mantener viva mi fe y esperanza. A mi madre Bertha Marina y a la memoria de mi padre Juan Esteban, quienes confiaron en mí hasta el último momento. A mi esposa María del Pilar por su ardua espera y tenaz paciencia, sin cuya ayuda moral y afectiva, no habría sido posible lograr esta meta.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de Cajamarca, especialmente a la Escuela de Post Grado, por brindarme la oportunidad de efectuar mis estudios de Doctorado.

A los docentes del programa doctoral de la escuela de Post Grado por los conocimientos impartidos.

Un agradecimiento especial al Dr. Severino Torrel Pajares por su valioso asesoramiento y orientación en la elaboración y ejecución del presente trabajo de investigación.

A los Médicos Veterinarios: Oscar Espinoza Chancafe, Bryan Kevin Briones Rodríguez y Osmar Altamirano Bautista por su apoyo incondicional en la recolección de la información.

Al Administrador del Camal Municipal de Cajamarca y a la propietaria del fundo San Vicente por la colaboración para llevar a cabo la presente Investigación.

CONTENIDO

Ítem	Página
DEDICATORIA: -----	iv
AGRADECIMIENTOS -----	v
RESUMEN -----	xi
INTRODUCCIÓN -----	1
MARCO TEÓRICO -----	4
2.1. ANTECEDENTES TEÓRICOS DE LA INVESTIGACIÓN -----	4
2.1.1. Estudios de los Paramphistómidos a nivel histológico.-----	4
2.1.2. Estudios de los números de parásitos adultos y huevos de Paramphistómidos en heces. -----	5
2.1.3. Estudios de los Paramphistómidos sobre la función ruminal -----	7
2.1.4. Estudios de prevalencia de Paramphistómidos-----	7
2.1.5. Estudios de la condición corporal en vacas.-----	10
2.1.6. Estudios sobre perfiles metabólicos en vacas -----	11
2.2. BASE TEÓRICA -----	14
2.2.1. Endoparasitismo en rumiantes-----	14
2.2.2. Paramphistómidos-----	15
2.2.3. Importancia del rumen -----	41
2.2.4. Metabolismo y absorción de los ácidos grasos volátiles en el rumen.-----	47
2.2.5. Problemas ocasionados por mala absorción de los ácidos grasos volátiles. ---	53
2.2.6. Condición corporal. -----	56
2.2.7. Perfiles metabólicos. -----	59
2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS -----	75
2.3.1. Acidosis ruminal.-----	75
2.3.2. Adenosín trifosfato (ATP).-----	75
2.3.3. Anfistoma-----	75
2.3.4. Conversión alimenticia. -----	75
2.3.5. Edema. -----	76
2.3.6. Epitelio escamoso estratificado queratinizado. -----	76
2.3.7. Enzima Peroxidasa. -----	76

2.3.8. Fermentación ruminal.-----	76
2.3.9. Hiperplasia.-----	77
2.3.10. Histología. -----	77
2.3.11. Histopatología -----	77
2.3.12. Hospedadores intermediarios del Paramphistómido. -----	77
2.3.13. Inflamación. -----	77
2.3.14. Necrosis. -----	78
2.3.15. Perfil metabólico energético.-----	78
2.3.16. Perfil metabólico. -----	78
2.3.17. Ruta metabólica. -----	79
2.3.18. Tejido conectivo.-----	79
2.3.19. Tejido conectivo Laxo.-----	79
2.3.20. Trematodos.-----	79
2.3.21. Uniones GAP. -----	79
DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE LAS HIPÓTESIS -----	81
3.1. ÁMBITO DE ESTUDIO -----	81
3.2. UNIDAD DE ANÁLISIS, UNIVERSO Y MUESTRA -----	82
3.2.1. Unidad de análisis. -----	82
3.2.2. Universo: -----	82
3.2.3. Muestra.-----	82
3.3. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS -----	83
3.3.1. Material biológico. -----	83
3.3.2. Trabajo en el Camal Municipal.-----	84
3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS -----	89
RESULTADOS Y DISCUSIÓN -----	90
4.1. HISTOLOGÍA DEL RUMEN -----	90
4.2. HISTOPATOLOGÍA DEL RUMEN-----	92
4.3. RELACIÓN DEL NÚMERO DE HUEVOS POR GRAMO DE HECES (HPG) CON EL NÚMERO DE PARÁSITOS ADULTOS (NPA). -----	99
4.3.1. Validación del Modelo Lineal para relacionar HPG con NPA -----	101
4.3.2. De la relación entre HPG con NPA positivos a Paramphistómidos. -----	102

4.4. EVALUACIÓN DE LA GANANCIA DE PESO DIARIO (GPD) Y LA CONDICIÓN CORPORAL (CC) EN VACAS EN LACTACIÓN, POSITIVAS A PARAMPHISTÓMIDOS. -----	104
4.5. ESTIMACIÓN DEL NÚMERO DE PARAMPHISTÓMIDOS ADULTOS SEGÚN MODELO EN 16 VACAS EN LACTACIÓN. FUNDO SAN VICENTE – BAÑOS DEL INCA. -----	109
4.6. EVALUACIÓN DE LOS METABOLITOS SANGUÍNEOS. -----	111
4.6.1. Niveles de glucosa en suero.-----	112
4.6.2. Niveles de colesterol en suero.-----	113
4.6.3. Niveles de triglicéridos en suero.-----	115
4.6.4. Niveles de urea en suero.-----	116
CONCLUSIONES -----	117
5.1. CONCLUSIONES.-----	117
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS. -----	118
APÉNDICES-----	128

LISTA DE ILUSTRACIONES

FIGURAS	Página
Figura 1: Esquema de la acción traumática del <i>Calicophoron microbothioides</i> en rumen y retículo.....	31
Figura 2: Diagrama del rumen, retículo, omaso y abomaso de bovino.	43
Figura 3: Epitelio escamoso estratificado queratinizado.	44
Figura 4: Tejido conectivo laxo. (Coloración Hematoxilina – eosina 300 X)	45
Figura 5: Corte histológico de la papila ruminal de oveja	47
Figura 6: Esquema del metabolismo hepático del colesterol.	66
Figura 7: Sección histológica de papilas ruminales y parte de la pared del rumen, del ganado bovino. Camal Municipal de Cajamarca. (Hematoxilina-eosina. 200X.).....	90
Figura 8: Sección histológica de la papila ruminal de un bovino. Camal Municipal de Cajamarca (Hematoxilina- eosina. 400X).	91
Figura 9: Daño histopatológico de la papila ruminal de un bovino positivo a Paramphistómidos. Camal Municipal de Cajamarca (Hematoxilina- eosina. 400X).....	93
Figura 10: Sección histopatológica de la parte media de la papila ruminal de un bovino positivo a Paramphistómidos. Camal Municipal de Cajamarca (Hematoxilina - eosina. 400X).	93
Figura 11: Alteración histopatológica de la base de la papila ruminal, de un bovino positivo a Paramphistómidos. Camal Municipal de Cajamarca (Hematoxilina - eosina. 400X).....	94
Figura 12: Sección histopatológica del ápice de la papila ruminal de un bovino positivo a Paramphistómidos. Camal Municipal de Cajamarca (Hematoxilina- eosina. 400X).	94
Figura 13: Sección histopatológica del desprendimiento de la papila ruminal, de un bovino positivo a Paramphistómidos. Camal Municipal de Cajamarca (Hematoxilina- eosina. 400x).	95
Figura 14: Sección histopatológica de la pared ruminal con el desprendimiento de la papila ruminal de un bovino positivo a Paramphistómidos. Camal Municipal de Cajamarca (Hematoxilina- eosina. 400X).....	95
Figura 15: Diagrama de caja de bigotes ilustrando HPG en 22 bovinos positivos a Paramphistómidos. Camal Municipal de Cajamarca.....	100

Figura 16: Diagrama de caja de bigotes del NPA del rumen y retículo de 22 bovinos positivos a Paramphistómidos. Camal Municipal de Cajamarca.....	100
Figura 17: Relación del HPG con NPA de 22 bovinos infectados con Paramphistómidos. Camal Municipal de Cajamarca.....	101
Figura 18: GPD (kg) en los grupos de vacas, tabulados durante 60 días en 26 vacas en lactación. Fundo San Vicente-Baños del Inca.	105
Figura 19: Diagrama de caja de bigotes de HPG de 16 vacas en lactación, positivos a Paramphistómidos. Fundo San Vicente – Baños del Inca.....	109
Figura 20: Diagrama de caja de bigotes del NPA estimados para 16 vacas en lactación, positivas a Paramphistómidos. Fundo San Vicente – Baños del Inca.	109
Figura 21: Puntos anatómicos para determinar la CC.	141

TABLAS

Tabla 1: HPG y NPA en el rumen y retículo de 22 bovinos positivos a Paramphistómidos. Camal Municipal de Cajamarca.....	99
Tabla 2: Promedio de GPD (kg) en 26 vacas en lactación. Fundo San Vicente Baños del Inca.	104
Tabla 3: CC al inicio y a los 60 días de las 26 vacas en lactación. Fundo San Vicente- Baños del Inca.	107
Tabla 4: Valores promedios de glucosa, colesterol, triglicéridos y urea en suero sanguíneo de las 26 vacas en lactación. Fundo San Vicente - Baños del Inca...	111

RESUMEN

Los Paramphistómidos son parásitos de alto riesgo, con elevada prevalencia en Cajamarca, siendo la forma adulta poco estudiada, formulándose como objetivos: Evaluar el daño histopatológico del rumen, la relación de Paramphistómidos con número de huevos por gramo de heces (HPG), la ganancia de peso diario (GPD), condición corporal (CC) y concentraciones de: glucosa, colesterol, triglicéridos y urea, en bovinos positivos a Paramphistómidos, mediante los métodos de: sedimentación en heces, examen macroscópico y enzimático en sangre. Los análisis fueron realizados en los Laboratorios de Embriología e Histología, Parasitología y Fisiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNC y SENASA-LIMA. Se trabajó con 58 bovinos: 32 positivos a Paramphistómidos del Camal Municipal de Cajamarca, 10 se utilizaron para la histopatología del tejido del rumen y de 22 se obtuvieron muestras de rumen, retículo y heces para la relación de Paramphistómidos con HPG. Muestras de sangre de vacas en producción, 10 testigo (5 alimentadas con forraje y 5 forraje más concentrado) y 16 positivas a Paramphistómidos (8 alimentadas con forraje y 8 forraje más concentrado), del fundo San Vicente, para determinar glucosa, colesterol, urea y triglicéridos. El análisis estadístico fue mediante regresión, correlaciones, Shapiro-Wilk, ANOVA y Mann-Whitney. Determinando evidencias adaptativas de hiperplasia, necrosis, degeneración hidrópica, presencia de neutrófilos degenerados y lisados, el modelo de regresión fue lineal ($P < 0,01$), existiendo menores GPD y CC en vacas positivas a Paramphistómidos, determinando niveles elevados de glucosa y bajos en colesterol ($P < 0,05$) no existiendo diferencia en triglicéridos y urea ($P > 0,05$), concluyendo que: Los Paramphistómidos ocasionan alteraciones histopatológicas, elevada relación de HPG con parásitos adultos, menores incrementos de peso y CC en vacas positivas alimentadas con forraje y concentrado. La glucosa (mg/dL) fue elevada en vacas positivas a Paramphistómidos alimentadas con forraje y concentrado. El colesterol (mg/dL) fue menor en las vacas positivas a Paramphistómidos.

Palabras claves: Paramphistómidos, histopatología, rumen y metabolitos sanguíneos.

ABSTRACT

The Paramphistomidos are pests of high risk, with high prevalence in Cajamarca, being the adult form little studied, being formulated as objectives: assess the damage histopathology of the rumen, Paramphistomidos relationship with number of eggs per gram of feces (EPG), the weight gain daily (WGD), body condition (BC) and concentrations: urea, cholesterol, glucose and triglycerides, in positive cattle to Paramphistomidos , using the methods of: sedimentation in feces, gross and enzymatic test in blood. Analyses were performed in laboratories for Embryology and histology, Parasitology and physiology of the Faculty of veterinary science of the UNC and SENASA-LIMA. Worked with 58 cattle: positive 32-Paramphistomidos of the Municipal slaughterhouse of Cajamarca, 10 were used to the histopathology of the rumen and 22 tissue samples were collected from the rumen, reticulum and feces for Paramphistomidos relationship with EPG. Blood samples from cows in reticulum and feces for Paramphistomun relationship with EPG were obtained. Blood samples from dairy cows, 10 control (5 fed with forage and 5 forage more concentrated) and 16 experimental (8 fed with forage and 8 more concentrated fodder), the farm San Vicente, to determine glucose, cholesterol, urea and triglycerides. Statistical analysis was by regression, correlations, Shapiro-Wilk, ANOVA and Mann-Whitney. Adaptive determining evidence of hyperplasia, necrosis, hydropic degeneration, presence of degenerates and lysed neutrophils, the linear regression model was highly significant ($P < 0.01$), exist minor WGD and there are smaller increases in weight and BC Paramphistomun positive cows, determining levels high glucose and low in cholesterol ($P < 0.05$), and there is no difference in triglycerides and urea ($P > 0.05$), concluding that: The Paramphistomun cause histopathological changes, high ratio of EPG with adult parasites, smaller increases in weight and BC in positive cows fed forage and concentrate. Glucose (mg/dL) was elevated in Paramphistomun positive cows fed forage and concentrate. Cholesterol (mg/dL) was lower in the positive cow's Paramphistomun.

Keywords: Paramphistomidos, histopathology, rumen and blood metabolites.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Las infecciones causadas por helmintos constituyen un problema sanitario en los bóvidos, causando reducciones en la tasa de crecimiento, producción y reproductividad e incremento de la mortalidad, afectando la productividad. La incidencia se ve incrementada en áreas donde se practica el pastoreo extensivo, aumentando su presencia por factores medioambientales apropiados para su proliferación como el clima, temperatura, humedad, precipitación pluvial, así como el manejo inadecuado y la edad de los hospederos expuestos a praderas contaminadas, aunando los factores propios del parásito (Márquez, 2013; Meline, 2013).

Los Paramphistómidos adultos, son helmintos que viven y se reproducen en el interior del organismo animal; son trematodos de la familia *Paramphistomidae*. Los Paramphistómidos se caracterizan por ocasionar gastroenteritis aguda parasitaria con una elevada morbilidad y mortalidad, especialmente en la población joven, demostrando mayor prevalencia en regiones tropicales y subtropicales. Incrementando su extensión a nivel mundial en últimos años, con prevalencias que oscilan entre el 11 - 40% (Polto, 2014; Saowakon, et al., 2013).

El Paramphistómido en la actualidad ocasiona una enfermedad de riesgo, por ser considerado como un parásito reemergente de prevalencia considerable, comprobándose que existe más de una especie; por ello los investigadores peruanos han preferido hasta ahora usar el término Paramphistómido. En Cajamarca se ha reportado como especie al *Calicophoron microbothrioides* (Márquez, 2013; Rodríguez, 2013; Ortiz, et al., 2010; Rojas, et al., 2013).

Las prevalencias de Paramphistómidos en nuestro medio, fueron de 43,63% en la campaña de Cajamarca (Rasco y Ortiz, 2007), 61,80% en la zona de Tres Molinos (Vera, 2011), 47,21% en la zona norte del valle de Cajamarca (Oblitas, 2011), 55,17% en la zona de Huacariz (Plasencia, 2011); 59,15% en la zona de Tartar (Huamán, 2011) y 59±5% en la Campaña de Cajamarca (Torrel, et al., 2012).

Los Paramphistómidos se adhieren, en la fase adulta, al epitelio del rumen y a los pliegues del retículo, donde al incrustarse a las partes nudosas de la mucosa originan zonas de necrosis debido a la presión provocada por el acetábulo del trematodo, que conlleva a áreas poco endurecidas carentes de rugosidades y de papilas ruminales, afectando al tracto digestivo del rumiante (Quiroz, 2005; Dube, et al., 2013), donde se realiza la absorción de los ácidos grasos volátiles (AGV), el ácido láctico, electrolitos y agua; (Ciappesoni, 2001).

Las alteraciones ocasionadas en las papilas ruminales, pueden producir fallas en los procesos de ajuste fisiológico que requieren homeostasis, ocasionando lesiones clínicamente no evidentes, pero que pueden apreciarse en diagnósticos serológicos dirigidos (Herd, 2000). Así mismo, algunos estados metabólicos pueden estar afectados por los requerimientos específicos de compuestos nutricionales (Underwood y Suttle, 1999).

Naciendo la inquietud de conocer ¿Cuáles son las alteraciones histopatológicas y sus efectos en la ganancia de peso, condición corporal y metabolitos sanguíneos producidos por los Paramphistómidos a nivel del rumen?, ¿Cuál es la relación entre el número de parásitos adultos con el número de huevos por gramo de heces?

Por ser Cajamarca una zona endémica de Paramphistómidos permite establecer como objetivo principal: Evaluar el daño ocasionado a nivel del rumen mediante el

estudio histopatológico y el comportamiento de algunos metabolitos sanguíneos indicadores del balance metabólico nutricional en bovinos infectados con Paramphistómidos. Como objetivos específicos: Determinar las alteraciones histopatológicas que sufre la pared ruminal por presencia de Paramphistómidos; la relación del número de Paramphistómidos adultos encontrados a la necropsia con el número de huevos por gramo de heces (HPG); evaluar la concentración de glucosa, colesterol, triglicéridos y urea, en suero sanguíneo, así como la evaluación de la ganancia de peso y la condición corporal en bovinos infectados con Paramphistómidos.

La presente investigación se limitó al análisis histopatológico del rumen, así como a la evaluación de los niveles de metabolitos en suero sanguíneo (colesterol, glucosa, triglicéridos y urea), la ganancia de peso y la condición corporal en los bovinos positivos a paramphistómidos. No teniendo en consideración la edad, raza y sexo.

Trabajo de investigación que se ve justificado por el incremento y elevada prevalencia de Paramphistómidos en Cajamarca, la cual se ve favorecida por factores agroclimáticos; favoreciendo la presencia de hospedadores intermediarios, tales como *Limnea Viatrix* y *el Bulinus sp.* No obstante, se desconoce la frecuencia y dinámica de eliminación de huevos por parásito, el daño que esta especie realiza en el tejido ruminal y sus consecuencias en la asimilación de los alimentos en bovinos manejados bajo condiciones de pastoreo (Torrel, 2009; Torrel, et al., 2012; Sanabria, 2012); para así buscar alternativas posteriores y mejorar la producción y productividad de los sistemas establecidos, contribuyendo al mejor conocimiento de la patología animal.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES TEÓRICOS DE LA INVESTIGACIÓN

En el Cantón- El Chaco, provincia de Napo, determinaron que los principales factores de riesgo que favorecen la presentación de Paramphistómidos en el ganado bovino fueron: Por desconocimiento de la enfermedad (100%), producción extensiva (98,08%), deficiencias en control de hospedador intermediario (95,65%), tratamientos inespecíficos (84,32%) (Velástegui y Guerra, 2012).

2.1.1. Estudios de los Paramphistómidos a nivel histológico.

Con la finalidad de evaluar la histopatología ruminal, se utilizaron 10 vacunos criollos mayores de cinco años de diferente sexo, infestados por Paramphistómidos, sacrificados en el Camal Municipal de Cajamarca. Evaluándose tres porciones anatómicas del rumen: saco ventral, saco ciego dorso-caudal y saco ciego ventro-caudal del rumen, registrando alteraciones histopatológicas en la zona de implantación del parásito, localizando en la lámina propia de la mucosa del rumen edema; necrosis del epitelio de revestimiento; inflamación con infiltración leucocitaria en la lámina propia de la mucosa; degeneración del epitelio de la papila ruminal y congestión del corion con compromiso muscular de la mucosa y submucosa (Espinoza, 2015).

En la Comunidad Autónoma de Castilla y León (España), se valorizó 49 bovinos infestados con Paramphistómidos, el estudio histológico se realizó en las lesiones localizadas en: retículo, cinco regiones anatómicas del rumen, omaso, abomaso, duodeno y nódulos linfáticos regionales. Las lesiones microscópicas se observaron en pequeñas papilas cónicas del rumen y del retículo, donde se fija el

Colicoforum daubneyi mediante su ventosa ventral. El efecto mecánico de dicha fijación provocó un estrechamiento de la base y la expansión del ápice de las papilas, dándoles un aspecto fungiforme. En estas papilas se observó acantosis o trastorno, caracterizado por la presencia de hiperqueratosis e hiperpigmentación e incluso necrosis del epitelio plano estratificado queratinizado. Entre sus células escamosas se identificaron numerosos leucocitos globulares, linfocitos intraepiteliales y células de Langerhans. En la lámina propia adyacente a las papilas, donde se fijaba el parásito, los capilares y vénulas presentaban un endotelio reactivo y un infiltrado inflamatorio compuesto principalmente por linfocitos (frecuentemente formando agregados o folículos), células plasmáticas, macrófagos, eosinófilos y mastocitos. Además, se llevaron a cabo diferentes técnicas histoquímicas para la diferenciación de los leucocitos globulares y los mastocitos. Estas lesiones fueron más intensas en el atrio ruminal, localización donde se observó un mayor número de parásitos y de papilas afectadas. Sin embargo, fueron mínimas en el saco dorsal del rumen, con escasa carga parasitaria. El grado de lesión estuvo significativamente relacionado con la carga parasitaria en las diferentes regiones del rumen y retículo, siendo más significativo en el saco ventral del rumen ($P < 0,01$). Del resto de órganos examinados, el duodeno fue la localización que presentó lesiones más significativas en 28 animales con parásitos adultos en rumen y retículo (Fuertes, 2015).

2.1.2. Estudios de los números de parásitos adultos y huevos de Paramphistómidos en heces.

En una investigación de 15 vacunos, de diferente sexo y edad positivos a *Calicophoron microbothrioides*, sacrificados en el Camal Municipal de Cajamarca, se determinó un promedio de $3272,07 \pm 37701$ parásitos adultos adheridos a la mucosa ruminoreticular y una media de $647,27 \pm 1006$ de parásitos adultos en el líquido ruminal;

registrando un promedio total de $3919,33 \pm 4605$ *Calicophoron microbothrioides* adultos en el líquido ruminal y en las paredes del ruminoreticular. En lo relacionado al número de huevos por gramo de heces (HPG), se determinó una carga parasitaria promedio de $68,93 \pm 73$ de HPG, con una relación de $r: 0,959$ ($P < 0,01$) entre el número de *Calicophoron microbothrioides* adultos con HPG. Obteniendo una capacidad reproductiva, mediante el método de Dinnik y Dinnik, de $666,68 \pm 287$ huevos promedio por parásito (Briones, 2015).

Con el objetivo de determinar la prevalencia de Paramphistómidos e intensidad de infección relacionada con diferentes factores (sistema de explotación, edad, sexo y raza) durante tres periodos consecutivos (2010, 2011 y 2012) en la comunidad de León y Castilla (España) se examinaron el rumen, retículo, omaso, abomaso, duodeno y nódulos linfáticos regionales de 790 bovinos de edades comprendidas entre 10 meses a 19 años, sacrificados en un matadero, procedentes de 184 explotaciones. Cada animal parasitado se cuantificó el número de parásitos en el retículo y cinco regiones anatómicas del rumen: orificio rumino reticular, pliegue rumino- reticular, atrio rumino-reticular, saco ventral del rumen y saco dorsal del rumen. Del total 49 vacunos positivos, se detectaron Paramphistómidos adultos en el rumen y en el retículo (6,20%). La edad de los bovinos influyó significativamente ($P < 0,05$) en la prevalencia de la infección: 2,62% (bovinos menores de 12 meses) y 17,88% (bovinos mayores de 30 meses). La carga parasitaria total de los animales fue de 19487 Paramphistómidos adultos, variando entre 8 y 8005 parásitos por animal (mediana = 144). La localización principal y significativa ($P < 0,01$) fue el rumen ($90,81 \pm 1,71\%$) con una menor presencia en el retículo ($9,19 \pm 1,71\%$). De las cinco regiones anatómicas del rumen examinadas, el atrio ruminal fue la de mayor carga parasitaria ($62,93 \pm 3,31\%$) y el saco dorsal la región con un menor número de parásitos ($2,07 \pm 0,51\%$) (Fuertes, 2015).

Al relacionar la carga parasitaria en los pre-estómagos con la eliminación de huevos por gramo de heces del ganado bovino infectado por Paramphistómidos, se observó una relación directamente proporcional entre ambas variables (Mage y Dorchies, 1988 citado por Fuertes 2015). Sin embargo, Rieu et al, (2007) citado por Fuertes (2015) manifiesta que a partir de 100 huevos/g en heces, la relación entre el número de huevos eliminado y el número de formas adultas en los pre estómagos no es directa, este hecho puede explicarse por los fenómenos de sobrepoblación parasitaria que disminuyen la tasa depuesta (Fuertes, 2015).

2.1.3. Estudios de los Paramphistómidos sobre la función ruminal

El efecto del Paramphistómidos sobre la función ruminal no ha sido muy estudiado, pero se ha descubierto en ovejas que los valores de Ácidos Grasos Volátiles (AGV) y de amonio, en corderos infestados con *Trichostrongylus colubriformis*, eran mucho más bajos que en animales no infestados, la reducción era del 30% menor, al igual que el contenido de materia seca (Villar, 2009).

2.1.4. Estudios de prevalencia de Paramphistómidos

A nivel internacional

Los Paramphistómidos tienen una distribución mundial, pero la enfermedad se presenta con mayor frecuencia en regiones más cálidas, especialmente Austria, África y la India. Entre las especies más comunes tenemos a *Paramphistomum cervi*, *Paramphistomum microbothrioides*, *Paramphistomum liorchis*, *Paramphistomum ichikawai*, *Paramphistomum microbothrium*, *Calicophoron*, *Ceylonocotyle streptocoelium*, *Calicophoron calicophorum* y *Cotylophoron cotylophorum* (Radostis, et al., 2002).

En un estudio realizado en México – Tabasco, desde mayo de 1989 hasta abril de 1992, encontró que la prevalencia del *Paramphistomon cervi* promedio anual del 39,19% (Rangel, et al., 2003).

En general, la prevalencia de los Paramphistómidos ha aumentado en los últimos años y un ejemplo de ello es el caso de Francia donde, durante el periodo 1990-1999, la prevalencia de Paramphistómidos pasó del 5,2% al 44,7% (Rangel, et al., 2003).

Colombia en la costa Caribe y de los Llanos Orientales, se determinó la frecuencia de Paramphistómido en bovinos y caracoles, entre los años 2004 y 2005; siendo del 100% en los 71 bovinos evaluados. Se colectaron 1146 caracoles determinados como *Lymnaea truncatula* y 335 determinados como *Lymnaea columella*, cuyas frecuencias de infección por el Paramphistómidos fueron 25,47 y 1,79%, respectivamente. Este constituye el primer registro de un foco de Paramphistómidos bovina en una zona alto andina, al occidente de Colombia. Las frecuencias de infección en los caracoles, sugieren a *Lymnaea truncatula* como hospederor intermediario principal (López, et al., 2008).

Durante los últimos años, esta parasitosis ha experimentado un notable incremento en su presentación. Incremento que puede estar relacionado a una mejor calidad en el diagnóstico de los Paramphistómidos, debido a una coexistencia de la prevalencia de *Fasciola hepática* en regiones con geografía donde coexisten simultáneamente ambos trematodos, así como a la no disponibilidad de fármacos eficaces en el tratamiento de los Paramphistómidos (Velástegui y Guerra, 2012).

En Maracaibo – Venezuela se reportó un caso clínico de un bovino hembra de 10 años de edad de 280 kg de peso vivo. El animal presentó, al examen físico, debilidad

extrema con pérdida progresiva de peso, letargia y signos de anemia. La temperatura rectal era de 38,5°C con evidencia de linfadenopatía generalizada. Los exámenes de laboratorio realizados (Hemoglobina, Hematocrito, conteo Globular Diferencial y Hemotrópicos) evidencian la presencia de anemia severa. A la necropsia se evidenció cambios morfológicos macroscópicos típicos consistentes con una parasitosis del corazón, rumen y retículo. Los hallazgos macroscópicos descritos fueron corroborados por evaluaciones histopatológicas y parasitológicas. Los parásitos corresponden al Género *Sarcosporidium* del corazón y un trematodo del Género *Cotylophorum*, especie de *cotylophorum* en el rumen y retículo, de acuerdo a las características morfológicas observadas (Vale, et al., 2000).

En el trabajo realizado en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Guayaquil realizado por León en el año de 1988, en el que se investigó la prevalencia y determinación de endoparásitos en bovinos del cantón Francisco de Orellana, provincia de Napo, dio como resultado 0,2% de prevalencia en ganado bovino y un 11,81 % en ovinos. El muestreo se realizó en 47 fincas, a un total de 816 bovinos y 110 ovinos (Velástegui y Guerra, 2012).

A nivel nacional:

En nuestro país los Paramphistómidos ocasionan serios problemas a la ganadería Nacional, lo que es evidenciado por diversos reportes en diferentes regiones. Así tenemos que el distrito de Yurimaguas, provincia del alto Amazonas - Loreto, con la técnica de sedimentación espontánea se reportaron valores de 44,2±4,7% de *Paramphistomosis* bovina (Pinedo, et al., 2010). Datos de investigaciones realizados en la Provincia de Oxapampa, muestran valores de 28,4±4,4% (Pauca, 2008).

A nivel local:

De los estudios sobre la prevalencia de Paramphistómidos en ganado vacuno lechero, realizados en diferentes predios de la provincia de Cajamarca los valores son superiores respecto a Oxapampa y Yurimaguas, así tenemos una prevalencia de 43,63% mediante el método de sedimentación en el valle de Cajamarca (Rasco y Ortíz, 2007); 70% en el predio la Victoria (Portocarrero, 2009), 61,80% en la zona de Tres Molinos (Vera, 2011); 47,21% en la zona norte del valle de Cajamarca (Oblitas, 2011); 55,17% en la zona de Huacariz (Plasencia, 2011) y 59,15% en la Zona de Tartar (Huamán, 2011); en infecciones mixtas por la asociación entre *Fasciola hepática* y Paramphistómidos es de 26,4% del ganado vacuno lechero (Torrel, et al., 2011).

2.1.5. Estudios de la condición corporal en vacas.

Con el objetivo de realizar un estudio observacional de la condición corporal (CC) en un hato comercial de Jersey en pastoreo en Cartago, Costa Rica. El estudio comprendió en 122 vacas (29 primíparas y 93 multíparas) durante un período de 18 meses. Las vacas fueron calificadas semanalmente por la misma persona, desde la semana 9 preparto hasta la semana 43 después del parto. Se utilizó la escala de 1 a 5 puntos (1=demacrada, 5=obesa). La CC de vacas primíparas y multíparas al parto fue 4,01 puntos (IC* al 95%: 3,80 a 4,22 puntos) y 3,83 puntos (IC al 95%: 3,71 a 3,94 puntos) respectivamente. Los animales que parieron con mayor CC perdieron más CC posparto (Saborio-Montero y Sánchez, 2014).

* IC: Intervalo de confianza

2.1.6. Estudios sobre perfiles metabólicos en vacas

Con el objeto de describir los cambios en el metabolismo energético desde un mes antes del parto hasta un mes post parto y su relación con los posibles cambios en la CC, en 20 vacas Brahaman de la zona de Magdalena Medio – Colombia, se evaluaron entre otros metabolitos los triglicéridos, colesterol total y glucosa, cuyos valores promedios a las cuatro semanas post parto de glucosa fueron: $57,7 \pm 14,4$ mg/dL en vacas con una CC de ≤ 7 y $63,1 \pm 17,7$ mg/dL en vacas con una CC de ≤ 8 . En triglicéridos $17,5 \pm 4,4$ mg/dL y $17,5 \pm 5,3$ mg/dL para vacas de CC 7 y 8 respectivamente. En Colesterol total $146,9 \pm 30,9$ mg/dL para vacas con condición corporal 7 y $123,7 \pm 19,3$ para vacas con CC 8 (Giraldo, et al., 2009).

En otro estudio con el objeto de evaluar las posibles alteraciones en los valores bioquímicos séricos de bovinos de engorde confinados, 30 novillos Nelore fueron alimentados con cinco dietas experimentales con 0; 7,5; 15; 22,5 y 30% de glicerina cruda en la materia seca, formuladas para obtener una relación entre forraje: concentrado de 30:70, en la que el ensilaje de maíz fue la fuente forrajera, y el concentrado compuesto por: grano de maíz, cascarilla de soya, torta de girasol, glicerina cruda, carbonato de calcio, fosfato bicálcico y sal común. Siendo los niveles de glucosa de 96,20; 93,51; 92,34; 97,07; 96,96 mg/dL. Los valores de Colesterol: 128,89; 131,74; 146,96; 109,63 y 101,33mg/dL, Valores de Triglicéridos: 17,18; 15,26; 17,52; 17,35 y 18,56mg/dL y los valores de urea registrados fueron 63,61; 50,81; 65,79; 56,00; 60,00 mg/dL, para cada tratamiento respectivamente, no existiendo tendencia lineal, ni cuadrática ($P > 0,05$) (Castello, et al., 2014).

En un trabajo experimental en una finca comercial de Venezuela, 24 vacas de doble propósito en ordeño, suplementadas con concentrado para determinar el efecto

de éste sobre los contenidos de urea, fósforo, insulina y glucosa. Registraron valores promedios de glucosa de 52,05mg/dL. Indicando que los niveles de glucosa se encuentran dentro del rango normal (40-80mg/dL) reportados para bovinos adultos, con rangos de referencia de urea de 6 a 22 mg/dL (Razz y Clavero, 2004)

Otro trabajo de investigación a la que se les ofreció información sobre el metabolismo energético de vacas nativas colombianas en diferentes condiciones fisiológicas, obtuvieron un valor global de glucosa de 49 mg/dL (Campos, et al., 2004).

Investigadores en Colombia (Cubillos 1999 y Mayor 1998, citados por Campos, et al., 2004) obtuvieron valores promedios en vacas en ordeño, de 51,2 y 51,6mg/dL de glucosa, respectivamente, para ganado lechero en la región del Valle del Cauca; también encontraron valores más elevados de glucosa (58 y 57,5mg/dL, respectivamente) en novillas nativas suplementadas provenientes de Colombia. Valores más bajos de glucosa en vacas secas, concomitantemente con mayor puntuación de condición corporal, puede estar relacionado con sus menores requerimientos energéticos, comparados con otros grupos de animales (crecimiento o lactación) (Campos, et al., 2004).

Los valores de referencia establecidos en las concentraciones de colesterol total, triglicéridos, glucosa y urea entre otros, de 49 vacas de raza Rubia Gallega, fueron: de $55,11 \pm 6,81$ mg/dl en glucosa al tercer mes post parto, de $23,14 \pm 8,07$ mg/dL en urea, $173,19 \pm 37,21$ mg/dL en colesterol (en época de primavera y verano) y $16,71 \pm 7,46$ mg/dL en triglicéridos en las épocas de otoño e invierno y $13,85 \pm 10,10$ mg/dL para triglicéridos para las épocas de primavera y verano (Quintela, et al., 2011).

Con el objeto de establecer valores de referencia para diferentes variables bioquímicas sanguíneas en vacas productoras de leche, en suero sanguíneo

determinaron que los niveles de colesterol en 238 vacas, se obtuvo un rango que va de 42,5mg/dl a 228,1mg/dL con un promedio $123,7 \pm 38,7$ mg/dL con un coeficiente de variación de 38%. Registrando valores de $150,8 \pm 34,8$ mg/dl en vacas al final de la lactancia y de $127,6 \pm 42,5$ mg/dl al inicio de la lactancia; y en cuanto a los niveles de urea, en 223 vacas obtuvieron con un rango que va de 6mg/dl a 204,2 mg/dL con un promedio $43,8 \pm 24,6$ mg/dL con un coeficiente de variación (CV) de 56% y valores de $43,8 \pm 22,8$ mg/dL en vacas al inicio de la lactancia y de $44,4 \pm 29,4$ mg/dl al final de la lactancia (Ceballos, et al., 2002).

En etablos productores de leche en Cajamarca, se determinaron niveles de urea registrando un promedio de $33,04 \pm 6,61$ mg/dL, cuyos valores de referencia es de 19,82 – 46,25 mg/dL con un coeficiente de variación del 20% (Sánchez, 1999).

Es probable que el uso del Nitrógeno ureico en sangre (BUN) o Nitrógeno ureico en leche (MUN) como herramienta para ajustar el suministro de energía y proteína puede ayudar a reducir los costos de alimentación y mejorar los índices de producción y reproducción. Informando que la respuesta en ganancia de peso y producción de leche a una suplementación proteica, se reduce a medida que se incrementa el nivel del BUN o MUN (Hess, et al., 1999).

Existen trabajos donde señalan que valores bajos de urea en sangre se encuentran en rebaños que utilizan dietas deficitarias en proteína, uno de los indicadores más promisorios es el nivel de nitrógeno ureico en sangre (BUN) y en leche (MUN), ya que refleja el balance de proteína degradable y energía fermentable a nivel del rumen, siendo de gran importancia debido a que los excesos en el consumo de nitrógeno pueden afectar el desempeño reproductivo de la hembra bovina (Hess, et al., 1999).

2.2. BASE TEÓRICA

2.2.1. Endoparasitismo en rumiantes

El parasitismo es un conflicto entre dos fuerzas antagónicas, el parásito que lesiona al animal y éste que se defiende de la agresión. Ante el dominio del primero, surge la enfermedad parasitaria con sus secuelas orgánicas y su incidencia en la eficiencia de la producción ganadera (Cardona, et al., 1999; Suárez, et al., 2006).

Las alteraciones son debido a la acción patógena que los parásitos ejercen sobre sus hospedadores, en forma mecánica (obstrucción), expoliatriz (el parásito consume alimentos incluidos sus desechos o consumir la sangre del hospedador), traumática (lesiones del tejido hospedador), tóxica (liberación de ciertos metabolitos del parásito que producen daños celulares) y por transmisión de enfermedades (bacterias, virus o rickettsias y otros parásitos) (Drugreri y Modern, 2002).

Los efectos adversos ocasionado por la parasitosis gastrointestinal, tienen origen en las alteraciones de los procesos fisiológicos como: la anorexia, reducción en la ingestión de los alimentos, pérdidas de peso y sangre, disminución de la condición corporal y crecimiento, así como también produce una disminución de las proteínas plasmáticas en el tracto gastrointestinal, alteraciones en el metabolismo proteico y energético, reducción de minerales, depresión en la actividad de algunas enzimas intestinales y diarrea (Entrocasso, 1988; Arévalo, 2006), a menudo es temporal y después de algunas semanas puede normalizarse (Cancino, 2005).

La disminución del consumo voluntario de alimento es común en infecciones subclínicas, con reducciones de 10-30%. A pesar de la importancia de la inapetencia, los mecanismos que la provocan están aún poco claros (Cancino, 2005).

La parasitosis interna es causada por varias especies de parásitos siendo muy importantes los que se alojan en las vísceras (rumen, cuajar, intestinos, pulmones e hígado) (Albarracín, 2003).

Los trematodos que es una clasificación de los platelmintos, son parásitos de vertebrados e invertebrados, tiene la forma alargada y aplanada dorso ventralmente, con la boca en la región cefálica. La ventosa oral para fijarse en el huésped y para la succión de los líquidos. Algunos con una segunda ventosa en el extremo posterior denominada acetábulo (Pizano y Torres, 2011).

2.2.2. Paramphistómidos

Pinedo, (2011; 6) Manifiesta que:

“Atendiendo a la definición de la OMS, la paramphistomosis estaría categorizada como enfermedad emergente puesto que se ha incrementado el conocimiento de su extensión, durante los últimos años, en diferentes países europeos como Italia, Francia y España, y países americanos, como México, Venezuela, Brasil y Argentina”.

El Paramphistómido es una trematodiasis de infección parasitaria, causada por sus anfitomas (presencia de ventosa oral y un acetábulo desarrollado-digeneo) en los pre estómagos, e intestino delgado de los rumiantes, provocando en la fase adulta diarrea, debilidad, deshidratación, anorexia y mucosas pálidas (Pinedo, 2011; Sanabria, 2012).

La familia *Paramphistomidae* afectan el tracto digestivo de los rumiantes, los cuales alteran la digestión y la utilización de los alimentos, produciendo bajas notorias

en la productividad reflejándose en pérdidas económicas de las principales producciones (Rodríguez, 2013; Urquhart, et al., 2001).

Los Paramphistómidos se alimentan de los líquidos que succionan por bombeo del huésped. El esófago se va a dividir dos sacos ciegos o sacos intestinales. No tiene sistema de transporte interno. Los sacos distribuyen nutrientes a través de los fluidos del parénquima. Presentan un par de protonefridios (órgano de excreción, cuyo extremo interno termina en forma ciega) que se disponen a ambos lados del cuerpo (Pizano y Torres, 2011).

2.2.2.1. Etiología.

La familia *Paramphistomidae* está constituida por tres géneros de importancia en medicina veterinaria: *Paramphistomun*, *Cotylophoron* y *Calocophoron*; con sus diferentes especies. En Cajamarca, en la actualidad se describe al *Calicophoron microbothioides*, el cual ha sido determinado mediante estudios morfométricos y moleculares (Torrel y Paz, 2015).

2.2.2.2. Taxonomía.

La clasificación que se realiza, dentro de los seres vivos es la siguiente (Piña, 2013; 14).

<i>Phylum</i>	: <i>Platyhelminthes</i>
<i>Subphylum</i>	: <i>Cercomeria</i>
<i>Superclase</i>	: <i>Cercomeridea</i>
<i>Clase</i>	: <i>Trematoda</i>
<i>Subclase</i>	: <i>Digenea</i>
<i>Orden</i>	: <i>Paramphistomiformes</i>

Superfamilia : *Paramphistomoidea*

Familia : *Paramphistomidae*

Género : *Paramphistomum sp.*

2.2.2.3. Característica morfológica.

Calicophoron microbothiroides. Morfológicamente se identifican por ser conoide con cara ventral algo excavada y la dorsal es saliente (convexa), cuerpo doblado, de un color rojo cárnico (rosado) o rojo radiante, midiendo aproximadamente de 4 a 15 mm de longitud por 2 a 5 mm de ancho (Torrel y Paz, 2015).

2.2.2.3.1. Tegumento (Cutícula).

La Cutícula no tiene espinas, es una capa sin células de forma basófilo más o menos homogénea, con un espesor que va entre 7 a 16 micras. En la zona externa es de tipo sincitial (célula con muchos núcleos), acá se encuentran mitocondrias, retículo endoplasmático, distintos tipos de vacuolas, raramente, gránulos de glucógeno. La zona interna del tegumento está formada por citones (cuerpos celulares), nucleadas en las profundidades del parénquima que poseen vacuolas (intercambio del agua), retículo endoplasmático, mitocondrias, cuerpos de Golgi, depósitos de glucógeno y distintos tipos de vesículas y el núcleo (Velástegui y Guerra, 2012).

En el tegumento se realiza absorción y metabolismo de los nutrientes, también está implicado en la protección contra efectos enzimáticos y del sistema inmunitario del hospedador, a veces, en la lisis y digestión extracorpórea de células del mismo (Cordero, et al., 1999).

Entre la zona externa e interna existen puentes citoplasmáticos, una capa de fibras de tejido conectivo denominada membrana basal y músculos circulares y

longitudinales. En el tegumento existe glucógeno, polisacáridos, lípidos, mucopolisacáridos, mucoproteínas y enzimas (fosfatasa ácida y alcalina, esterasas y aminopeptidasas) (Velástegui y Guerra, 2012).

2.2.2.3.2. Aparato digestivo de los Paramphistómidos.

La ventosa bucal u oral (organela de alimentación) mide de 1*1,08mm, tiene algunas veces un par de bolsas; no hay laringe, pero si existe faringe, siendo el ciego intestinal simple. A partir del corto esófago se bifurcan dos ramas intestinales que llegan a la ventosa o acetábulo ubicada en el extremo posterior; es la parte de fijación (organela de fijación) que puede estar muy desarrollada y está rodeada de una protuberancia y mide 1-2,5mm (Quiroz, 2005; Velástegui y Guerra, 2012).

2.2.2.3.3. Aparato excretor de los Paramphistómidos.

El sistema excretor de estos trematodos tienen los protonefridios que filtran el líquido intersticial, cuyas unidades funcionales son las células flama (forma de estrella) que unidas entre sí forman los microtúbulos para formar túbulos principales que desembocan en una vesícula excretora, que se abre al exterior por un poro excretor ubicado en el extremo posterior del cuerpo. Las células flama contienen un núcleo grande citoplasma granuloso y cilios (Velástegui y Guerra, 2012).

2.2.2.3.4. Sistema nervioso central.

El sistema sensorial está presente en los adultos y está formado por un anillo periesofágico donde se originan una serie de fibras y ganglios distribuidas por todo el cuerpo. En las formas libres como los miracidios y las cercarias pueden estar provistos de placas o pigmentos fotosensibles. Se han encontrado papilas táctiles en la región de

la ventosa bucal y las placas sensoriales de las formas juveniles que desaparecen en la fase adulta (Quiroz, 2005).

2.2.2.3.5. Aparato genital.

Los parásitos de género *Paramphistomum* son hermafroditas. El aparato genital masculino posee dos testículos de 1,6x 2mm, están débilmente lobulados y se ubican medialmente, casi uno detrás de otro (Borchert, 1976). Generalmente, se encuentran delante al ovario (Soulsby, 1992). De cada testículo sale un vaso eferente que se unen en la parte anterior y forman un vaso deferente común, que se ensancha cuando entra en la bolsa del cirro para formar la vesícula seminal (Cordero, et al., 1999).

En el aparato genital femenino, el útero se extiende por la parte dorsal hacia adelante y está enrollado (Soulsby, 1992). El ovario está en lugar medio o sub medio, delante o detrás de los testículos, es pequeño. Las glándulas vitelógenas (formación del huevo) laterales muy desarrollada. Del ovario sale un corto oviducto que termina en una cámara pequeña que recibe el nombre de ootipo (Cordero, et al., 1999).

El ootipo se comunica dorsalmente con el exterior mediante el canal de Laurer (o conducto del receptáculo seminal) que actúa como vagina y constituye el órgano copulador femenino por el que se introduce el cirro del macho y en el que se depositan los espermatozoides. El conducto excretor y el canal de Laurer están entrecruzados. Los óvulos formados dentro del ovario, llegan a través del oviducto al ootipo, donde son fecundados por los espermatozoides para la formación del huevo (Cordero, et al., 1999).

En el *Calicophoron microbothioides* El ovario está delante o detrás de los testículos en un lugar medio o sub medio. Los testículos son bilobulados y se sitúan en

posición posterior diagonal u horizontal. La abertura genital se encuentra en el primer tercio del cuerpo, a veces sin ventosa (Torrel y Paz, 2015).

2.2.2.3.6. Huevos.

Los huevos tienen forma ovalada (el polo operculado es más fino que el polo opuesto); miden de 140 a 158 μ por 72 a 85 μ ; en el *Calicophoron microbothioides* miden de 114–176 μ m *63-71 μ m y el promedio es 145 μ m de largo por 67 μ m de ancho. Tienen el cigoto localizado en la parte medial posterior a diferencia del huevo del trematodo hepático que lo presenta en posición medial anterior. La cubierta es delgada e incolora y las células embrionarias se encuentran completamente delimitadas. En el polo posterior se observa una protuberancia. Se trata de huevos más claros que los de *Fasciola hepática* (Novoa y Díaz, 2001; Pinedo, 2011; Torrel y Paz, 2015).

2.2.2.3.7. Miracidio.

De forma ovoide y alargada, tiene cilios en su extremo anterior (tegumento) que le permite su desplazamiento en el agua, es la forma infectiva para el hospedero intermediario, es ancho en su parte anterior con una papila móvil y una glándula apical, que permite la penetración en el caracol (hospedero intermediario). El sistema excretor está formado por dos o tres células flamígeras, que recogen los desechos y los expulsan a través de los dos poros excretores situados lateralmente (Cordero, et al., 1999; Piña, 2013).

2.2.2.3.8. Esporocisto.

Algunas células germinales se transforman en masas germinales que dan lugar a la siguiente generación larvaria que es el Esporocisto madre o de primer orden, es la primera forma larvaria que se desarrolla dentro del molusco, es de forma sacciforme de

93 por 53 μ . Al cabo de 21 días los esporocistos ya están maduros y contienen cada uno de ellos un máximo de 8 redias (Cordero, et al., 1999; Piña, 2013).

Los esporocistos no poseen aparato digestivo, nervioso o reproductor, aunque existen células flamígeras. En el centro del esporocisto hay una cámara de incubación, donde se encuentran las masas germinales, que darán lugar a la siguiente generación larvaria (Piña, 2013).

2.2.2.3.9. Redias.

Las redias miden de 1,2 por 0,15mm de tamaño, a los 20 días se liberan y producen las redias hijas, y aproximadamente desde los 39 días producen redias nietas a nivel de las glándulas del intestino medio (Cancino, 2005).

Existen una o dos generaciones de redias, la redia es alargada tiene una boca en su extremo anterior que se comunica con la faringe, se continua con un saco intestinal ciego cuya longitud es variable, poseen una especie de collar a nivel de la faringe y cerca de él un tocostoma o poro obstétrico, un par de apéndices o aletas, localizadas alrededor de un tercio del extremo posterior, que le ayudan en su movimiento (Piña, 2013).

2.2.2.3.10. Cercarías.

Las cercarías tienen el color marrón oscuro y tienen 2 manchas oculares. Miden de 350 por 280 μ (cercarias pigmentadas), poseen una cola larga y propulsora y una faringe de 50 μ . Las cercarias abandonan los caracoles en los instantes de mayor intensidad solar y de gran claridad, nadan cerca de la superficie del agua de un lado para otro y se fijan a las plantas (Cancino, 2005).

Las larvas se caracterizan por su forma redondeada y la presencia de ventosas anteriores y posteriores (Novoa y Díaz, 2001).

2.2.2.3.11. *Metacercarias.*

Al perder la cola las cercarías se enquistan en el medio externo evolucionando a metacercaria que tiene todas las características morfológicas del adulto, las gónadas son afuncionales. Es la forma quística infectiva, que es ingerida por los animales que pastan, miden 250 μm y está rodeada de dos membranas: una externa de estructura fibrosa y otra interna (Torrel y Paz, 2015; Piña, 2013).

2.2.2.3.12. *Forma adulta.*

El parásito adulto se localiza en el rumen, especialmente en la superficie dorsal del pilar anterior y en la posición dorsal y ventral del pilar posterior. Las formas juveniles pueden encontrarse en el retículo, abomaso, intestino delgado y raramente en las vías biliares (Novoa y Díaz, 2001).

2.2.2.4. *Metabolismo.*

El metabolismo del parásito se encuentra íntimamente relacionado con la calidad y cantidad de metabolitos disponibles para la nutrición del hospedador (Astete - Espinoza y Cáceres , 2000). El grado de medida depende de la carga patológica de la parasitosis, de la edad y el estado de defensa del animal infectado, produciendo en el digestivo patologías de tipo inflamatorio, inmunológico, disfunciones y alteraciones en la absorción (Cardona, et al., 1999; Andresen, 2009).

En estas condiciones el parasitismo gastrointestinal daña la mucosa del tracto digestivo, reduciendo la superficie de absorción de nutrientes. Esto afecta entre otras

cosas a la tasa de crecimiento, lo que provoca reducción en el potencial de la producción, aparte del efecto en el crecimiento de los animales (Alomar, et al., 1997).

Los Paramphistómidos se alimentan del líquido ruminal, habiéndose encontrado bacterias y protozoos ruminales en su intestino. En general dado a que su metabolismo es preponderantemente anaerobio requiere de hidratos de carbono para el sostén metabólico (Sanabria, 2013).

Poco se conoce sobre el aprovechamiento y el metabolismo de los nutrientes, para mantener el equilibrio homeostático de estos trematodos a nivel molecular y macrosistémico (absorción, digestión, metabolismo y eliminación). Probablemente la absorción de nutrientes, que son captados del contenido rumino reticular, lo realiza a través del tegumento o mediante el aparato digestivo, demostrando también la ingesta de células del epitelio y otros tejidos del hospedador en los ciegos de estos trematodos, e incluso, sangre durante las fases juveniles. Algunos miembros del género *Paramphistomum* presentan la peculiaridad, de sintetizar lípidos complejos usando sustratos endógenos, produciendo fosfolípidos utilizando glucosa y acetato, lípidos neutros, al incorporar ácido oleico y palmítico, y colesterol de manera independiente (Sanabria, 2013).

2.2.2.5. Hospederos intermediarios.

Los hospedadores intermediarios son moluscos pulmonados de agua dulce, que pertenecen principalmente a la familia *Bulinidae* (*Bulinus*) y *Lymnaeidae* (*Lymnaea* y *Fassaria*) (Torrel y Paz, 2015).

Los miembros de la familia *Lymnaeidae* se pueden reconocer fácilmente por ser habitantes de agua dulce, con concha cónica y puntiaguda, tiene giros enrollados en

espiral, siempre en forma dextrógiro, o sea la abertura se encuentra a la derecha. Son hermafroditas, con hábitos anfibios, bien en las márgenes húmedas de la vegetación acuática y sobre el lodo del fondo acuático. El caracol se alimenta de detritos vegetales y materia orgánica; su hábitat permanente son lagos, lagunas, ríos tranquilos y áreas pantanosas (Cabra y Herrera, 2007).

2.2.2.7. Ciclo biológico.

Este parásito poco estudiado, tiene un ciclo de vida complejo que involucra dos hospederos (caracol y rumiante). El parásito adulto vive en el rumen y rara vez en el retículo, omaso y abomaso del hospedero definitivo, lugares donde su ciclo se inicia con la ovoposición, cuyos huevos incompletos embrionados salen al exterior juntamente con las heces (Ojeda-Robertos, et al., 2014; Cordero, et al., 1999). En producciones medias de 75/huevo/día que son operculados parecidos a los de *Fasciola*, con una longitud de 140-158x72-85µm. En medio acuático y a temperatura de 15-24°C se completa la embriación, naciendo el miracidio, este penetra en la cavidad respiratoria del hospedador intermediario, es una larva ciliada, con glándulas de penetración, activa no más de 4 horas (Piña, 2013).

El tiempo de desarrollo hasta la fase de miracidio varía según la temperatura del medio ambiente. Demostrándose in vitro que el tiempo de desarrollo dura aproximadamente 44 días a 16°C (Torrel y Paz, 2015).

Los miracidios abandonan el huevo, se desplazan por el agua y se introducen en un caracol acuático (género *Bulinus*, *Lymnaea* o *Fassaria*) a través del neumostoma posterior de la cavidad del manto; también consiguen penetrar por las partes expuestas del caracol. Los caracoles jóvenes son más receptivos que los mayores, porque la cavidad del manto está completamente llena de agua y la abertura pulmonar está

siempre abierta. Al cabo de 12 horas, los miracidios pierden los cilios superficiales y se forma el esporocisto alargado que miden de $93 \times 53 \mu$ (Borchert, 1976).

El desarrollo dentro del caracol en condiciones favorables (26-30°C) se completa en cuatro semanas. A cabo de 11 días los esporocistos están maduros con 8 redias, como máximo, cada uno de ellos. Luego las redias se liberan y experimentan un notable crecimiento. A los 21 días post infección, miden entre 0,5 y 1mm de longitud, y contienen entre 15 y 30 cercarías. En ciertas condiciones se forman redias hijas. Cuando las cercarías son eliminadas de las redias, aún son inmaduras y necesitan un tiempo de maduración en los tejidos del molusco antes de ser eliminadas. Este periodo a 27°C es de 13 días (Torrel y Paz, 2015).

Al estímulo de la luz, las cercarías son eliminadas del caracol. Las cercarías liberadas son identificables como "anfistoma" por la presencia de la ventosa oral y la posterior. Son activas por algunas horas, y luego se enquistan en la vegetación u otros objetos que se encuentran en el agua. Al cabo de unos 20 minutos, el enquistamiento se ha completado, y las nuevas metacercarías se oscurecen hasta ser casi negras. La viabilidad de esta fase se mantiene durante un periodo de alrededor de tres meses (Torrel y Paz, 2015).

Después de la ingestión de las metacercarías enquistadas con la hierba, todo el desarrollo en el hospedero definitivo tiene lugar en el tracto digestivo. Después de desenquistarse en el duodeno, las fases juveniles se fijan y alimentan en dicha localización por seis semanas antes de desplazarse hacia los pre estómagos donde alcanzan la madurez. El periodo de prepatencia oscila entre 7 y 10 semanas (Soulsby, 1992).

Este parásito en su forma adulta se localiza en el rumen (especialmente en la superficie dorsal del pilar anterior y en la porción dorsal y ventral del pilar posterior), retículo y omaso, que son los lugares de predilección de los Paramphistómidos (Torrel y Paz, 2015).

Los huevos aparecen en las heces a los 56 días en los bovinos. El huésped intermediario de *Paramphistomum ichikawai* y *Paramphistomum cervi* son caracoles de los géneros *Bulinus*, *Glyotanusis*, *Indoplanorbis*, *Lymnaea*, *Norbis*, *Pseudosuccinea*, *Fossaria*, *Phyganisus* y *Glyptaninus* (Quiroz, 2005).

2.2.2.8. Epidemiología.

Pueden resultar afectados los rumiantes de cualquier edad, estando más expuestos los jóvenes (un año de edad) (Torres y Sosa, 2002). La mortalidad en grupos de animales infectados puede llegar a 90%. Los brotes ocurren generalmente al final del verano, en otoño y a inicios de invierno, época en que los pastos se encuentran muy contaminados por metacercarias enquistadas (Rodríguez, 2013).

El hábitat adecuado para los caracoles son los ambientes húmedos, con abundante vegetación y temperaturas moderadas, que constituyen el hábitat idóneo para el hospedador intermediario. Como tal pueden actuar caracoles de los géneros *Bulinus*, *Glyptaninus*, *Indoplanorbis*, *Planorbis* y *Lymnaea*, siendo estos últimos los más frecuentes en Europa y América (Paz, 2007).

La supervivencia de estos moluscos se ve favorecida en zonas con escasa pendiente, que favorecen el encharcamiento de los terrenos. En general, el riesgo de infección a lo largo del año está directamente relacionado con las precipitaciones (Paz, 2007).

Los rumiantes se infectan mediante la ingestión de metacercarias emitidas por los caracoles, que se desenquistan en el intestino; los Paramphistómos juveniles migran a través de la mucosa intestinal hasta alcanzar el rumen, retículo e incluso abomaso, donde se transforman en parásitos adultos (Paz, 2007).

El grado de prevalencia de los Paramphistómidos está basado en las siguientes aproximaciones: cuando la prevalencia de la enfermedad es de 20% se considera alto, entre 10 a 20% lo consideran moderado y menor de 10% se considera bajo (Brotowidjoyo y Coperman, 1979).

2.2.2.9. Síntomas clínicos.

En infecciones graves se han asociado adelgazamiento, anemia, un pelaje seco y áspero y una disminución de la producción, pudiendo desarrollar inmunidad, proporcionando protección parcial frente a infestaciones posteriores, especialmente en ganado vacuno, aunque los trematodos adultos continúan produciendo huevos. (Velástegui y Guerra, 2012).

En la fase juvenil, las primeras manifestaciones clínicas se ponen de manifiesto a las dos a tres semanas de la infección como son: diarrea fétida y profusa, anorexia y pérdida de peso, pudiendo producir gastroenteritis combinadas con diarrea sanguinolenta, sobre todo en los animales jóvenes siendo más evidente en infecciones masivas a nivel del duodeno, la morbilidad y la mortalidad son altas llegando incluso la muerte profusa en un 90% en brotes agudos. Los animales incrementan el consumo de agua debido a la deshidratación causado por la diarrea (Cordero, et al., 1999; Velástegui y Guerra, 2012; Radostis, et al., 2002).

La actividad ejercida en los estadios inmaduros, durante la patogenia, a nivel del intestino delgado, el parásito sale del quiste y penetran en la mucosa causando erosiones, petequias y necrosis. Lesiones que causan perturbaciones intestinales con pérdida del apetito llegando, en ocasiones, a la anorexia completa. Al mismo tiempo se produce pérdida plasmática que desencadena edemas generalizados y presencia de una hipo albuminemia, causando consecuencias fisiopatológicas. Hay presencia de hidrotórax, edema submandibular, atrofia de la grasa corporal y ascitis, entre otros signos. En animales que sobreviven hay presencia de cierto grado de atrofia muscular (Cordero, et al., 1999).

Las alteraciones clínicas producidos por los vermes en la fase adulta (curso crónico) adheridos a las mucosas del rumen, retículo y omaso; ocasionan como principal manifestación el retardo del crecimiento en animales jóvenes asociado a un deficiente estado nutricional del animal relacionándose con adelgazamiento, anemia, pelaje seco y áspero y una disminución de la producción en animales adultos, siendo menores a los originados en la fase juvenil emigrante (Cordero, et al., 1999; Urquhart, et al., 2001; Radostis, et al., 2002).

La caracterización clínica en los animales con Paramphistómidos bovina, un 100% de los animales presentaron diarrea y pelo hirsuto; el 80% de las mucosas pálidas; 45% emaciación y un 5% edema sub glotíniano (Torrel, 2009).

Las primeras manifestaciones clínicas, ocasionado por *Calicophoron microbothrioides*, se ponen de manifiesto a las dos semanas de infección, describiéndose diarrea fétida y profusa, disorexia, importante pérdida de peso e incluso la muerte, los animales beben agua frecuentemente producto de la deshidratación, en

los animales adultos disminuye la producción láctea, en ocasiones, el ganado vacuno presenta hemorragia rectal (Torrel y Paz, 2015).

La extravasación de plasma produce hipo albuminemia, que junto con la reducción del apetito, causan importantes alteraciones como pérdida de peso, disminución de la condición corporal, hidropericardio, hidrotórax, edema submandibular, atrofia de la grasa corporal y ascitis. Finalmente puede ocurrir la muerte o que el animal sobreviva con cierta atrofia muscular (Torrel y Paz, 2015).

Durante la paramphistomosis crónica, la principal manifestación es el retraso en el crecimiento y deficiente estado nutricional del animal, consecuencia de la mala digestión de los alimentos, otras veces hay formación de edema submandibular y ascitis (Torrel y Paz, 2015).

2.2.2.10. Patogenia.

El ganado bovino, ovino, caprino y todo tipo de rumiantes son sensibles a ser infectados por los trematodos del género *Paramphistomum* (Junquera, 2015). Las metacercarias son las formas infectivas de estos Paramphistómidos, llegando al intestino por vía oral, luego realizan un viaje retrógrado al abomaso, desenquistándose liberando los parásitos jóvenes que migran al intestino delgado (tipo intestinal) y posteriormente pasan al abomaso, omaso, retículo y llega al rumen, (tipo ruminal), donde alcanzan la madurez sexual e inician la liberación de huevos que salen al exterior conjuntamente con las heces (Soulsby, 1992; Dirksen, et al., 2005).

La enteritis aguda como la crónica con las expresiones clínicas, se manifiestan por la presencia de grandes cantidades de parásitos inmaduros incrustados en la mucosa del abomaso, duodeno, yeyuno y nódulos linfáticos del mesenterio, surgiendo

infiltración edematosa, erosiones, petequias y necrosis tisular debida a la destrucción celular y a la reabsorción de sustancias tóxicas en la mucosa de la pared intestinal, mostrando también enteritis hemorrágica y destrucción de las células glandulares y nerviosas; lesiones intestinales que conllevan a la pérdida el apetito y en ocasiones una total anorexia del animal. Los casos graves pueden desarrollar anemia, hipoproteinemia, edemas y emaciación. No existiendo presencia de huevos en las heces (Cruz, 2003; Cancino, 2005; Borchert, 1976; Alarcón y Velásquez, 2009).

Las alteraciones morfológicas de los Paramphistómidos en los huéspedes definitivos, tienen relación directa con la cantidad de parásitos infectantes, la forma juvenil inducen lesiones patógenas en el intestino delgado, los adultos afectan a los pre estómagos, mediante una acción de estrangulación de los tejidos (adultos y juveniles) y una acción traumática por las migraciones retrógradas del parásito desde el intestino a los pre estómagos (Riu, 2004 mencionado por Fuertes 2015).

La acción mecánica, por acción del acetábulo y ventosa, llega a la submucosa destruyendo las papilas ruminales pudiendo ocasionar un síndrome de mala digestión y mala absorción de los nutrientes, similar al esquema mencionado por Torrel y Paz (2015) mostrado en la Figura 1. El contacto de los parásitos jóvenes con la submucosa ejerce una acción antigénica con impregnación del tejido linfoide y de formación de anticuerpos. La gravedad que ocasiona la acción exfoliatriz está en relación directa con la cantidad de parásitos, pues su alimentación está basada en líquidos y células del lugar donde alberga (Lapage, 1986).

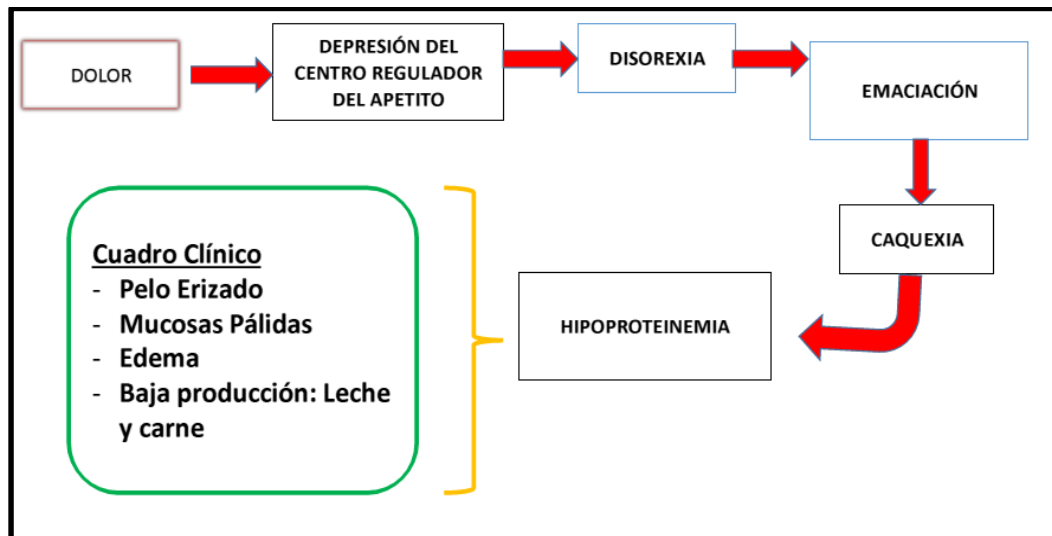


Figura 1: Esquema de la acción traumática del *Calicophoron microbothioides* en rumen y retículo. (Torrel y Paz, 2015).

Las expresiones producidas por las formas adultas, fijados en la mucosa del rumen, son mínimas, provocando lesión de la capa superficial y de los tejidos subyacentes del rumen. En el ganado joven muchas veces tiene curso mortal, aunque en el mayor número de los casos el cuadro clínico se caracteriza por diarreas sanguinolentas (Cruz, 2003). Al igual que las formas inmaduras, producen daño traumático por la fijación de su ventosa ventral que succionan parte de la mucosa y perturban la irrigación sanguínea, con pérdida de sangre, lo que puede explicar la anemia de esta parasitosis (Lapage, 1986; Quiroz, 2005).

Estos parásitos adultos situados en los pre estómagos (rumen y retículo) son bien tolerados, incluso aunque existan varios miles; se alimentan de la pared del rumen o retículo llegando a destruir gran parte de la mucosa ruminal en donde se encuentran implantados (Quiroz, 2005).

Esta infección masiva que produce hiperqueratosis (engrosamiento de la pared del rumen con acumulación de queratina) y anemia, causa pérdida de peso y baja la producción, probablemente altera la absorción de los ácidos grasos volátiles (Aceitico,

Propiónico y Butírico), disminuyendo la producción de glucosa – necesaria para el ciclo de Krebs y la glucólisis (Cruz, 2003; Alarcón y Velásquez, 2009).

Formas de presentación.

La enfermedad desarrolla una forma intestinal, provocada por trematodos inmaduros migratorios y en forma ruminal determinada por trematodos maduros (Dirksen, et al., 2005).

Paramphistomosis aguda o intestinal

La *Paramphistomosis* intestinal es causada por migratorios. Presenta riesgo de infección el ganado bovino y en menor grado el ovino. Se observa solamente en infecciones masivas especialmente en animales jóvenes; mientras que los animales mayores son capaces de soportar exposiciones masivas a las formas parasitarias, contaminando los pastos con huevos (Soulsby, 1992).

La evolución es de 2 a 3 semanas en el ganado vacuno. Los síntomas principales: diarrea, anorexia, sed, anemia, hipoalbuminemia, edema y emaciación. En este caso la mortalidad puede ser elevada (Cordero, et al., 1999).

Paramphistomosis crónica o ruminal

La *Paramphistomosis* crónica o ruminal se produce cuando, el trematodo en la fase adulta, se fija en la mucosa de la pared ruminal y retículo, debido a la ingestión de pequeñas cantidades de fases infectantes en tiempos prolongados, originando trastornos clínicos, que habitualmente no se observan síntomas, (Piña, 2013; Velástegui y Guerra, 2012).

Los trematodos adultos sexualmente maduros no están asociados con la enfermedad clínica y han sido descritos como comensales, viven en el contenido ruminal del hospedero (Dirksen, et al., 2005).

Es la forma típica de la infección. Los trematodos adultos fijados a la mucosa del rumen y retículo son bien tolerados y habitualmente no se observan síntomas. Se puede desarrollar inmunidad, que proporciona protección parcial frente a infecciones posteriores, especialmente en ganado vacuno, aunque los trematodos adultos continúan produciendo huevos (Kassai, 2002).

2.2.2.11. Aspectos inmunológicos.

En todos los animales existe una defensa frente a los efectos letales liberados en esta parasitosis. Investigaciones han demostrado que infecciones anteriores en animales adultos provocan un grado de inmunidad capaz de proteger contra reinfecciones posteriores. Esta inmunidad es parcial en rumiantes menores y completa en ganado vacuno (Piña, 2013).

La naturaleza antigénica para la producción de anticuerpos está condicionada a la capacidad de los parásitos para completar el ciclo biológico. Donde el grueso tegumento del trematodo dificulta la actividad citotóxica de las células efectoras de la respuesta inmune, además el glucocálix, que se refiere al material polímero extracelular compuesto por proteínas y carbohidratos que capta las macromoléculas del hospedador para mimetizarse o imitar con él y evitar el reconocimiento antigénico del sistema inmunitario (Fuertes, 2015).

Diversas causas intervienen en la respuesta inmune, como el número y el tamaño de los parásitos adultos a nivel del rumen, la cantidad de metacercarias en la

infección primaria. Demostrando que el uso de metacercarias irradiadas producen infección intestinal pero no ruminal, dando lugar a una fuerte respuesta inmune a la infección (Quiroz, 2005).

Los Paramphistómidos liberan moléculas de diverso origen y función denominados productos de excreción/secreción (E/S) que están involucrados en el metabolismo, la detoxicación, el transporte o en funciones estructurales; y que, junto con el tegumento evaden la respuesta inmunitaria del hospedador. Existiendo además la existencia de glucoproteínas donde se unen a anticuerpos específicos produciendo el agotamiento de éstos, dando como resultado una menor cantidad de inmunoglobulina para afectar al trematodo (Fuertes, 2015).

Pequeñas infecciones sucesivas de Paramphistómidos producen una inmunidad completa. Esto se produce cuando los parásitos jóvenes en contacto con la submucosa ejercen una acción antigénica, con impregnación de tejido linfoide, generando así la formación de anticuerpos (Quiroz, 2005).

Inmunidad que tiene como resultado una marcada reducción del número de parásitos y una protección al efecto letal que esta parasitosis ejerce sobre el hospedero. En el ganado vacuno se desarrolla una buena inmunidad, por lo que los brotes de la enfermedad están habitualmente restringidos a los animales jóvenes. Sin embargo, los adultos albergan un escaso número de parásitos adultos. Por el contrario, el ganado ovino y caprino es relativamente sensible a cualquier edad (Urquhart, et al., 2001).

2.2.2.12. Diagnóstico.

El diagnóstico clínico se basa en los antecedentes epidemiológicos locales y los signos clínicos de la enfermedad, identificando las dos fases de presentación la forma

aguda (juvenil) y la forma adulta localizada en los pre estómagos, siendo en la forma aguda los más característicos: apatía, anorexia, polidipsia y diarrea con olor fétido. En casos graves el animal muere por desequilibrios metabólicos. El análisis se realiza basado también en la presencia de hospedadores intermediarios (caracoles) en los pastos y aguas son factores importantes de sospecha de la presencia de la enfermedad parasitaria (Cordero, et al., 1999; Urquhart, et al., 2001; Fuertes, 2015).

Los signos clínicos observados los Paramphistómidos son simultáneos con otros procesos morbosos, siendo necesario realizar el diagnóstico diferencial con otras enfermedades caquécticas como la paratuberculosis, la fasciolosis y la estrongilosis. En el caso de cuadros clínicos con manifestaciones ruminales, el diagnóstico diferencial ha de llevarse a cabo con retículo-pericarditis traumática y la sobrecarga ruminal (Rieu, 2004 citado por Fuertes, 2015).

El diagnóstico coprológico está establecido en la evidencia de las formas inmaduras en la fase temprana de la infección, mediante el tamizado de las heces diarreicas en una malla de 200 μm de diámetro de criba, no existiendo una relación significativa entre la cantidad de parásitos recuperado en las heces y la carga parasitaria, enfatizando que este método es poco fiable (Rieu, 2004 mencionado por Fuertes 2015).

La presencia de los huevos en las heces cuando los trematodos han completado su ciclo biológico, es el más utilizado. La técnica de sedimentación y decantación, es el método para la identificación de los huevos, pudiendo encontrar duelas inmaduras que fueron expulsadas con las heces. Los huevos por ser grandes, operculados y claros se reconocen fácilmente, en cambio en la forma aguda no existen huevos en las heces. La ocurrencia conocida en el área y el examen de las heces líquidas pueden relevar trematodos inmaduros. En el laboratorio, para confirmar formas juveniles se necesita

colectar una muestra de 300g de heces, se homogeniza con agua y se filtra en un tamiz de 53 μ de abertura, el residuo se puede examinar microscópicamente o macroscópicamente sobre un recipiente de fondo negro donde aparecen trematodos color rosa con un gran acetábulo. Para comprobar la existencia de huevos, se realiza el método de sedimentación de Dennis, Stone y Swanson (modificado por Boray) (Cruz, 2003).

A los resultados de la coprología podrían inducir a error por la similitud de los huevos de *Fasciola hepática* y de los Paramphistómidos; por otro lado, en las pruebas serológicas se producen reacciones cruzadas. Por todo ello, la interpretación de lesiones y sobre todo el hallazgo de los trematodos durante la necropsia resultan ser definitivos (Cordero, et al., 1999). La sensibilidad y especificidad de los diferentes métodos de diagnóstico coproscópicos varían entre el 82-94% y el 90-98% respectivamente (Fuertes, 2015).

Las técnicas inmunológicas para detectar anticuerpos parasitarios en sangre periférica como la detección de coproantígenos se han obtenido resultados prometedores en infecciones subclínicas. Estos métodos presentan mayor especificidad y sensibilidad que las técnicas anteriores. La técnica de inmunoadsorción ELISA que es una técnica de inmunoensayo, donde el antígeno inmovilizado es detectado mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable, como cambio de color o algún otro tipo. La aparición de colorantes permite medir indirectamente mediante espectrofotometrías (Fuertes, 2015).

Se han empleado diferentes pruebas serológicas, así como extractos antigénicos de los vermes adultos e inmaduros y de metacercarias, en pruebas intradérmicas. Una reacción cutánea de color rojo oscuro, rodeada de una zona edematosa dentro de los 30

minutos que siguen a la inoculación en la región axilar de los antígenos mencionados, denota signos de positividad. También se ha usado la fijación del complemento y pruebas de precipitación alrededor de parásitos vivos (Cordero, et al., 1999).

Existen otros métodos de diagnóstico como los métodos morfoanatómicos, previa fijación en etanol y tinción con carmín borácico, como el empleo de técnicas histológicas, permiten la identificación de los Paramphistómidos, éste método tiene una corta sensibilidad especialmente en la caracterización de las fases larvarias del parásito. Los métodos diagnósticos basados en la técnica PCR se han obtenido un mayor conocimiento del genoma de los Paramphistómidos. El estudio del material genético, tanto mitocondrial como nuclear; al almacenamiento de las secuencias en bases de datos permiten el diseño rápido de *primers* y la adaptación de los propios procedimientos (Fuertes, 2015).

2.2.2.12.1. Lesiones a la necropsia.

La coloración normal de la mucosa del rumen es verde grisáceo que rodea al tejido; cuando los parásitos adultos de Paramphistómidos están insertos al epitelio del rumen, fijados en la base de las papilas por el acetábulo del trematodo, provocan presión, presentando zonas de necrosis, las papilas se encuentran atrofiadas y anémicas en sus puntas, que al desprenderse los trematodos de la mucosa quedan botones prominentes donde estuvieron fijados (Quiroz, 2005; Piña, 2013).

Con altas dosis infectantes de Paramphistómidos, en ganado ovino, se ha demostrado fusión de las papilas ruminales formando agregados de un centímetro de diámetro y medio centímetro de largo con el contenido ruminal firmemente adherido a ellos, afirmando que las papilas subyacentes tenían una coloración roja y mostraban un acortamiento en su longitud. En el retículo, a pesar de constatarse la presencia de formas

adultas de Paramphistómidos, no se han descrito lesiones macroscópicas (Fuertes, 2015)

La permanencia del problema en los Paramphistómidos de la forma juvenil depende de la cantidad de parásitos, provocando enteritis catarral o hemorrágica con las heces de color café, rojo oscuro y presencia de sangre o el contenido es de color viscoso. Los cadáveres están considerablemente emaciados, con presencia de atrofia serosa, hidrotórax, hidropericardio y ascitis, pudiendo perforar el intestino y llegar a la serosa y a veces se le ve en el líquido peritoneal con los conductos biliares aumentados y vesícula distendida. En la fase crónica hay presencia de atrofia del bazo y muscular, atonía ruminal, ganglios linfáticos edematosos, intestinos hiperémicos y vasos sanguíneos congestionados (Quiroz, 2005).

A las lesiones microscópicas en el rumen las papilas manifiestan signos de degeneración con multiplicación del epitelio estratificado escamoso con presencia de edema o hidropesía con la acumulación de líquido en el espacio del tejido intercelular e intersticial de la capa epitelial e introducción linfocitaria en la lámina propia y algunas veces en el epitelio y submucosa del rumen (Quiroz, 2005).

Los cambios microscópicos producidos por los Paramphistómidos adultos residen en un engrosamiento y aumento de tamaños de las células del estrato córneo del epitelio ruminal. En las zonas necrosadas por acción del acetábulo hay presencia de micro abscesos en el estrato córneo y en la unión de la dermis con la epidermis o la membrana basal hay un ligero infiltrado inflamatorio con presencia de eosinófilos con escasos linfocitos y células plasmáticas (Fuertes, 2015).

En el intestino delgado a nivel del duodeno hay presencia de descamación y necrosis de las criptas de Lieberkuhn y las capas superficiales del epitelio. Las

vellosidades intestinales están congestionadas, dilatadas y a veces rotas, la necrosis es superficial; pudiendo llegar hasta la capa muscular y mucosa. Las glándulas de Brunner están extendidas con presencia de eosinófilos, linfocitos y células plasmáticas; en ocasiones con Paramphistómidos embebidos en la glándula, las muscular de la mucosa o en la mucosa con congestión alrededor del parásito (Quiroz, 2005).

En la determinación patológica de la *Paramphistomosis* bovina, el 80% (16/20) de los animales presentaron caída de las papilas ruminales con mucosa ruminal pálida y el 45% (9/20) queratinización de la mucosa ruminal; 20% (4/20) presentaron rumen aparentemente normal; el 5% (1/20) omaso aparentemente normal (Torrel, 2009).

2.2.2.13. Tratamiento.

Existe poca información sobre la eficacia de los fármacos, indicando que la actividad de éstos frente a los distintos estadios evolutivos es variable, siendo la acción de las drogas sobre los inmaduros y escaso o nulo efecto frente a los parásitos adultos y viceversa (Sanabria, 2006). La quimioterapia se dirige por un lado al tratamiento contra los gusanos adultos localizados en el rumen y, por otro, a la actuación contra los brotes agudos de la enfermedad ocasionados por vermes jóvenes. (Cordero, et al., 1999).

Para el tratamiento de las formas adultas se utiliza el hexaclorofeno, suspensión de hexacloroetano en bentonita, tetraclorodifluoretano y rafoxanide, en dosis de 8 a 10 mg/kg (Quiroz, 2005). Para el tratamiento de formas inmaduras y adultas del Paramphistómido se emplean el Bitionol, en la dosis de 25-100mg/kg pv, y Resorantel, en la dosis de 65mg/kg pv. El empleo de Bitionol en dosis elevadas causa toxicidad (Barriga, 2002).

Estudios realizados recientemente en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca muestran que la eficacia de Oxiclozanida al 3,4% por vía oral en dosis de 12mg/kg de peso vivo, para el tratamiento de bovinos con Paramphistómidos en el fundo “San Vicente de Paúl” de la campiña de Cajamarca fue del 37,13% a los 8 días post-dosificación, y de 56,54% a los 16 días post-dosificación, por lo que considera insuficientemente activa (Torrel y Paz, 2015).

La eficacia de Oxiclozanida al 10% por vía oral en dosis de 17mg/kg de peso vivo como tratamiento para el control del Paramphistómido en el fundo “Tartar Pecuario” de la campiña de Cajamarca fue de 80,77% a los 8 días post-dosificación y de 86,81% a los 16 días post dosificación, resultados que llevan a considerarla moderadamente eficaz (Torrel y Paz, 2015).

Se ha demostrado que dosis de 15 mg/kg de peso vivo por vía oral, la Oxiclozanida inhibe la fosforilación oxidativa, bloquea la incorporación de fósforo inorgánico para la formación de ATP y ADP y disminuye el metabolismo glucolítico, lo que reduce la cantidad de energía del parásito. La vida media terminal de la Oxiclozanida es muy prolongada y puede encontrarse residuos por períodos largos en hígado, el tiempo de retiro para carne de bovino es de 28 días, aunque algunos autores mencionan que por su larga persistencia en el organismo el tratamiento en vacas lecheras está contra indicado. Tiene una eficacia del 99,9% frente a los estadios inmaduros, pero sólo un 18% frente a los estadios maduros a dosis de 17 mg/kg de peso vivo dos veces cada tres días (Torres y Sosa, 2002).

2.2.2.24. Prevención y control.

Una de la causa participante en la infección, es la presencia de animales portadores (vacas) que pastan en el mismo potrero que los becerros. Aunque parece de

utilidad tratar a los portadores, eliminar la población de anfitomas dentro de ellos puede tener el inconveniente de que, junto con los parásitos, desaparezca la inmunidad y se presenten los Paramphistómidos en los animales adultos, lo cual rara vez ocurre (Dunn, 1978).

Deben comprender las acciones quimioterapias con la preservación de la entrada de los animales a los lugares poblados por moluscos intermediarios, especialmente en las épocas que determinen los patrones locales de transmisión, lo que se puede conseguir con el establecimiento de simples barreras mecánicas o traslado de pastos (Cordero, et al., 1999). Lo mejor es no dejar que el ganado pastoree cerca de los encharcamientos durante la época de seca. Estas áreas se deben cercar y henificar o ensilar la pastura (Angus, 1978).

El control de los caracoles adoptando medidas de tipo ecológico, mediante la destrucción o aislamiento de hábitat biológico, como la introducción de especies competidoras, animales o vegetales de acción molusquicida, siendo la mejor forma de control los métodos de drenaje de las zonas bajas y prácticas de manejo de potreros y bebederos para evitar la posible ingestión de metacercarias por parte de los vacunos (Cruz, 2003). Demostrando que la vacunación con larvas irradiadas de *Paramphistomun microbothirium* es un método eficaz de control en óvidos, bóvidos y cápridos (Radostis, et al., 2002).

2.2.3. Importancia del rumen

La función del rumen, permite que los alimentos ingeridos, mediante la fermentación bacteriana, protozoarios y hongos, degradar los carbohidratos fibrosos o hidratos de carbono estructurales del forraje, como la celulosa, hemicelulosa y pectina, así como aprovechar la proteína (fuentes de nitrógeno no proteico) en componentes más

pequeños digeribles, produciendo ácidos grasos volátiles (AGV) y proteína microbiana, necesarios para proveer al organismo la energía y proteína, como elementos fundamentales para la vida, eliminando los productos residuales en forma adecuada. Las sustancias nutritivas tienen que ser convertidas a sustancias químicamente más pequeñas para su absorción y transportadas a los distintos tejidos del organismo (Novoa y Díaz, 2001; Bondi, 2008; Relling y Mattioli, 2003).

En un rumiante adulto el rumen puede contener de 150 a 200 litros de material, representando una capacidad del 70 al 75% del tubo digestivo de los rumiantes y puede llegar a ocupar hasta los $\frac{3}{4}$ partes de la cavidad abdominal y junto con su contenido representa alrededor del 30 % del peso vivo del animal. El rumen se divide en cuatro cavidades (Figura 2): el retículo (red o redecilla), el rumen (panza), el omaso (librillo) y el abomaso (cuajar); solo este último es glandular y funcionalmente análogo al estómago del no-rumiante, mientras que en los anteriores la mucosa está cubierta por un epitelio queratinizado y son aglandulares (Ramos, 2008; Relling y Mattioli, 2003).

Las condiciones retículo-ruminales para el desarrollo de los microorganismos incluyen: aporte de nutrientes, anaerobiosis, pH, presión osmótica, temperatura, fácil acceso de los microorganismos al alimento y eliminación de los productos de desecho de este sistema (Relling y Mattioli, 2003).

2.2.3.1. Anatomía macroscópica del rumen.

El rumen se ubica en el lado izquierdo de la cavidad abdominal, es el más grande de los pre-estómagos, y se extiende desde el diafragma hasta la cavidad pélvica. Se divide en sacos o compartimentos separados por los surcos longitudinales derecho e izquierdo que dan a su vez los sacos dorsal y ventral, también los surcos coronarios anterior y posterior que da lugar a los sacos ciegos anteriores y posteriores. Su cara

parietal se relaciona con el diafragma, pared izquierda del abdomen y el bazo. Su cara visceral se relaciona con el omaso, el abomaso, el hígado, el páncreas, el intestino, el riñón, el útero en la hembra, la aorta posterior y la vena cava (Sisson, 1974). La siguiente ilustración da una idea de la disposición de las partes del rumen.

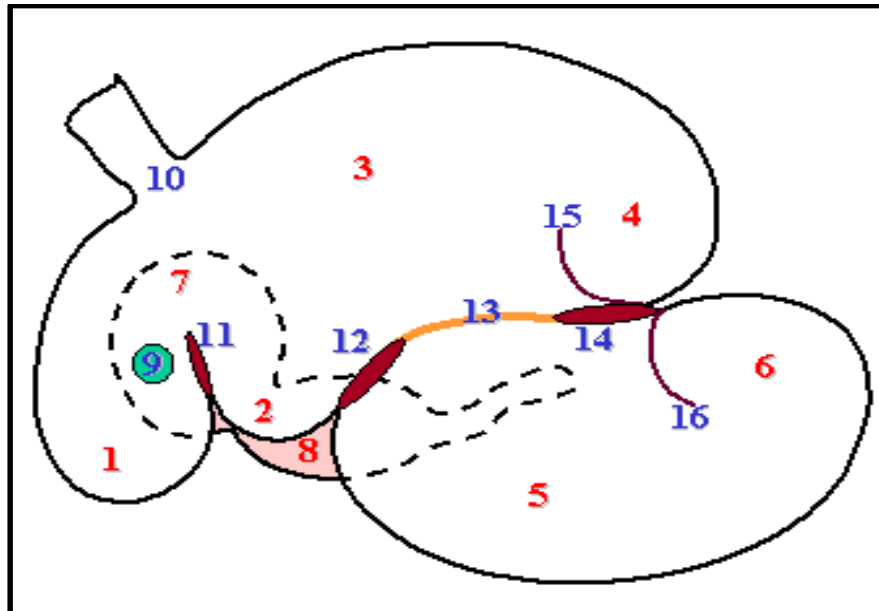


Figura 2: Diagrama del rumen, retículo, omaso y abomaso de bovino.

Fuente: Nava y Díaz (2001).

1. Retículo, 2. Rumen (saco craneal), 3. Rumen (saco dorsal), 4. Rumen (Saco ciego dorsal) 5. Rumen (Saco Ventral), 6. Rumen (saco ciego ventral), 7. Omaso, 8. Abomaso, 9. Orificio Retículo Omasal, 10. Cardias, 11. Pliegue retículo-omasal, 12. Pilar craneal, 13. Pilar longitudinal, 14. Pilar caudal, 15. Pilar coronario dorsal, 16. Pilar coronario ventral.

2.2.3.2. Observación Microscópica del Rumen.

Histológicamente el rumen está constituido por las capas: mucosa, submucosa, muscular, adventicia y serosa (Torres y Sosa, 2002).

El rumen presenta una mucosa con una lámina epitelial revestida por un epitelio estratificado plano queratinizado (Figuras 3 y 5) que constituye las papilas cónicas macroscópicas que se localizan forma de lengüeta, de tamaño variable según la región, con una parte central compuesta por una densa red de fibras colágenas, elásticas y de reticulina (escleroproteína de las fibras conjuntivas del tejido reticular). La lámina

propia es de tejido fibroelástico (predomina la fibra colágena y elastina) y no tiene glándulas y contiene la red de capilares sanguíneos (Triviño, 2010; Salazar, et al., 2013; Laplace, 1968).

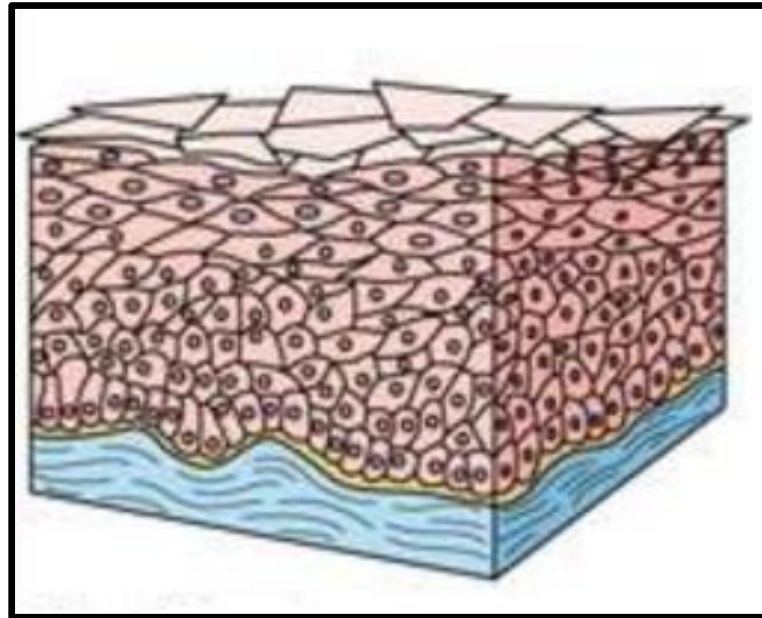


Figura 3: Epitelio escamoso estratificado queratinizado.
Fuente: Gonzalez (2012).

En el tejido conectivo laxo las capas epiteliales de la mucosa, no están bien definidas, y las células del estrato córneo casi siempre se hallan hinchadas o vesiculadas y aplanadas en el ápice papilar. La lámina propia de la mucosa es un espacio de tejido conjuntivo subyacente a la capa epitelial, es tejido colágeno laxo (figura 4) que es un tejido muy abundante que contiene bajo porcentaje en fibras, predominando la fibra del colágeno, algunos fibroblastos, macrófagos y sustancia fundamental de la matriz extracelular que se mezcla con la submucosa. Una condensación de fibras de tejido conjuntivo en la zona de la lámina propia submucosa se extiende hacia la papila. La función de la lámina propia mucosa es nutrir y controlar el epitelio, ya que en esta se encuentran pequeños vasos y nervios (Novoa y Díaz, 2001; Torres y Sosa, 2002).

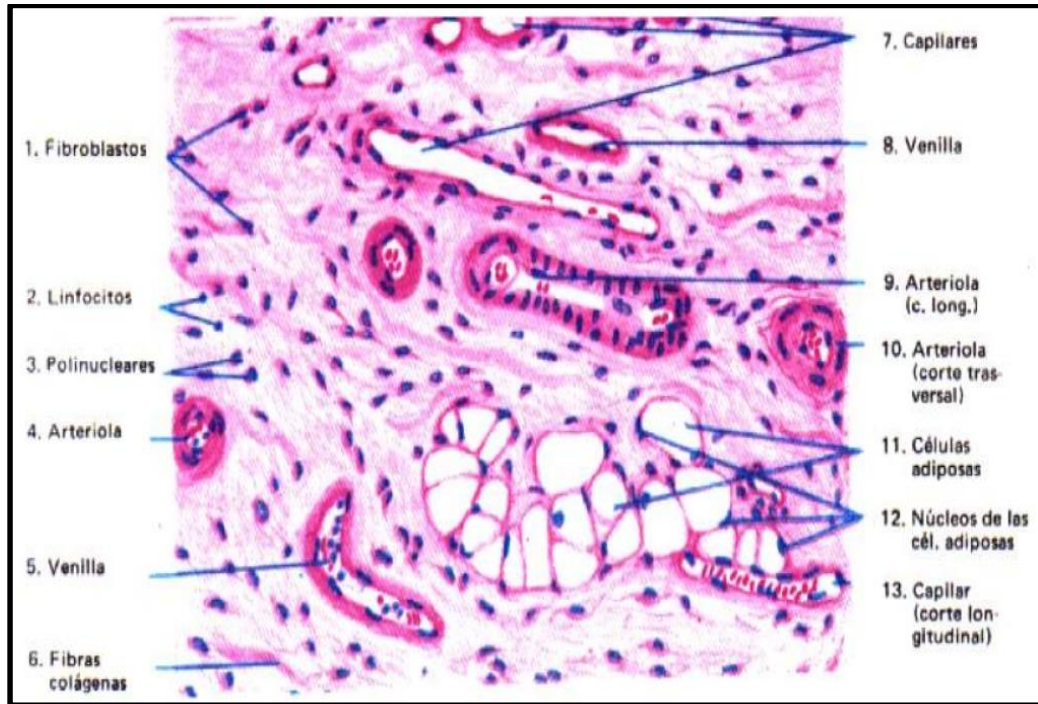


Figura 4: Tejido conectivo laxo. (Coloración Hematoxilina – eosina 300 X)
Fuente: Fiore (1997)

La submucosa está formada por tejido conectivo laxo y es delgada (figura 5). Como no existe la muscular de la mucosa, la lámina propia se continúa con la submucosa. La lámina propia de la submucosa carece de nódulos linfáticos y es aglandular. En su espesor se encuentra una red de vasos sanguíneos y plexos nerviosos (Triviño, 2010; Novoa y Díaz, 2001).

La túnica muscular de la mucosa del rumen está ausente; a veces se observa una fina banda de tejido conectivo denso regular que marca el límite entre mucosa y submucosa (más evidente en la base de las papilas) (Salazar, et al., 2013).

La túnica muscular está formada por capas de tejido muscular liso, conformando una capa circular interna, una capa longitudinal externa y fibras oblicuas que se disponen de manera variable según la zona ruminal. Entre las capas circular interna y longitudinal externa se encuentra el plexo mientérico (parte del sistema

nervioso entérico, existente entre las capas longitudinal y circular de la capa muscular externa) o plexo de Auerbach (Torres y Sosa, 2002).

Entre las papilas aparecen pilares del rumen que son grandes pliegues de toda la pared que contienen una parte central de músculo proveniente de la túnica muscular (Torres y Sosa, 2002). La función de esta túnica es proporcionar el tono, tamaño de la luz y movimiento de materiales a través de este órgano (Triviño, 2010).

La túnica adventicia es tejido conectivo laxo que cubre a un órgano. En esta se observan vasos sanguíneos, nervios, nódulos linfáticos y tejido adiposo. Está cubierta externa es parte de los órganos que no se relaciona con los espacios celómicos (Torres y Sosa, 2002; Triviño, 2010).

Por otra parte la túnica serosa es la capa más periférica de los órganos, que se relaciona con las cavidades celómicas y está formada por tejido conjuntivo y mesotelio (membrana que forma el recubrimiento de varias cavidades corporales). Los vasos sanguíneos linfáticos y nervios tienen acceso al órgano a través de las túnicas adventicia y serosa, estas suspenden a los órganos, ya sea a través de la unión de la túnica adventicia con el tejido conjuntivo circundante o por medio de pliegues del mesotelio y el tejido conjuntivo relacionado (Triviño, 2010).

El epitelio estratificado del rumen (Figura 5) generalmente no se caracteriza por una eficaz absorción. No obstante es capaz de absorber eficientemente AGV, ácido láctico, electrolitos y agua. La superficie del epitelio es muy extendida debido a la formación de papilas bien vascularizadas (Novoa y Díaz, 2001).

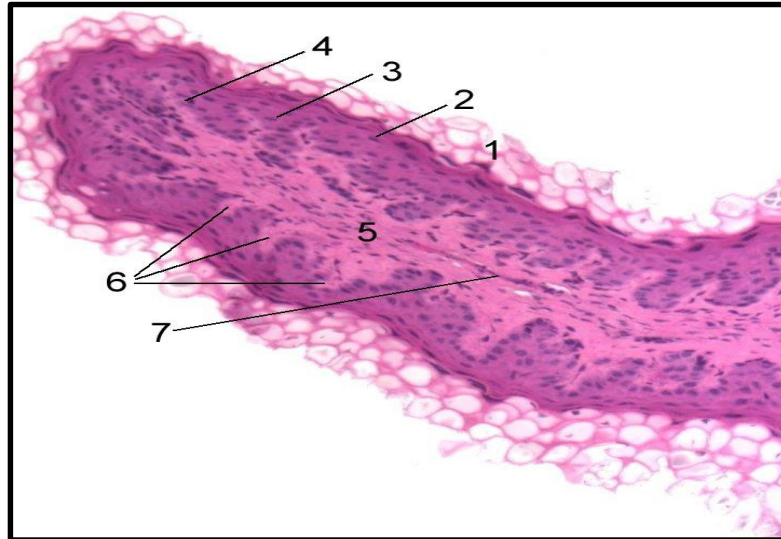


Figura 5: Corte histológico de la papila ruminal de oveja
1. Células epitelio estratificado plano queratinizado. 2. Células granulosas. 3. Células para basales. 4. Células basales. 5. Lámina propia. 6. Cuerpo papilar, 7. Arteriola central. **Fuente:** Gille (2006).

2.2.4. Metabolismo y absorción de los ácidos grasos volátiles en el rumen.

Gracias a los procesos digestivos que se efectúan en el rumen por acción de las bacterias y los protozoarios, el bovino puede utilizar los ácidos grasos volátiles, los cuales son convertidos en glucosa, ácidos animados o ácidos grasos, cubriendo del 60 al 80% de sus requerimientos energéticos (Zavaleta de Lucio, 2013).

Generalmente se consideran como ácidos grasos volátiles (AGV) los ácidos: fórmico, acético, propiónico, butírico, isobutírico, metil butírico, valérico, caproico y caprílico. El acético, propiónico y butírico son los que se producen en mayor cantidad durante la fermentación ruminal de los alimentos. Compuestos que son producidos por

acción de enzimas intra y extracelulares de bacterias y protozoarios que habitan en el rumen (Zavaleta de Lucio, 2013; Relling y Mattioli, 2003).

Los ácidos grasos que se liberan en el rumen son aprovechados por las bacterias, que los utilizan para sintetizar algunos de sus componentes estructurales, el resto es absorbido en su mayoría a través de la pared del rumen, resultando evidente que no se trata de un simple epitelio protector, como podría sugerir su estratificación y queratinización. Es por el contrario un eficiente epitelio absortivo, selectivo gracias al cierre de la vía para celular por uniones estrechas y a la apertura de la vía transcelular mediante conexiones intercelular por uniones GAP (Uniones de hendidura que permite el paso de pequeños iones y moléculas hidrosoluble). Esta conformación le permite al epitelio poseer un flujo neto de ingreso de Na^+ al colocar una mayor concentración de Na-K-ATPasas en el estrato basal. La absorción de Na^+ se asocia al ingreso de Cl^- , HCO_3^- y AGV hacia el medio interno (Relling y Mattioli, 2003; Zavaleta de Lucio, 2013).

Las concentraciones molares de los AGV difieren entre el contenido ruminal, la sangre portal y la sangre arterial. Estas diferencias revelan que los AGV son metabolizados de manera diferente al pasar por el epitelio ruminal y el hígado. El propionato es poco utilizado en el epitelio ruminal del bovino, el acetato absorbido se metaboliza en una proporción del 20 al 30 %, pero el butirato es casi totalmente metabolizado en el epitelio ruminal. Luego de ser llevados los AGV a través del sistema portal, el hígado remueve casi la totalidad del propionato que le llega y el poco butirato que no fue utilizado en el epitelio ruminal, pero no utiliza el acetato, que sí es metabolizado por el resto de la economía (Church, 1993).

Los AGV se absorben por dos mecanismos diferentes, dependiendo de su estado de disociación. Cuando se encuentran en su forma no disociada y por lo tanto liposoluble, son absorbidos por difusión simple a través de la membrana ruminal. Cuando los AGV se encuentran disociados la capa de hidratación les quita liposolubilidad y les aumenta el diámetro, impidiéndoles difundir por la membrana celular, por lo cual deben ser contra transportados con bicarbonato intracelular (Relling y Mattioli, 2003).

La absorción de los AGV es en su mayoría a través de la pared del rumen, realizándose por medio de difusión simple, siempre que el gradiente de concentración sea favorable para ello; aquellos que escapan del rumen pasan al omaso y abomaso en donde también hay absorción; comprobándose que cerca de 76% de los ácidos presentes en el rumen se absorbían a este nivel, 19% en omaso y abomaso y tan sólo un 4 – 5% llegaba a pasar al intestino (Zavaleta de Lucio, 2013). El ácido láctico, que normalmente no se produce en gran cantidad en rumen, parece ser absorbido lentamente (Novoa y Díaz, 2001).

Existe una correlación positiva o directamente proporcional entre la longitud relativa de las papilas del saco ventral del rumen y la ganancia de peso, por lo que la absorción de los ácidos grasos a través de la pared del rumen es más efectiva donde existe mayor representación o gran número de papilas (Zavaleta de Lucio, 2013).

La tasa de utilización de la pared del rumen es mayor para butirato, propionato y acetato. Debido a la alta concentración y la baja tasa de utilización del acetato a nivel ruminal, el acetato pasa a la sangre en mayor cantidad, representando aproximadamente el 90% de la concentración de AGV en la sangre periférica. En cuanto, al propionato aproximadamente el 3 - 5% de este es metabolizado a lactato, 95% restante es

transportado al hígado (gluconeogénesis). Mientras que el butirato (50%), que pasa a sangre es metabolizado en el hígado, dando principalmente acetil-CoA. El restante 50% es metabolizado a cuerpos cetónicos (β - Hidroxi -Butirato) para luego ser oxidado en los músculos cardiacos y esqueléticos y en la síntesis de ácidos grasos en la glándula mamaria (Zavaleta de Lucio, 2013; Calsamiglia y Ferret, 2002).

En los tejidos, los ácidos grasos pueden ser oxidados a acetil-CoA (por beta-oxidación mitocondrial) o esterificados a acilgliceroles, donde, como triacilgliceroles (grasas), constituyen la principal reserva calórica del organismo en los bovinos (Novoa y Díaz, 2001; Osorio y Vinazco, 2010).

El acetato, principal producto de la digestión de los carbohidratos en rumiantes, penetra en el citoplasma de las células y es activado por la Coenzima A. El acetil Co A penetra a la mitocondria por el sistema transportador de la carnitina y allí es quemado en el ciclo de Krebs. El acetato cumple así una función de proveer energía en el epitelio ruminal y en el resto de los tejidos (excepto el hígado). El acetil Co A puede utilizarse para la síntesis de cuerpos cetónicos, siendo importante para la síntesis de los ácidos grasos de cadena larga y de lípidos en el tejido adiposo y glándula mamaria. (Relling y Mattioli, 2003; Osorio y Vinazco, 2010).

Los cuerpos cetónicos no son fuente energética para el hígado, porque los hepatocitos carecen de la enzima 3-cetoacil-CoA transferasa, necesaria para la recuperación del Acetil CoA a partir de los mismos (Zavaleta de Lucio, 2013).

El ácido propiónico es producido en el rumen a partir del ácido pirúvico o del láctico seguido de dos vías diferentes, aun cuando las dos son funcionales, uno de ellas es la predominante y se lleva a cabo con la formación de oxaloacetato y succinato. La segunda vía requiere de la formación de acrilato y se presenta en el rumen de animales

en los que la reacción alimenticia es deficiente en azufre, quizá debido a un cambio en la población bacteriana, o bien cuando es a base la dieta de granos (Zavaleta de Lucio, 2013).

El propionato absorbido es metabolizado fundamentalmente por el hígado, y en menor proporción por los otros tejidos hasta succinil CoA, el cual ingresa al ciclo de Krebs para su conversión en malato, lo que produce el equivalente a tres moles de ATP. El malato se difunde al citoplasma, donde se convierte en oxalacetato. A partir de allí puede proseguir a citrato y ser quemado e ir a síntesis de aminoácidos o seguir la vía neoglucogénica mediante la conversión en fosfoenolpiruvato, que puede convertirse en fructosadifosfato por inversión de la secuencia de la glicólisis, el cual pasa a fructosa-6-fosfato por acción de la difosfructoquinasa, y luego a glucosa-6-fosfato, para producir finalmente glucosa gracias a la glucosa-6-fosfatasa (Relling y Mattioli, 2003; Osorio y Vinazco, 2010).

En los rumiantes, a diferencia de los monogástricos, no pueden convertir la glucosa en grasa (en realidad en ácidos grasos) debido a que carecen de dos enzimas claves para ello: la ATP-citrato liasa (que permite desdoblar al citrato que sale de la mitocondria en oxalacetato y acetil Co A) y la NADP-málico deshidrogenasa o enzima málica (que transforma malato en piruvato). En los rumiantes, la glucosa sólo puede participar en la síntesis del glicerol en el tejido adiposo, pero no en la síntesis de los ácidos grasos. Este es un importante mecanismo conservador de la glucosa, que como se ha dicho es escasa en estos animales (Church, 1993).

El butirato, la principal fuente de energía para el epitelio ruminal, realiza su paso a través de las paredes del rumen y del omaso convirtiéndose en Beta hidroxibutirato (β HB), que puede ser una fuente de energía para algunos tejidos como el

músculo esquelético, y luego convertirse hasta acetil Co A, el que ingresa al ciclo de Krebs para producir finalmente ATP, dióxido de carbono y agua. La parte del β HB formado que no es utilizado por el epitelio ruminal puede ser utilizado por el resto de los tejidos, a excepción del hígado y el cerebro de rumiantes debido a la falta de acetil Co A sintetasa y de succinil Co A-acetoacetato Co A sintetasa. La síntesis de grasa ruminal depende también de la cantidad de ácidos grasos consumidos (Osorio y Vinazco, 2010).

Otro de los factores que tiene una gran influencia sobre la velocidad de absorción de los ácidos, es el metabolismo de los mismos a nivel de la célula epitelial del rumen. El hecho de que estos ácidos son metabolizados en el epitelio que recubre el rumen. Siendo posible afirmar que el acético es absorbido y pasar al torrente sanguíneo prácticamente sin ningún cambio, el propiónico se absorbe en el epitelio y una parte se convierte en láctico; en cambio el butírico es transformado casi totalmente a cuerpos cetónicos (Zavaleta de Lucio, 2013).

La velocidad de absorción depende del pH del medio y del tipo de AGV. El pH ácido favorece la forma no disociada y a mayor longitud de cadena mayor velocidad de absorción. Así, el ácido valérico (5C), se absorbe mejor que el butírico (4C), propiónico (3C) y acético (2C) (Ruíz, et al., 2009).

Los AGV con número par de carbonos (C2 y C4) pueden ser usados como fuente energética directa en cualquier tejido, ingresando como acetil-CoA al ciclo de Krebs, o bien ser empleados para sintetizar ácidos grasos, por lo cual se los considera lipogénicos. El propionato posee un destino completamente distinto, ya que es el único de los tres AGV que puede ser convertido en glucosa. Por esta razón se lo considera

glucogénico y adquiere gran importancia en la nutrición de los rumiantes, quienes deben sintetizar la mayor parte de la glucosa que necesitan (Relling y Mattioli, 2003).

En una situación de déficit energético, los animales sufren alteraciones metabólicas que consisten básicamente en la activación de la gluconeogénesis y la movilización de las reservas lipídicas, lo que conlleva a pérdida de peso (Campos, et al., 2004).

2.2.5. Problemas ocasionados por mala absorción de los ácidos grasos volátiles.

Los ácidos grasos volátiles (AGV) se absorben a través de la pared ruminal por difusión pasiva, por tanto a mayor gradiente de concentración entre el líquido ruminal y la sangre, mayor será la velocidad de absorción. Además, la difusión pasiva es más eficaz cuando el AGV está en forma no disociada (carga neutra) que en forma disociada (carga ácida). La acumulación excesiva de ácidos grasos volátiles (AGV) con una absorción insuficiente de los AGV a través de la pared ruminal, incluido una aportación (vía saliva o vía ingestión) insuficiente de sustancias tampones al rumen así como un ritmo de paso ruminal excesivamente lento ocasiona la acidosis ruminal, lo que puede ser ocasionado por una paraqueratosis o alteración en la capa córnea de la piel que se caracteriza por un trastorno de la queratinización de las células epidérmicas (Bach, 2002).

Al encontrarse dañada la mucosa ruminal, la capacidad de absorción de la pared ruminal debido a que tiene papilas ruminales anormales o presenta rumenitis, se encuentra afectada la habilidad del animal para mantener un pH ruminal estable. Por lo tanto, la acumulación no-fisiológica de los ácidos orgánicos y la subsiguiente reducción de pH por debajo de lo normal (<5,6) llevan a tener un impacto significativo sobre: la

actividad microbiana, la función del rumen y sobre la productividad y la salud de los animales (Nagaeaja y Lechtenberg, 2007).

Cuando el pH ruminal es menor a 6, situándose entre 5,0 y 5,8, con cuadro clínico moderado, ocasionan una acidosis ruminal, la que es producida por un consumo elevado de carbohidratos rápidamente degradables, falta de fibra efectiva y un rumen con una insuficiente y mal preparada flora ruminal para la digestión o degradación de los substratos. Ocasionando un rápido incremento de la flora amilolítica productora de ácido láctico, con un lento incremento de la flora convertidora del ácido láctico en ácidos grasos, así como una lenta absorción de ácidos grasos, acumulando ácidos, que causan ruminitis. Que en algún momento estos ácidos grasos libres y el ácido láctico se absorben, pero el hígado no los puede metabolizar completamente, produciéndose acidosis metabólica (Andresen, 2009).

Con el aumento paulatino o brusco de la ingesta de carbohidratos de fácil digestión, en el rumen se sintetizan AGV y ácido láctico. Este último en parte es cambiado a ácido propiónico, sin embargo simultáneamente se modifica la flora y fauna ruminal, proliferando las bacterias Gram (+) (en condiciones normales proliferan las Gram -) que son productoras de ácido láctico, provocando un medio ácido y adecuado para su proliferación. A un pH de 5 desaparece la flora Gram (-) al igual que los protozoarios, de esta manera irá en aumento la producción de ácido láctico, pudiendo descender el pH por debajo de 5 (Andresen, 2009).

El desarrollo posterior de la enfermedad está determinado, por un lado, por los efectos dañinos locales del contenido ruminal, por otro lado por las consecuencias de su absorción. A causa de la concentración de ácido dentro del rumen, aumenta la presión osmótica de este, por lo que el organismo cede agua hacia el interior del rumen. Por

ello el contenido ruminal se torna más líquido y se produce una hemoconcentración, deshidratación de moderada a severa, que puede llegar hasta oliguria o anuria. En la sangre cambian sus componentes aumentando el piruvato, lactato y glucosa, produciendo una acidosis metabólica. Debido a la muerte de bacterias Gram (-) se produce la liberación de endotoxinas, provocando una endotoxemia y daños en diferentes órganos parenquimatosos (Blando y Ávila, 2013).

Las endotoxinas o lipopolisacaridos son un componente de la pared celular de todas las bacterias Gram (-), sin importar si son patógenas o no. Debido a que las bacterias ruminales son predominantemente Gram (-) y que la muerte y desintegración de cierto número de bacterias en una población son procesos bacterianos normales, comúnmente se encuentran presente endotoxinas en el fluido ruminal. La concentración de endotoxina es más alta en animales alimentados con granos en comparación con los que se alimentan con forraje. Se ha sospechado durante mucho tiempo que las endotoxinas ruminales contribuyen a la patogénesis de la acidosis ruminal (Nagaeaja y Lechtenberg, 2007).

En otras circunstancias cuando la acidosis es de tipo subaguda o subclínica, el pH cae a valores de 5,2 a 5,6; que se relacionan con alteraciones de la capacidad de absorción del epitelio ruminal (hiperqueratosis del rumen) los signos y lesiones que produce son disminución en el consumo de materia seca y en la eficiencia de conversión alimenticia con pérdida de estado corporal, disminución de la producción de leche y su contenido de grasa relacionado con el déficit de producción de ácido acético por alteración de la flora celulolítica, menor tasa de la degradación de la fibra y menor consistencia de la materia fecal (Sienra, 2009; Granja, 2012).

El acetil-CoA utilizado por la glándula mamaria de los rumiantes para la síntesis de grasa en leche se forma principalmente a partir del acetato proveniente de la sangre, que a su vez, deriva en gran parte del acetato absorbido en el rumen. Por otro lado la falta de fibra en la dieta inicia una cascada de eventos que genera una reducción de la relación acetato: propionato, terminando en una depresión de la grasa en leche debido a disminución del acetil Co-A y el desvío de nutrientes para engorda por el aumento en el aporte de sustancias gluconeogénicas; especialmente de ácido propiónico (Granja, 2012).

Se pretendió explicar la posible relación entre la acidosis ruminal y la depresión de la grasa en leche; fundamentándose en el hecho de que en condiciones de acidosis se producen grandes cantidades de propionato que estimulan la secreción de insulina, y esto resultaría en un descenso de la disponibilidad de los precursores de grasa para la glándula mamaria, pues la insulina estimularía su uso por parte del tejido adiposo. En segundo lugar, sostiene que debido a una alta inclusión de concentrado y una baja inclusión de forraje en una dieta, la producción de acetato en el rumen disminuye hasta el punto de que limita la producción de grasa en la glándula mamaria (Granja, 2012).

2.2.6. Condición corporal.

La medición de la condición corporal (CC) en bovinos es importante, porque indica el estado nutricional del animal; además, el acúmulo de grasa corporal muestra variaciones en los resultados de perfil lipídico, debido a que los niveles de colesterol aumentan si el animal está obeso y disminuyen si está mal nutrido. La CC puede servir para evaluar fenómenos complejos como la movilización de reservas corporales a diferentes estados fisiológicos del animal. A una CC dada, el comportamiento

productivo del animal será diferente, debido a que está sujeto a incrementos o decrementos de su CC (Osorio y Vinazco, 2010).

Esto es debido a que los animales tienen prioridades fisiológicas de sobrevivencia, crecimiento, gestación y producción. El incremento en la producción de leche, por ejemplo, es compensado con aumentos en el consumo de materia seca conforme avanza la lactancia, razón por la cual disminuye poco a poco la pérdida de peso, reduciendo además la pérdida de CC. Las vacas con mayor CC al parto muestran en promedio valores significativamente altos de triglicéridos y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Se cree que esta alza se debe a una mayor disponibilidad de reservas lipídicas que se presentan para la movilización entre tejido adiposo e hígado, así mismo, entre hígado y glándula mamaria. La movilización de reservas grasas se da principalmente como ácidos grasos no esterificados que aumenta durante la lactancia, por lo cual existe una elevación de este tipo de ácidos en la sangre (Osorio y Vinazco, 2010).

La puntuación de la CC es una herramienta útil para evaluar las reservas de grasa en ganado (Campos, et al., 2004). Una condición corporal adecuada es muy importante para mantener la producción, reproducción y salud en general. Si la mejora de la condición corporal es al óptimo aumenta la fertilidad. Por otro lado, la eficiencia de depositar energía es mayor durante la lactancia (segundo y tercer tercio de lactancia), por lo que es más importante tanto para alcanzar la CC deseada antes del secado y para mantener la condición desde ese momento hasta el parto (García y Hippen, 2012).

A partir de la lactancia media (2,6 meses de producción, con 2,5 de CC) los animales van recuperando su capacidad de consumo, dejan de perder estado y progresivamente comienzan a recuperar reservas, en ese momento las vacas comienzan

a ganar la CC, mediante el mayor incremento de consumo de materia seca, siendo importante para reducir la incidencia de problemas de salud animal en general, llegando al final de la lactancia media con una CC de 3,0 y al secado debe considerarse una CC de 3,25 (Grigera y Bargo, 2005; García y Hippen, 2012).

Las vacas que se encuentran demasiado delgadas poseen una producción de leche reducida debido a una falta de reservas corporales adecuadas para ser utilizadas en el comienzo de la lactancia; una mayor incidencia de ciertas enfermedades metabólicas (cetosis, desplazamiento abomasal, etc.); y una reiniciación demorada del ciclo estral luego del parto (Gonzalez, 2010).

Muchas pueden ser las causas de falta de preñez; sin embargo, en la mayoría de los casos están asociadas a nutrición inapropiada y pobre CC; sin una adecuada CC las vacas no se reproducen conforme a su potencial. Un objetivo clave del manejo es llegar con un buen estado corporal al parto. Se ha comprobado que la CC fue mayor a 3 (escala de 1- 5) la preñez fue del 100%, una CC por debajo de 2,4 se reducen de manera muy manifiesta los valores de preñez. Vacas con CC 1,7 permanecen en alta proporción de anestro y tienen intervalo posparto prolongado (Frasinelli, et al., 2004).

Investigaciones realizadas, se ha demostrado que la CC está correlacionada con el peso vivo, encontrando que 1 unidad de cambio en la CC equivale a 56 Kg. de peso corporal. La grasa corporal se incrementa en 12,65% para cada incremento en 1 unidad de la CC y la proteína corporal decrece 12,19% para cada incremento en 1 unidad de CC. Siendo los grados de CC recomendados en los diferentes estadios de la lactancia de 3,0 a 3,5 al parto; al servicio de 2,5: de 3,0 a 3,5 en la última parte de la lactancia y en el periodo de seca de 3,0 a 3,5. Grados de CC que otorgan a la vaca las suficientes reservas corporales como para minimizar el riesgo de complicaciones al parto mientras

que maximizan la producción de leche en el comienzo de la lactancia. A medida que la producción de leche disminuye, sobre el final de la lactancia, las vacas ganan peso corporal eficientemente (Mosquera, 2008; López, 2006).

2.2.7. Perfiles metabólicos.

Dentro de los análisis de tejidos de los animales, se encuentran los llamados perfiles metabólicos (PM) que analiza diferentes parámetros sanguíneos realizados en ganado vacuno de aptitud láctea, para determinar los elementos relacionados con el normal desenvolvimiento del metabolismo animal, expresando su nivel circulante en sangre, plasma o suero. Es la herramienta que ayuda a valorar el estado nutricional, reflejando la dinámica bioquímica del animal, siendo los trastornos nutricionales los que pueden influir en las concentraciones sanguíneas de algunos metabolitos. Aun en condiciones de homeorresis los animales muestran tendencias en el comportamiento de las vías metabólicas, por tanto, se ha postulado que los indicadores metabólicos pueden ser una herramienta fundamental para estudiar el desempeño fisiológico de grupos raciales en condiciones de difícil regulación térmica (Campos, et al., 2007; Aguilar, 2013; Babera, 2000).

Los PM reflejan el equilibrio entre el ingreso, salida y metabolización de los nutrientes en los diferentes tejidos. En este equilibrio homeostático están involucrados complejos mecanismos metabólico-hormonales. Cuando se rompe esta homeostasis se produce una disminución del rendimiento zootécnico. El estudio y diagnóstico de desbalances nutricionales, se realiza mediante la determinación de metabolitos sanguíneos indicadores de las vías metabólicas de proteínas, energía y minerales. En vacunos, se han descrito como indicadores del aporte nutricional las determinaciones de las concentraciones sanguíneas de glucosa, β HB, cuerpos cetónicos totales, ácidos

grasos no esterificados (NEFA), colesterol total, triglicéridos (Ríos, et al., 2006; Quintela, et al., 2011).

Cabe tener presente que los resultados de los PM no tiene valor en forma aislada, es decir, para el correcto diagnóstico del estado nutricional de un rebaño, deben confrontarse, con los datos provenientes del análisis de los animales, su comportamientos productivos y el manejo al cual han sido sometidos (Aguilar, 2013).

En la realización de un PM se determinan los diferentes metabolitos sanguíneos relacionados con el estado funcional de las vías metabólicas (biotransformación) las que están determinadas por el consumo de nutrientes al seguir diferentes vías después de su ingestión en el organismo, el estado de estas vías pueden verse afectados por los desbalances en el ingreso, transformación o egreso de los ingredientes de la ración consumida por los animales (Aguilar, 2013).

Los metabolitos convencionales son las constantes hematoquímicas comúnmente establecidas, tales como: volumen globular aglomerado, hemoglobina, glucosa, urea, proteínas totales, albuminas, globulinas, calcio, fosforo inorgánico, magnesio, potasio y sodio. Estas variables son las principales representantes de las vías metabólicas más importantes involucradas con la producción. Sus concentraciones sanguíneas en la mayoría de los casos, están regulados por el balance entre aporte de la dieta y sus productos o vías de eliminación. Actualmente este grupo queda reducido, por lo general, a las determinaciones de β HB, las proteínas totales, la albumina y el fosforo inorgánico, pues brinda una información rápida y precisa del metabolismo animal, así como los niveles sanguíneos de glucosa, β HB y colesterol, así como una adecuada evaluación del puntaje de la CC son considerados buenos indicadores del status energéticos en bovinos (Aguilar, 2013).

La glucosa representa la primera línea del nivel de energía basal, el colesterol total representa las reservas reales para la síntesis de hormonas sexuales y el β HB representa la movilización de lípidos. La CC es una excelente herramienta en la evaluación de las reservas lipídicas (Campos, et al., 2004).

Esos procesos incluyen mejora en la absorción gastrointestinal de componentes nitrogenados. Proteínas totales, albúmina, urea, creatinina y hematocrito han sido usados como indicadores sanguíneos del metabolismo nitrogenado. Esos indicadores muestran relaciones con el metabolismo energético (Campos, et al., 2004).

2.2.7.1. Glucosa.

La mayor parte de la digestión de los carbohidratos en el rumiante ocurre en el rumen por medio de la digestión fermentativa. El resultado es que casi no entran al intestino los carbohidratos digeribles, para que sufran una digestión glandular y una absorción en forma de glucosa. Con el fin de adaptarse a esta situación, los rumiantes han desarrollado sistemas eficientes para producir y conservar la glucosa (Cunningham, 1995).

Todo el propionato se convierte en glucosa en el hígado. Además el hígado utiliza los aminoácidos para síntesis de glucosa. Cuando la vaca se alimenta con concentrado rico en almidón o la vaca recibe alguna fuente de almidón resistente a la fermentación ruminal, este almidón alcanza el intestino delgado donde es absorbida y transportada al hígado contribuyendo al suministro de glucosa de la vaca. Siendo también el ácido láctico una fuente alternativa de glucosa para el hígado (Barreto, 2005).

El ácido láctico proviene de los ensilajes bien conservados, pero además hay producción de ácido láctico en el rumen hecho que suele ocurrir cuando hay un exceso de almidón en la dieta. Esto no es deseable porque el ambiente del rumen se acidifica, la fermentación de fibra se paraliza y en casos extremos la vaca deja de comer (Barreto, 2005).

El hígado llega a sintetizar glucosa hasta el 85 a 90% del total cuando se emplean dietas ricas en fibra. Emplea como principales sustratos propionato, lactato, aminoácidos y glicerol. El aporte relativo de cada uno depende del balance energético del animal. El propionato es el principal precursor hepático, a partir del cual se sintetiza del 25 al 55 % de la glucosa, dependiendo de su producción ruminal, de modo que este porcentaje llega al 65% cuando la dieta es rica en almidón (Relling y Mattioli, 2003).

La glucosa es el principal sustrato energético para los animales, de manera que niveles bajos en sangre podrían indicar déficit en el balance energético del animal, y redundar en una disminución de los porcentajes de fertilidad (Rodríguez, et al., 2004).

La glucosa, puede ser utilizada como fuente de energía para las células, como unidades de edificación de la galactosa y subsecuentemente lactosa, o como fuente de glicerol necesario para la síntesis de grasa (Razz y Clavero, 2004).

La concentración de glucosa en la sangre es regulada por las hormonas insulina y glucagón. La glucosa es el primer representante del metabolismo energético. En el organismo animal todos los tejidos requieren de un mínimo de glucosa, pero para otros ésta es imprescindible como el cerebro, eritrocitos y glándula mamaria (Aguilar, 2013).

Los primeros antecedentes con relación a la evaluación del metabolismo energético en bovinos hacen referencia a la determinación de la concentración de

glucosa en muestras de sangre. La glicemia es regulada por un complejo y eficiente control endocrino que el organismo mantiene su concentración, lo que permite que se mantenga siempre muy constante, independiente de factores asociados a la dieta. Sin embargo, se pueden encontrar animales hipoglucémicos principalmente al inicio de la lactancia porque los animales pueden no estar aptos para enfrentar el déficit energético que ocurre en este periodo (Aguilar, 2013).

Aguilar (2013), manifiesta que los valores de referencia normales de glucosa en bovinos deben ser: Antes del parto: 55-70 mg/100ml en el postparto hasta la quinta semana: 40 mg/100ml, a partir de la sexta semana del postparto: mayor a 50mg/ml. El ganado lechero tienen valores promedios normales de glucosa 51,2-51,5 mg/dL.

Los valores más bajos de glucosa fueron hallados en vacas secas acompañadas con mayor puntuación de CC, pueden estar relacionados con sus menores requerimientos energéticos (Campos, et al., 2004).

Valores inferiores a 40mg /100ml se relacionan con anovulación, degeneración de óvulos, celos prolongados, ovulación retardadas (Hincapie, 2012), perturbando la actividad del hipotálamo, ocasionando la inhibición o retardando la liberación de la GnRH afectando la producción de FSH y LH, con una mayor duración de intervalo entre el parto y la concepción en vacas con menores valores de glucosa y β HB; elevados niveles de urea, destacándose las anéstricas (Aguilar, 2013).

El bajo valor global de glucosa encontrado (49mg/100ml) puede estar indicando un proceso de adaptación al bajo nivel de energía de los alimentos (Campos, et al., 2004). Valores inferiores a 50mg/100ml (hipoglucemia) indican acetonemia subclínica y síndrome de la vaca gorda en bovinos y un déficit energético en la dieta (Hincapie, 2012). Valores mayores a 70mg/100ml en periodo no lactante indican exceso

energético (predisposición a acumulación de cuerpos cetónicos-acetonemia) (Hincapie, 2012).

La concentración de la glucosa sanguínea aumenta por la noradrenalina y adrenalina, que son catecolaminas glucogenolíticas y lipolíticas, disminuyendo la secreción de insulina e incluso el aumento de la secreción de ACTH, de hormona de crecimiento, de hormona tiroidea y de esteroides adrenocorticales. También se da el incremento de los glucocorticoides que inhiben la utilización de la glucosa y estimulan la gluconeogénesis. Alteraciones que son debido al estrés que influye sobre el área fisiológica del bovino, activando los ejes: simpático adrenal e hipotálamo-hipófisis – adrenal (Buestán, 2011).

2.2.7.2. Colesterol.

El colesterol es el principal representante de los esteroides en el organismo, es precursor de las hormonas esteroideas (glucocorticoides, mineralocorticoides, andrógenos, estrógenos, y progestágenos) y de los ácidos biliares. Asimismo, es un elemento estructural de las lipoproteínas, también está en íntima relación con la glándula tiroidea (Tiroxina y Triyoditironina) y esta a su vez con el metabolismo del calcio y carotenos (Aguilar, 2013; Cunningham, 1995).

El colesterol es un derivado del ciclopentanoperhidrofenantreno, siendo el hígado el principal lugar de síntesis. Así como sucede con la totalidad de los lípidos en plasma, el colesterol se encuentra asociado con proteínas formando complejos lipoproteicos que aseguran su transporte. El colesterol en la sangre proviene de dos fuentes: los alimentos y el hígado. Sin embargo, el hígado fabrica todo el colesterol que el organismo necesita (Aguilar, 2013; Aranda, et al., 2002).

Los lípidos que ingresan al hígado disponen de diferentes rutas metabólicas, algunos de los lípidos se utilizan para la síntesis de lipoproteínas plasmáticas, forma en que los fosfolípidos son transportados a los tejidos periféricos y parte de los lípidos son oxidados después de su hidrólisis y rinden acetil-CoA, que puede oxidarse completamente para generar energía por la vía del ciclo de los ácidos tricarboxílicos o convertirse en cuerpos cetónicos; igualmente, el acetil-CoA puede realizar su conversión en colesterol y otros esteroides (Osorio y Vinazco, 2010).

Aunque el hígado es el lugar principal de la síntesis del colesterol, se sabe que otros muchos tejidos sintetizan este esterol, por ejemplo: intestino, piel, corteza adrenal, pared arterial y otros. La síntesis de colesterol en el hepatocito se produce a partir de acetil-CoA, mediante una cadena de reacciones de condensación, reducción e hidroxilación. En numerosas especies animales, incluida el hombre, la reacción que limita esta síntesis es la conversión de HMG-CoA (o 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A o β -hidroxi- β -metilglutaril-coenzima A) a mevalonato, catalizada por la enzima HMG-CoA reductasa. Esta enzima utiliza el NADPH como reductor y su pH óptimo es de 7. (Aranda, et al., 2002; Aguilar, 2013; Molina, et al., 1991), como indica la figura 6.

El colesterol es el indicador adecuado para determinar el consumo de energía y, de cierta forma, el estado productivo y reproductivo del bovino. Confirmándose que, cuando son altos los niveles de producción de leche, la concentración de colesterol sanguíneo presenta valores más bajos, elevándose a medida que continúa la lactancia al reducirse la producción de leche (Osorio y Vinazco, 2010).

En lo reproductivo el colesterol es el precursor para la esteroidogénesis en todos los tejidos secretores de esteroides. Optimizando las concentraciones sanguíneas de

colesterol pueden mejorar la biosíntesis lútea de progesterona, modular la dinámica folicular y acelerar la actividad lútea en el posparto. (Aguilar, 2013).

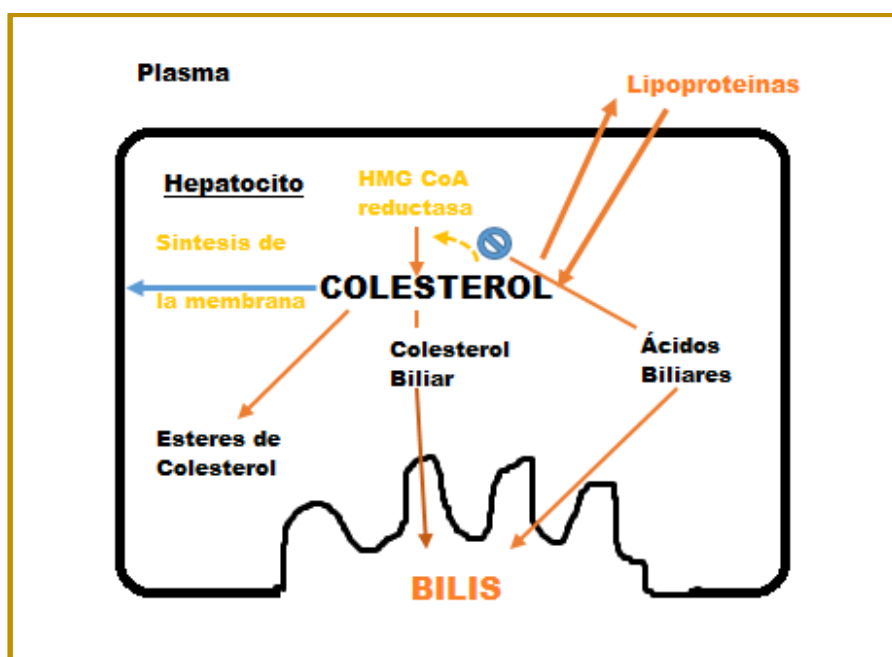


Figura 6: Esquema del metabolismo hepático del colesterol.
Fuente: Molina, et al. (1991).

Un déficit energético, disminuye la disponibilidad de colesterol y la síntesis de las hormonas esteroideas alterando los procesos metabólicos y procesos reproductivos. La deficiencia de colesterol conduce a la intervención de las hormonas como la somatotropina (GH- hormona del crecimiento), insulina y cortisol que son las responsables para la movilización de las reservas energéticas (lipomovilización) que puede originar el hígado graso, lo que influye en forma negativa en la salud y en la performance del animal (Aguilar, 2013; Aranda, et al., 2002).

En la regulación del nivel de colesterol tienen importancia las hormonas tiroideas, ya que afectan en todos los aspectos el metabolismo de los lípidos, su efecto más acentuado es en la lipólisis. Uno de los efectos particulares de las hormonas tiroideas es la tendencia a disminuir el colesterol del plasma. Esto incluye dos efectos: por un lado hay un aumento en la absorción celular de las lipoproteínas de baja densidad

(LDL) con las moléculas de colesterol relacionadas y por otro lado a una tendencia para incrementar la degradación del colesterol y las lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Aranda, et al., 2002).

Campos, et al., (2007) manifiesta que los valores de referencia del colesterol hasta la 4ª semana antes del parto deben de ser de 130 ± 30 mg/100 ml, a las 3 semanas antes del parto hasta 2 semanas posparto 85 ± 15 mg/100 ml y a partir de la 3ª semana posparto: 160 ± 15 mg/100 ml. Recomendando que el rango de referencia de las concentraciones plasmáticas es de $75,3 \pm 25,8$ mg/dL.

Las vacas previo al inicio de la lactancia (periodo de transición) la vaca presenta adaptaciones metabólicas, debido a una disminución del consumo voluntario de la materia seca, el crecimiento del feto, el crecimiento y llenado de la glándula mamaria, lo que conlleva a una hipocolesterolemia que puede producir una hipocalcemia o fiebre de la leche (clínica) (Bradford, 2010; Hincapie, 2012; Aguilar, 2013).

Posterior al inicio de la lactancia incrementa el consumo de la materia seca, influyendo en el aumento de la colesterinemia, pero no cubre las expectativas con la cantidad de leche producida, lo que refleja a una mayor exigencia energética, presentando una correlación negativa (Aguilar, 2013).

Los bajos niveles de colesterol se presentan en vacas con menor producción, problemas reproductivos y de salud (como metritis, afecciones podales, mastitis y retención de placenta) y los animales que presentan una baja concentración de colesterol, pueden presentar una acumulación grasa en hígado de leve a severa. Pudiendo asumir que la síntesis de lipoproteínas está limitada por la cantidad de apoproteínas disponibles y en el síndrome de hígado graso se registra una marcada

disminución del retículo endoplásmico en el hepatocito lo que significa una reducción en la síntesis y secreción de lipoproteínas (Rodríguez, et al., 1995).

Fisiológicamente el colesterol es necesario para la síntesis de sales biliares, vitamina D y hormonas gonadales y cortico adrenal, además participa en la composición de tejido y secreciones. Patológicamente, se eleva en el hipotiroidismo, diabetes mellitus, obesidad, síndrome nefrótico, pancreatitis aguda entérica, trastornos que disminuye en la insuficiencia hepática mala absorción en hipertiroidismo (Campos, et al., 2007).

2.2.7.3. Triglicéridos.

La síntesis de los triglicéridos tiene lugar mediante la vía 2-monoglicérido y tiene una mínima importancia en los rumiantes. La glucosa esencialmente no se utiliza para la síntesis de ácidos grasos, solo sirve como fuente de glicerina, con pequeñas cantidades disponibles de glicerofosfato procedentes de la utilización de glicerofosforilcolina tras la acción de la lisofosfolipasa (Church, 1993). Los ácidos grasos son sintetizados a partir del acetato, el cual representa la fuente más energética más abundante de los rumiantes (Cunningham, 1995).

La salida de sustratos lipídicos energéticos desde el tejido adiposo hasta la circulación sanguínea se da a través del mecanismo de movilización de reservas corporales; así, salen del adipocito grandes cantidades de ácidos grasos no esterificados (AGNE), con el fin de ser oxidados en la mayoría de los tejidos. Uno de los principales órganos en utilizar los AGNE es el hígado, ya que allí se ensamblan continuamente lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) con el único objetivo de distribuir las fracciones lipídicas en todo el organismo. Así mismo, se lleva a cabo una extensa síntesis de triglicéridos (Osorio y Vinazco, 2010).

Una vez que se forman en el hígado los ácidos grasos deben ser transportados, juntamente con las lipoproteínas séricas de muy baja densidad (VLDL) ricas en triglicéridos, hacia el tejido adiposo para su almacenamiento o hacia otros tejidos como el músculo, para la utilización directa en la producción de energía. En la síntesis de VLDL, primero se esterifican a los ácidos grasos para formar los triglicéridos (TG) y estos se envuelven en una capa de fosfolípidos, colesterol y proteína específicas (Church, 1993).

Durante los periodos prolongados de mala nutrición, la baja accesibilidad de glucosa da lugar a la movilización rápida de los ácidos grasos del tejido adiposo en forma de ácidos grasos libres (NEFA o AGL), donde gran parte son extraídos por el hígado (Church, 1993). En los hepatocitos son esterificados para la producción de triglicéridos y enviados de nuevo a los tejidos extra hepáticos dentro de las VLD (Aguilar, 2013); pero en los casos de un déficit energético éstos compuestos se almacenan en el hígado produciendo en consecuencia su engrasamiento, que será proporcional a la cantidad de lípidos movilizados (Duque, et al., 2011).

Cuando se produce una intensa lipólisis, liberando glicerol y ácidos grasos libres precursores de los triglicéridos en el hígado a partir de las grasas de reserva por un desequilibrio entre la energía consumida y la energía exigible, inhibe el centro de la alimentación (o ¿excita el centro de la saciedad?) determinando un síndrome de anorexia - hiporexia. Estos dos últimos síndromes se pueden deber además a la liberación de estrógenos en la cercanía del parto, insuficientemente metabolizados en hígado (Hincapie, 2012).

Los triglicéridos séricos son considerados buenos indicadores metabólicos nutricionales en bovinos. La lipemia aumenta cuando el alimento es rico en lípidos y

disminuye en los estados de malnutrición crónica, razón por la cual está directamente relacionada con el contenido graso de la dieta (Osorio y Vinazco, 2010).

El nivel sérico de colesterol depende del contenido de éste en los alimentos ingeridos, aunque también se relaciona con el aumento de insulina, ya que activa la lipoproteinlipasa, enzima existente en la superficie endotelial de los vasos sanguíneos, que catalizan la degradación de los triglicéridos transportados por los quilomicrones y VLDL, disminuyendo la trigliceridemia (Osorio y Vinazco, 2010).

Por lo tanto, ante la ausencia de insulina se observa una elevación de triglicéridos y colesterol. Estos cambios no solamente varían por la calidad de la dieta, también se modifican por la edad del ternero, declinando en forma inversamente proporcional al desarrollo (Osorio y Vinazco, 2010).

El estado metabólico también influye, ya que las vacas secas muestran menores tasas plasmáticas de colesterol que aquellas en amamantamiento. Cabe resaltar la influencia del estado climático, pues los niveles de colesterol disminuyen en la época de invierno (Osorio y Vinazco, 2010).

En síntesis se podría enfatizar lo demostrado por Rodríguez, A, Grande, G., Perusia, O., Padoán, C. y Maiztegui, J. (1995). Mencionados por Hincapie, (2012) quienes manifiestan que en un déficit energético produce una lipomovilización importantes ocasionando una esteatosis hepática o hígado graso lo cual acarrea a una disminución de la síntesis proteica originando una hipoalbuminemia y por ello existe una insuficiencia en la disponibilidad de apoproteínas que son componentes proteicos de las partículas de lipoproteínas que sirven como coenzimas o activadores de las enzimas implicadas en el metabolismo de los lípidos y actúan como moléculas del reconocimiento para los receptores y como consecuencia existe una escasa eliminación

de los triglicéridos y por ende un bajo poder de detoxificación hepática y baja resistencia a procesos infecciosos lo que ocasiona múltiples trastornos clínicos y subclínicos con localización variada repercutiendo sobre la esfera reproductiva y productiva en calidad y cantidad así como trastornos metabólicos nutricionales, con su lógica consecuencia de producción disminuida.

Los animales que cursan con un déficit energético presentan elevada la concentración de lípidos en sangre y en leche, debido a que los lípidos que se movilizan se acumulan en el hígado y llevan a una alta proporción de animales que padecen el síndrome de hígado graso, lo que influye en forma negativa en la salud y en la performance del animal (Hincapie, 2012).

2.2.7.4. Urea y balance nitrogenado.

Uno de los aspectos más importantes de la investigación en la nutrición de rumiantes es la utilización de la proteína del alimento. Una correcta utilización de ésta en la ración supone un alto rendimiento productivo de los animales y un buen mantenimiento de las funciones reproductivas y de la condición sanitaria del animal. El suministro de proteína en la ración ha de ser tal que cubra las necesidades productivas y de mantenimiento del animal. Sin embargo, la eficacia en la utilización de esta proteína va a depender de las características de esta proteína (composición en aminoácidos y degradabilidad de la proteína en rumen) y así como de otros componentes de la dieta entre los que destaca la energía (Vásquez y Gonzalez, 2006).

Gran parte de los compuestos nitrogenados de la dieta son convertidos a amoníaco en el rumen por la degradación bacteriana, el cual es luego utilizado por estos microorganismos para la síntesis proteica, dependiendo de múltiples factores

nutricionales. El amoníaco no utilizado es absorbido a través del epitelio ruminal y transportado por vía portal al hígado (Arias y Nesti de Alonso, 1997).

Se ha demostrado que el nivel de nitrógeno ureico en la sangre refleja el balance de proteína degradable y energía fermentable en el rumen; esto es de gran importancia porque los excesos en el consumo de nitrógeno pueden afectar el desempeño reproductivo de la hembra bovina, alteraciones de los tejidos del útero y efectos tóxicos del embrión, además la conversión de nitrógeno sobrante en urea que debe ser eliminado a través de la orina o leche, representa un costo metabólico para el organismo e incrementa los requerimientos de energía, siendo la proteína generalmente el componente nutritivo más costoso y por lo tanto su utilización debe ser óptima; y las deficiencias de nitrógeno degradable en el rumen reducen la digestibilidad y el aprovechamiento del forraje (Hess, et al., 1999).

El metabolismo del nitrógeno en los rumiantes involucra la participación activa de la microflora y la utilización de los productos de degradación de las proteínas para la síntesis de proteína bacteriana. El amoníaco no utilizado en el rumen es transportado al hígado y tejidos para su transformación en urea. La utilización de elevadas fuentes de nitrógeno, proteico y no proteico en la alimentación de vacas lecheras incide sobre la condición de glándula mamaria aumentando los contajes de células somáticas y la incidencia de mastitis. Valores fuera de los considerados como normales indican desbalances nutricionales que pueden tener importante significancia económica y productiva (Contreras y Valenzuela, 1993).

La urea se considera como una dinámica del ácido carbónico; existe en la orina, sangre, linfa, bilis, sudor, leche y otros fluidos, es uno de los últimos términos de la

transformación de las sustancias que han de eliminarse, siendo un indicador del estado nutricional (Fidalgo, 2015).

El hígado es el órgano donde el amoniaco sanguíneo es convertido en urea y otros metabolitos. Siendo la urea el principal destino del amoniaco sanguíneo en rumiantes, contribuyendo un 60 a 80 %, la parte del excedente viene principalmente del catabolismo de los aminoácidos que no son usados por el organismo de la síntesis proteica (Ramírez-Perez y Buntinx, 2015).

En el hígado el amoniaco y el aspartato, producto del catabolismo proteico, aportan los átomos de nitrógeno para la síntesis de la urea. En los rumiantes parte de la urea producida por el hígado es transferida por vía sanguínea a la saliva para regresar nuevamente al rumen por la vía digestiva (Ramírez-Perez y Buntinx, 2015).

En circunstancias normales, el hígado prontamente elimina el amoniaco de la sangre vía porta, de manera que la sangre abandona el hígado y toda la sangre periférica está virtualmente exenta de amoniaco.

La concentración de urea en muestras de suero sanguíneo ha sido empleada en los perfiles metabólicos como indicador de actividad metabólica del animal. Ello se basa en que la urea es sintetizada en hígado en cantidades proporcionales a la concentración de amoniaco producido en el rumen, y su concentración sanguínea está en directa relación con el aporte proteico de la ración y con la relación de energía y proteína de ésta (Contreras y Valenzuela, 1993).

La concentración de la urea ha sido mediada en sangre, orina, leche y otros, siendo el valor sérico el más difundido. La determinación de urea plasmática se utiliza como criterio diagnóstico de insuficiencias renales, determinando el grado de

funcionalidad renal, pero también se usa para evaluar el balance proteico de animal, estableciéndose, correlaciones entre los valores de urea sérica, y el aporte proteico en la ración, así como entre la concentración de urea en muestras de suero y leche (Ramirez-Perez y Buntinx, 2015).

La urea es un producto de desecho del metabolismo del nitrógeno. Su determinación en muestras de suero sanguíneo, junto a la albumina, revela información acerca de la actividad metabólica del animal. La concentración sanguínea de la urea esta con el aporte proteico en la ración, así también es la relación energía: proteína. Estos trabajos señalan que valores bajos de urea en sangre de los animales se encuentran en rebaños que utilizan dietas deficitarias de proteínas y valores altos en aquellos que utilizan dietas con excesivo aporte proteico o déficit de energía (Pacheco, 2001).

Principalmente la urea sigue dos caminos: La que se excreta por difusión directa desde la sangre a través de las paredes del rumen, ileon, ciego y colon, y por la saliva siendo nuevamente reciclado y egresa del organismo, por orina y leche. Por término medio, el 20 % de nitrógeno absorbido vuelve a penetrar a través de la pared del rumen en el aparato digestivo; la otra parte de urea sanguínea que alcanza el intestino grueso se transforma en proteína bacteriana y es eliminada por las heces (Ramirez-Perez y Buntinx, 2015; King, 2015; Pauca, 2008).

Cuando la urea está aumentada (8 – 40 mg/dl), procede de la proteólisis (generación de glucosa) o de la síntesis para generar NH_3 de rumen. Cuando la urea está reducida por la lipidosis hepática. Posiblemente también en acidosis metabólica.

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

2.3.1. Acidosis ruminal.

Es el resultado de una disminución en la concentración de fluidos corporales, en relación al contenido de ácidos (protones). La principal base del rumen es el amoníaco (NH₃) y los principales tampones o *buffers* con los iones bicarbonato y fosfato. La acidosis ruminal aparece cuando el pH del retículo – rumen desciende por debajo de un valor medio de 6,25, que equivale a un pH inferior a 6 durante un espacio de tiempo de 4 horas (Jimeno, et al., 2004).

2.3.2. Adenosín trifosfato (ATP).

Molécula utilizada por todos los organismos vivos para proporcionar energía en las reacciones químicas. Es uno de los cuatro monómeros utilizados en la síntesis de ARN celular. Es una coenzima de transferencia de grupos fosfato que se enlaza de manera no-covalente a las enzimas quinasas (co-sustrato) (Díaz, 2009).

2.3.3. Anfistoma

Del griego *anfi* = ambos lados + estoma = boca. Los digeneos tipo anfistoma en estadio de cercaría y adulto se caracterizan por presentar una ventosa oral anterior y el acetábulo en el extremo posterior del cuerpo, en ocasiones se le conoce como ventosa posterior (Cruz- Reyes y Camargo-Camargo, 2001).

2.3.4. Conversión alimenticia.

Es la relación entre el alimento entregado a un grupo de animales y la ganancia de peso que estos tienen durante el tiempo en que la consumen. Siendo entonces un valor tan directamente relacionado con la rentabilidad de la granja, es de gran interés

conocer su valor y poder determinar cuáles son los factores influyentes para poder definir en cada caso como mejorarla (Church, 1993).

2.3.5. Edema.

Es un trastorno que se caracteriza por la acumulación excesiva de líquido en los espacios intercelulares (Smith y Jones, 1980).

2.3.6. Epitelio escamoso estratificado queratinizado.

Está constituido con varias capas de células, las capas superficiales del epitelio están compuestos por células muertas cuyos núcleos y citoplasma se sustituyen con queratina, es grueso; la capa más profunda de células se encuentra en contacto con la lámina basal. Las células basales tienen forma cuboides, las que se localizan en la parte media son polimorfas, las que se localizan en la superficie libre son aplanadas (Gonzalez, 2012).

2.3.7. Enzima Peroxidasa.

Son enzimas que catalizan la oxidación de una gran variedad de sustancias orgánicas e inorgánicas (donadoras de hidrógeno). Utilizando como uno de sus sustratos el peróxido de hidrógeno ($H_2 O_2$) (Rodriguez, 2011).

2.3.8. Fermentación ruminal.

Una fermentación ruminal es una oxidación en ausencia de oxígeno, donde los equivalentes de reducción producidos transfieren los hidrógenos a productos intermediarios o finales de distintas vías metabólicas. Estando a cargo de bacterias ruminales de los géneros *Streptococcus* y *Lactobacillus* (Pechin, 1999).

2.3.9. Hiperplasia.

Es el aumento en la producción de células en un órgano o tejido normal. Puede ser un signo de cambios anormales o precancerosos, lo cual se denomina hiperplasia patológica (Plus, 2012).

2.3.10. Histología.

Ciencia que estudia la morfología microscópica y funcionamiento normal de los tejidos, órganos y sistemas (Rodríguez y Chaverri, 2012).

2.3.11. Histopatología

Es la rama de la Patología que trata el diagnóstico de enfermedades a través de los cambios anormales del estudio de los tejidos, observados microscópicamente (Lasa, 2011; Rodríguez y Chaverri, 2012).

2.3.12. Hospedadores intermediarios del Paramphistómido.

Son moluscos pulmonados de agua dulce, que pertenecen principalmente a las familias, *Bulinidae (Bulinus)* y *Lymnaeidae (Lymnaea y Fossaria)* (Torrel y Paz, 2015).

2.3.13. Inflamación.

La inflamación, reacción de defensa que se manifiesta ante cualquier agresión, actúa como un mecanismo homeostático y tiene como finalidad adaptar al organismo a circunstancias anormales. Es un proceso complejo, que se presenta como respuesta tanto a infecciones como a una diversidad de estímulos generadores de lesión tisular (traumáticos, tóxicos, isquémicos, autoinmunes, etcétera) (Vega, 2008).

2.3.14. Necrosis.

Puede definirse como la muerte celular patológica reconocible por los signos morfológicos de la necrofanerosis. Estos son: en el citoplasma, hipereosinofilia y pérdida de la estructura normal; en el núcleo, picnosis, cariólisis o cariorrexis. La picnosis es la retracción del núcleo con condensación de la cromatina; la cariólisis, la disolución del núcleo; la cariorrexis, la fragmentación del núcleo en trozos con cromatina condensada. Las alteraciones del citoplasma y núcleo son coexistentes. La picnosis, cariólisis y cariorrexis no constituyen etapas de la alteración nuclear; representan, aparentemente, formas distintas de reacción (Smith y Jones, 1980).

2.3.15. Perfil metabólico energético.

Los perfiles metabólicos energéticos incluye las determinaciones de glucosa, colesterol total, ácidos grasos no esterificados (AGNE) y β -hidroxibutirato (β HB) y bilirrubina (Aguilar, 2013).

2.3.16. Perfil metabólico.

Es un examen para clínico empleado en el diagnóstico de las enfermedades de la producción, mediante el cual se determina, en grupos representativos de animales, la concentración de varios constituyentes orgánicos, indicadores del balance de algunas vías metabólicas y se comparan sus resultados con los valores de referencia de la población (Aguilar, 2013).

2.3.17. Ruta metabólica.

Sucesión de reacciones químicas que conducen a un sustrato (donde actúa la enzima) inicial a uno o varios productos finales, a través de una serie de metabolitos intermediarios. Su conjunto da lugar al metabolismo (Díaz, 2009).

2.3.18. Tejido conectivo.

Es un tejido formado por células poco diferenciadas, es decir, poco transformadas y con abundante matriz extracelular (sustancia intercelular). Se encarga de unir o ligar entre sí a los demás tejidos, brindando sostén y nutrición. Que sirve de: Soporte y sostén de órganos (Óseo y cartilaginoso). Nutrición al resto de los tejidos (principalmente al tejido epitelial). De protección y defensa a través de las células plasmáticas y macrófagas, que integra el sistema inmunitario de defensa contra las proteínas extrañas presentes en las bacterias, virus, células tumorales, etc.; y de relleno, es decir, une entre si estructuras vecinas (Ayala, 2016).

2.3.19. Tejido conectivo Laxo.

Se denomina así porque es de consistencia blanda y cede a las presiones. Lo constituye un porcentaje equilibrado de células, matriz amorfa y fibras. Este tejido se encuentra ampliamente distribuido por todo el organismo. Es blando, plegable y algo elástico, no es suficientemente resistente por lo que en algunas circunstancias debe asociarse a tejido conectivo denso con el cual se fusiona (Montalvo, 2010).

2.3.20. Trematodos.

Son plathyelminthes aplanados dorso ventralmente y con forma de hoja, los organismos de esta clase son todos parásitos, presentan una ventosa peribucal y una

ventosa ventral, casi todos son hermafroditas, con excepción de los Schistosomas que tienen sexos separados (Eskildsen, 2013).

2.3.21. Uniones GAP.

Se llama uniones gap, uniones en hendidura, uniones comunicantes o nexus a cierta clase de conexiones que se observan a veces entre las células en tejidos animales (Mercado, 2012).

CAPÍTULO III

DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE LAS HIPÓTESIS

3.1. ÁMBITO DE ESTUDIO

La realización del presente trabajo de investigación se llevó a cabo en 58 bovinos, donde se obtuvieron 32 rumen de bovinos beneficiados en el Camal Municipal de Cajamarca y 26 vacas en lactación provenientes del Fundo San Vicente del Distrito de Baños del Inca, cuyas muestras fueron procesadas en los Laboratorios de Embriología e Histología y de Parasitología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, que presenta las siguientes condiciones climatológicas*:

Altitud	: 2730 m.s.n.m.
Latitud Sur	: 7°09'27,27" .
Longitud Oeste	: 78°30'56,01" .
Temperatura máxima promedio anual	: 18,6°C.
Temperatura media promedio anual	: 14°C
Temperatura mínima promedio anual	: 09°C.
Humedad relativa promedio anual	: 67,7%.
Humedad máxima	: 89%.
Humedad mínima	: 53%.
Radiación solar	: 5,6 h.
Precipitación pluvial anual acumulada	: 642 mm lineales /año
Presión Atmosférica	: 737 milibares
Velocidad del viento	: 1,5 nudos.

* Datos proporcionados por la estación Meteorológica UNC 2015.

3.2. UNIDAD DE ANÁLISIS, UNIVERSO Y MUESTRA

3.2.1. Unidad de análisis.

Lo constituyeron los bovinos positivos a Paramphistómidos al examen post mortem y/o al análisis coproparasitológico.

3.2.2. Universo:

Todos los vacunos sacrificados en el Camal Municipal de Cajamarca positivos a Paramphistómidos.

3.2.3. Muestra.

Determinación tamaño muestral para daño histopatológico.

$$TM = \frac{Z^2 pqN}{(N-1)E^2 + Z^2 pq} = 10 \text{ Bovinos}$$

Donde Z: 1,96

TM: Tamaño muestral.

E: Error aceptable de 5% o 0,05.

P: probabilidad de éxito 99%.

Q: probabilidad de fracaso 1%.

N: Tamaño muestral 30 animales positivos (Torrel, 2009).

Determinación tamaño muestral para recuento de parásitos adultos.

$$TM = \frac{Z^2 pqN}{(N-1)E^2 + Z^2 pq} = 22 \text{ Bovinos .}$$

Donde Z: 1,96

TM: Tamaño muestral.

E: Error aceptable de 2,5% o 0,025.

P: probabilidad de éxito 99%.

Q: probabilidad de fracaso 1%.

N: Tamaño muestral 30 animales positivos (Torrel, 2009).

Para el número de muestras en la determinación de los metabolitos sanguíneos,

ganancia de peso y CC se utilizó diseño experimental.

3.3. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.3.1. Material biológico.

Para el estudio histopatológico se consiguieron muestras de tejido del rumen, evaluados al examen pos mortem, de 10 vacunos positivos a Paramphistómidos, sin considerar el sexo, edad y raza; procedentes del Camal Municipal de Cajamarca. Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Embriología e Histología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca. La coloración de las muestras se realizó en el Laboratorio de SENASA Lima. La variable independiente es la presencia de Paramphistómidos en la mucosa ruminal (cualitativa) y la variable dependiente es la lesión del tejido ruminal (cualitativa).

La obtención de las muestras para relacionar el número de parásitos adultos registrados en el rumen y retículo con el número de huevos por gramo de heces (HPG), de obtuvieron de 22 bovinos mayores de dos años de edad positivos a Paramphistómidos, que fueron sacrificados en el Camal Municipal de Cajamarca sin considerar el sexo, edad y raza. Las muestras del rumen, retículo y heces, fueron procesadas en el laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca. La variable independiente (cuantitativa discreta) es el número de parásitos adultos a nivel del rumen (pared y líquido ruminal) y retículo; la variable dependiente (cuantitativa discreta) es el número de huevos por gramo de heces, al análisis coproparasitológico.

En el estudio de los perfiles metabólicos, para determinar las concentraciones de glucosa, colesterol, triglicéridos, urea, así como la ganancia de peso y la calificación de la condición corporal (CC) se realizó en 26 vacas con más de 4 meses de lactancia; sin considerar raza, ni edad, procedentes del Fundo San Vicente, ubicado en el distrito de Baños del Inca, Provincia de Cajamarca, las muestras de sangre fueron procesadas

en el laboratorio de Fisiología Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca. Las variables dependientes son el número de huevos por gramo de heces (cuantitativa discreta), CC (cuantitativa continua), glucosa en sangre (cuantitativa continua), triglicéridos en sangre (cuantitativa continua), urea en sangre (cuantitativa continua) y colesterol en sangre (cuantitativa continua), ganancia de peso diario (cuantitativa continua) y las variables independientes (cualitativas nominales) son el tipo de alimentación a las vacas productoras de leche (Negativas a Paramphistómidos alimentadas con forraje; negativas a Paramphistómidos alimentadas con forraje más concentrado; positivas a Paramphistómidos alimentadas con forraje; Positivas a Paramphistómidos alimentadas con forraje más concentrado).

3.3.2. Trabajo en el Camal Municipal.

3.3.2.1. Establecimiento de las alteraciones histopatológicas de la pared del rumen por efecto de los Paramphistómidos.

- **Examen macroscópico del rumen.**

En la playa de matanza del Camal Municipal de Cajamarca, mediante la observación directa, fue analizada la mucosa del rumen para confirmar la positividad o negatividad a Paramphistómidos.

- **Obtención de tejido del rumen.**

Para evaluar las lesiones histopatológicas de 10 vacunos positivos a Paramphistómidos, se tomaron muestras de tejido ruminal, aproximadamente 1cm³, de las zonas afectadas por la presencia de los Paramphistómidos y zonas no afectadas. Para ser procesarlos mediante la técnica de Método de Inclusión de Parafina, la microtomía, la inclusión y montaje (Ver apéndice 20).

3.3.2.2. Relación número de parásitos adultos obtenidos del rumen y retículo con número de huevos por gramo de heces.

- **Obtención de muestras de heces.**

En el corral de encierro, se identificó mediante un número correlativo a los bovinos que fueron sacrificados, se extrajeron del recto aproximadamente 100g de heces, utilizando guante obstétrico, colocándolo en una bolsa de polietileno, registrando con el número correspondiente con un lapicero de tinta indeleble. Realizado este procedimiento, las muestras fueron colocadas en una caja de tecnopor, para transportarlas a Laboratorio de Parasitología y Enfermedades Parasitarias de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca para su análisis respectivo, mediante el método de sedimentación natural cuantificada en base a un gramo de heces, modificado por Rojas et al., (2013) ver Apéndice 21. Descartando las muestras que salieron negativas al paramphistómidos al examen post mortem. A las muestras positivas (rumen y retículo) se realizó el conteo de parásitos adultos, cantidades que fueron relacionados con el número de huevos por gramo de heces (ver apéndice 22).

3.3.2.3. Trabajo en el campo en el estudio de los perfiles metabólicos.

- **Obtención de muestras de heces.**

En el fundo San Vicente ubicado en el distrito de Baños del Inca, fueron identificados individualmente con un código correlativo, todas las vacas en lactación, y se extrajeron del recto 100 g de heces, de cada una, utilizando guante obstétrico, colocándolo en una bolsa de polietileno, registrando con el número correspondiente con un lapicero de tinta indeleble. Realizado este

procedimiento, las muestras fueron colocadas en una caja de tecnopor, para transportarlas a Laboratorio de Parasitología y Enfermedades Parasitarias de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca para su análisis respectivo, mediante el método de sedimentación natural cuantificada en base a un gramo de heces, modificado por Rojas et al., (2013) (Ver apéndice 20). Posteriormente se seleccionaron a las vacas positivas y negativas al Paramphistómidos.

Las 26 vacas en lactancia, fueron pesadas con cinta bovino-métrica (el pesaje se repitió a los 60 días) y se dosificó con un antiparasitario a base de ivermectina (1%) más clorsulón 10% y vitamina B12. Con la finalidad de impedir el efecto de las variables intervinientes como nematodos gastrointestinales adultos, juveniles y nematodos pulmonares adultos, *Fasciola hepática* y ectoparásitos. La dosis fue de 1 ml por cada 50 kg de peso vivo; equivale a 0,2 mg de ivermectina por kg de peso vivo, y 2 mg de clorsulón por kg de peso vivo, vía sub cutánea.

- **Obtención de muestras de sangre y medida de la ganancia de peso diario y la condición corporal.**

Las muestras de sangre se obtuvieron por la mañana en ayunas de los 26 animales seleccionados, mediante sistema al vacío en la vena coxígea se utilizó tubos al vacío sin anticoagulante, identificándose y acondicionándose en una gradilla para el transporte al Laboratorio de Fisiología Veterinaria de la Universidad Nacional de Cajamarca, donde fueron centrifugadas para la

obtención de suero (3000 rpm * 10 minutos)*, y se almacenaron en tubos plásticos de 1,5 ml las cuales se guardaron en congelación (-20°C) para su posterior análisis (Ver apéndice 25). Juntamente se evaluó el peso inicial, pesándolo con cinta específica para ganado bovino lechero y la condición corporal de cada una de ellas utilizando el método recomendado por Grigera y Bargo (2005), (ver apéndices 23 y 24), repitiéndolo la medida de la CC y el peso vivo a los 60 días.

- **Método para determinar la ganancia de peso diario (kg).**

Para determinar la ganancia de peso se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Ganancia de peso diario (kg)} = \frac{\text{Peso final(kg)} - \text{Peso vivo inicial (kg)}}{\text{tiempo en días}}$$

- **Prueba de determinación de glucosa.**

La glucosa se determinó después de la oxidación enzimática en presencia de glucosa oxidasa y per oxidasa.

- **Prueba de determinación de colesterol.**

Este método para la determinación de colesterol total en suero, se basa en el uso de tres enzimas: colesterol esterasa (CE), colesterol oxidasa (CO) y peroxidasa (POD). En presencia de este último la mezcla de fenol y 4-aminoantipirina (4-AA) se condensan por acción del peróxido de hidrógeno,

* La finalidad es separar el suero a la brevedad posible de las células para evitar una disminución de la glucosa debido a la glicólisis.

formando una quinonaimina coloreada proporcional a la concentración de colesterol en la muestra.

- **Prueba de determinación de triglicéridos.**

Los triglicéridos son acilgliceroles, formados por una molécula de glicerol, que tiene esterificada sus tres gruposhidroxilo, por tres ácidos grasos saturados o insaturados, determinándose después de la hidrolización enzimática donde se libera ácidos grasos y glicerol.

- **Prueba de determinación de urea.**

Mide la cantidad de nitrógeno en la sangre. El nitrógeno está presente en la urea, la cual es desdoblada a amonio por acción de la enzima ureasa.

- **Manejo y alimentación de los animales seleccionados**

El manejo de los animales a estudiar es de un sistema de crianza extensiva con y sin concentrado. Las cuáles fueron divididos en 4 grupos; donde dos grupos son pastoreadas en potreros bajo riego que cuentan con la combinación Rye Grass y Trébol blanco* (5 negativas a Paramphistómidos y 8 positivas a Paramphistómidos), las vacas de los otros dos grupos pastorean en similares condiciones pero éstas reciben además una suplementación 1kg de concentrando** (5 negativas a Paramphistómidos y 8 positivas a Paramphistómidos).

* Asociación Rye grass – trébol blanco con 22,34% de materia seca, 10,56% de proteína, 4091,47 kcal/kg de energía bruta, 20,59% de fibra cruda.

** Concentrado para vacunos de leche: con 88,90% de materia seca, 15,85% de proteína, 4299,48 kcal/kg de energía bruta, 15,75% de fibra cruda.

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS

Inicialmente se determinó el análisis de regresión lineal entre el número de huevos y el número de parásitos adultos con su respectivo análisis de varianza, se evaluó la normalidad de todas las variables en estudio mediante la prueba estadística de Shapiro – Wilk. Las variables con distribución normal se realizaron un análisis de varianza completamente al azar, cuyo modelo es el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \xi_{ij}$$

A la significancia se realizó la prueba de comparación múltiple de Duncan al 95%.

Las pruebas no paramétricas utilizadas fueron la de Mann - Whitney para HPG y número de Paramphistómidos y gráficas de Caja de Bigotes.

También se determinó la media, la mediana, moda, rango, observación mínima y máxima, los percentiles (25, 50, 75) para la glucosa, colesterol, triglicéridos y urea. Con la finalidad de buscar y probar la hipótesis del diferente comportamiento de los valores de los metabolitos. Igualmente se efectuó la estadística descriptiva. Así como se comprobó la correlación de Pearson entre las diferentes variables en estudio.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. HISTOLOGÍA DEL RUMEN

Para el presente estudio se consideraron zonas no infectadas o aparentemente normales de tejido ruminal con la finalidad de identificar las partes de la pared del rumen (figuras 7 y 8).

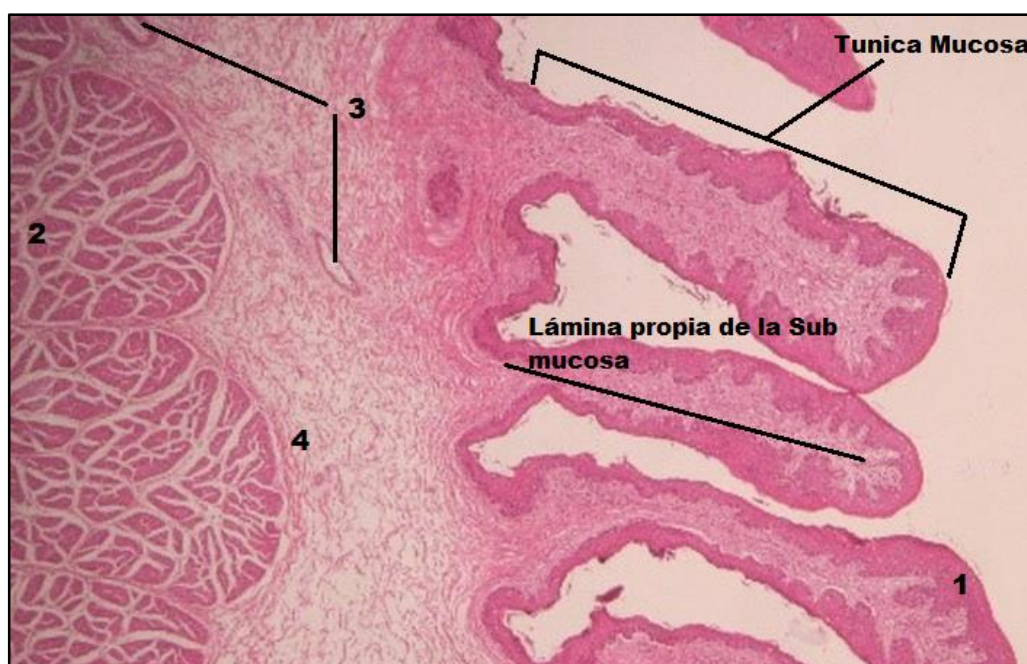


Figura 7: Sección histológica de papilas ruminales y parte de la pared del rumen, del ganado bovino. Camal Municipal de Cajamarca. (Hematoxilina-eosina. 200X.)

Mostrando: Mucosa y Sub mucosa 1. Epitelio plano estratificado queratinizado, 2. Capa muscular circular interna. 3. Vasos sanguíneos. 4. Tejido Conectivo Laxo, muy vascularizado

La figura 7 muestra parte de la pared del rumen (desde la luz hasta la túnica muscular circular interna); las papilas ruminales que tienen la forma de lengüetas, con la capa epitelial de la mucosa que está revestida de un epitelio estratificado plano queratinizado. Observado en el mismo corte, la lámina propia de la submucosa seguidamente la capa de tejido muscular liso, conformado por una capa muscular

circular interna que permite los movimientos del rumen junto con la capa longitudinal interna.

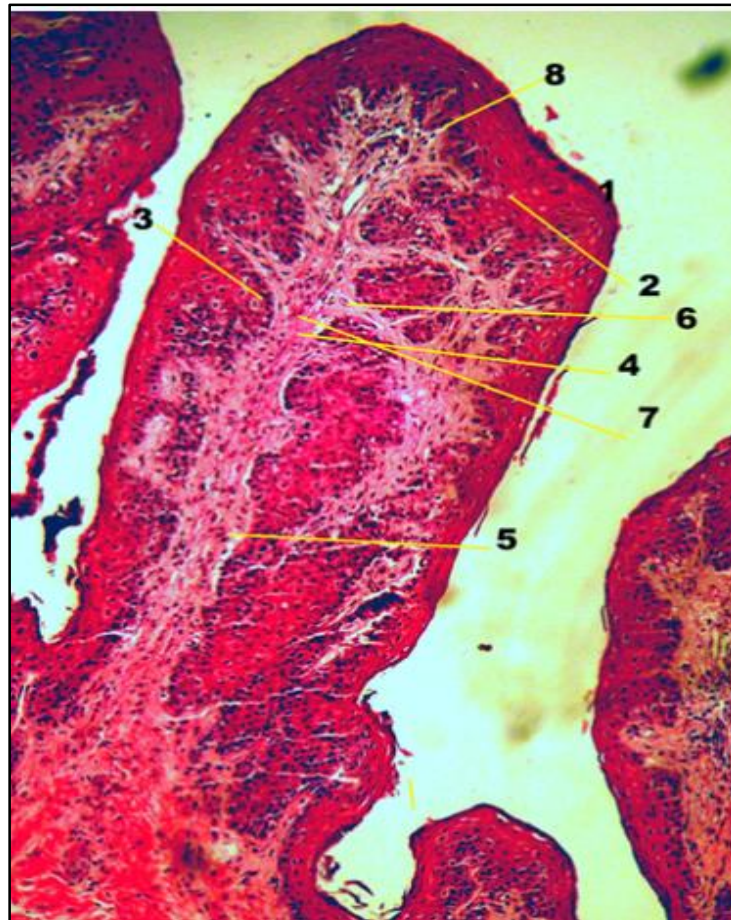


Figura 8: Sección histológica de la papila ruminal de un bovino. Camal Municipal de Cajamarca (Hematoxilina- eosina. 400X).

Mostrando: 1. Epitelio plano estratificado queratinizado: con presencia de una capa cornea, con células planas con núcleo picnótico (Tejido fibroelástico), 2. Células parabasales. 3. Células basales. 4. Fibras colágenas. 5. Células polinucleares. 6. Vasos sanguíneos. 7. Fibroblasto. 8. Membrana basal.

En la ilustración 8 se distinguen mejor las diferentes partes de la papila ruminal, con sus capas y tejidos que intervienen en su constitución. (1) El epitelio plano estratificado queratinizado, que es el revestimiento de la papila ruminal, son células planas con núcleo picnótico; las capas superficiales del epitelio están compuestas por células muertas cuyos núcleos y citoplasma se sustituyen con queratina y es grueso,

(2) Las células parabasales que son polimorfas y se encuentran en la zona media; está constituido por múltiples capas celulares superpuestas. (3) Las Células basales que tienen forma cuboide, están más próximos entre sí, lo que indica que el citoplasma perinuclear es escaso es la capa más profunda de células se encuentra en contacto con la lámina basal. (4) Fibras colágenas formadas por la asociación de moléculas de colágeno y proteínas fibrosas, son las que dan resistencia. (5) Polinucleares. Leucocitos que se caracterizan por tener varios núcleos. (7) Fibroblastos es un tipo de célula residente del tejido conectivo propiamente dicho, ya que nace y muere ahí. Sintetiza fibras y mantiene la matriz extracelular del tejido de muchos animales.

Se observa la lámina propia de la submucosa, con tejido conectivo laxo muy vascularizado.

Estructuras similares a las descritas por: Laplace, 1968; Fiore, 1997; Novoa y Díaz; 2001; Torres y Sousa, 2002, Gille, 2006; Triviño, 2010; González, 2012 y Salazar et., al, 2013.

4.2. HISTOPATOLOGÍA DEL RUMEN

Para el presente estudio se consideró zonas infectadas de tejido ruminal con Paramphistómidos, de diez vacunos adultos de diferente raza, edad y sexo, provenientes del Camal Municipal de Cajamarca.



Figura 9: Daño histopatológico de la papila ruminal de un bovino positivo a Paramphistómidos. Camal Municipal de Cajamarca (Hematoxilina- eosina. 400X).

Mostrando la zona de fijación del Paramphistómidos, 1. Células con degeneración hidrópica. 2. Edema. 3. Células con hiperplasia. 4. Necrosis multifocal 5. Células polimorfonucleares, con algunos neutrófilos degenerados.

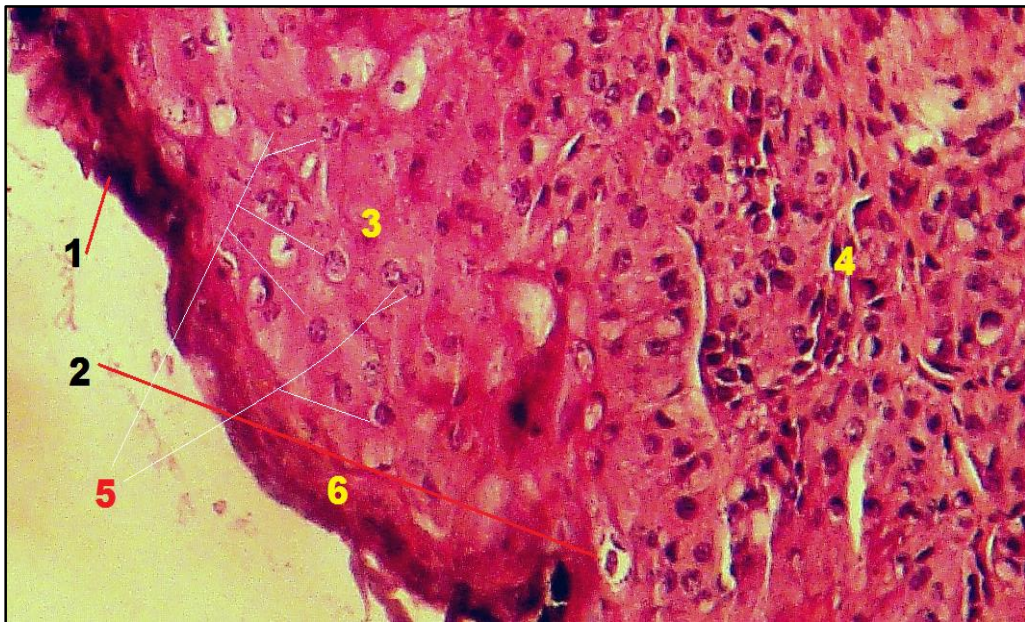


Figura 10: Sección histopatológica de la parte media de la papila ruminal de un bovino positivo a Paramphistómidos. Camal Municipal de Cajamarca (Hematoxilina- eosina. 400X).

Mostrando: 1. Necrosis multifocal 2. Células con degeneración hidrópica 3. Edema 4. Presencia de hiperplasia. 5. Células polimorfonucleares. 6. Tejido inflamatorio (400X).

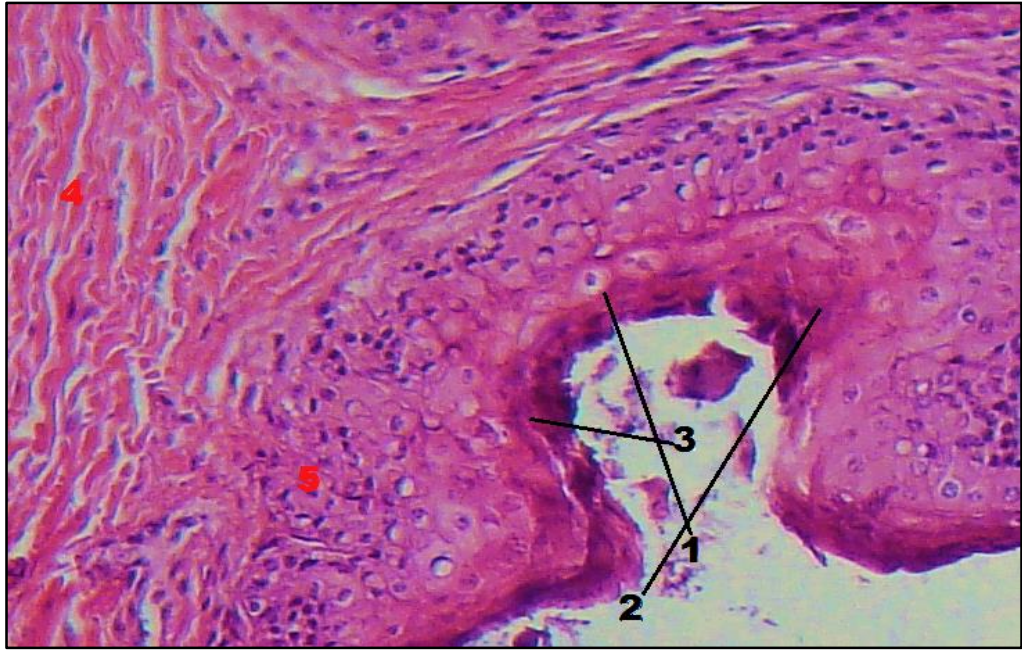


Figura 11: Alteración histopatológica de la base de la papila ruminal, de un bovino positivo a Paramphistómidos. Camal Municipal de Cajamarca (Hematoxilina-eosina. 400X)

Mostrando: 1. Degeneración hidrópica, 2. Edema 3. Necrosis. 4. Tejido conectivo laxo con sus fibroblastos. 5, Hiperplasia.

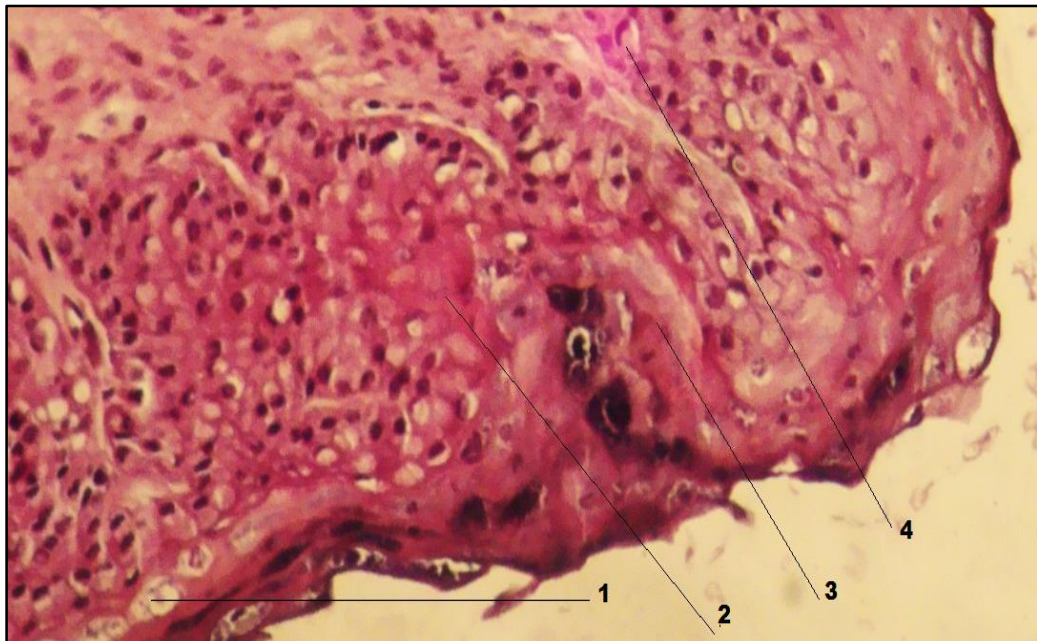


Figura 12: Sección histopatológica del ápice de la papila ruminal de un bovino positivo a Paramphistómidos. Camal Municipal de Cajamarca (Hematoxilina-eosina. 400X).

Mostrando: 1. Degeneración hidrópica, 2. Necrosis. 3. Edema, 4. Neutrófilo difuso.

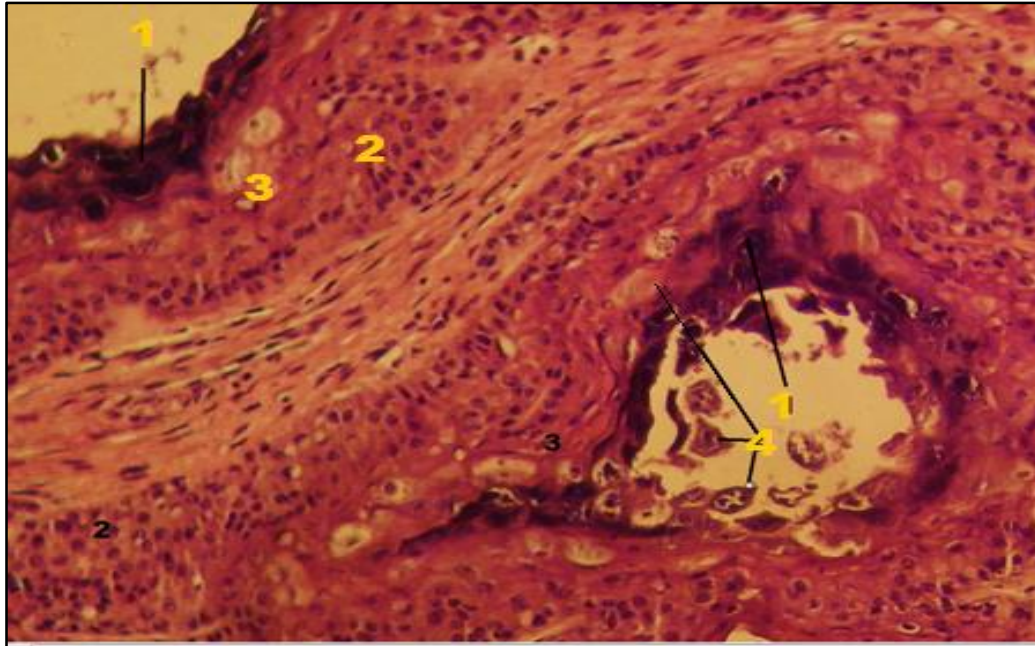


Figura 13: Sección histopatológica del desprendimiento de la papila ruminal, de un bovino positivo a Paramphistómidos. Camal Municipal de Cajamarca (Hematoxilina- eosina. 400x).

Mostrando: 1. Edema, 2. Hiperplasia 3. Degeneración hidrópica 4. Necrosis.

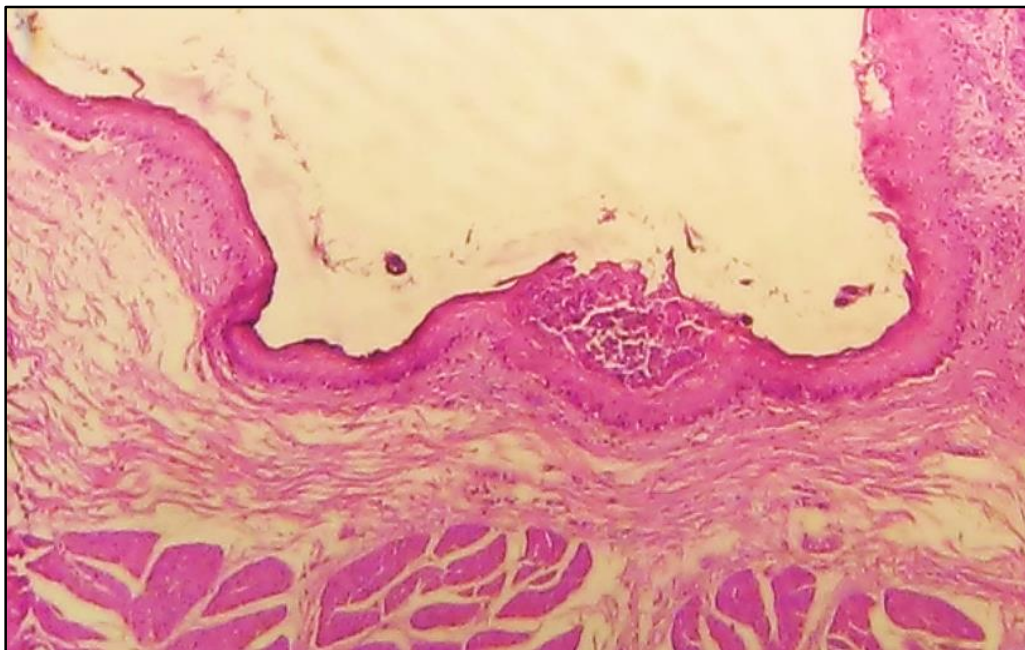


Figura 14: Sección histopatológica de la pared ruminal con el desprendimiento de la papila ruminal de un bovino positivo a Paramphistómidos. Camal Municipal de Cajamarca (Hematoxilina-eosina. 400X)

La figura 14 muestra la presencia de Hiperplasia, necrosis y edema, de un bovino proveniente del Camal Municipal de Cajamarca.

En las figuras del 9 al 13, se observa células de degeneración hidrópica que reflejan una tumefacción celular con palidez del citoplasma, la tumefacción celular aparece cuando las células son incapaces de conservar la homeostasis de iones y líquidos. La degeneración hidrópica es sencillamente una expresión de la tumefacción celular que manifiesta la acumulación intracelular de un mayor volumen de agua. El término degeneración hidrópica se aplica a células intensamente tumefactas por el agua que se encuentra libre en el citoplasma. Este tipo de degeneración es común a muchos tipos de agentes patógenos, por ejemplo: etapa inicial de la acidosis ruminal, donde la manifestación principal de casi todas las formas de lesión celular es el aumento del diámetro de la célula por desplazamiento del agua extracelular al interior.

El edema (Figuras: 9,10, 11, 13 y 14) que es la presencia anormal de líquido de forma intersticial que pueden dar lugar a disección de las capas de tejido y a ruptura de los mismos, por efecto de los Paramphistómidos, que ocasiona a la respuesta inflamatoria aguda, ocasionando dolor.

Los cambios adaptativos de hiperplasia (Figuras del 9 al 14) se manifiesta por aumento del número de las células basales; por ende el aumento del volumen del órgano o tejido. Representa una respuesta a mayor demanda de trabajo o a irritación crónica.

La presencia de necrosis (figuras del 9 al 14) que es la muerte patológica de un conjunto de células, provocada por los Paramphistómidos que causa la lesión grave que no se puede reparar, produciendo una isquemia.

Los Neutrófilos adultos degenerados (Figuras 9 y 12). Como consecuencia del ambiente tóxico creado, sufren rápidamente cambios que afectan a núcleo con cariólisis, mostrando tumefacción, bordes deshilachados, tinción rosada y pérdida de

membrana citoplasmática. El citoplasma puede aparecer vacuolizado por digestión enzimática.

Las células polimorfonucleares (Figuras 9, 10 y 12) son células pertenecientes a la serie blanca, que pertenecen al sistema inmune, su presencia se debe a los Paramphistómidos. El tejido inflamatorio se debe a las alteraciones vasculares que determinan una acumulación sanguínea en el foco para luego producirse el edema.

El tejido inflamatorio (Figura 10) que viene hacer una reacción del organismo contra el Paramphistómido que se caracteriza por el rubor.

Existiendo desprendimiento de las papilas ruminales (figuras 13 y 14).

Del total de secciones de cortes histológicos de rumen, en las zonas donde no estuvieron los Paramphistómidos, se observó la mucosa con características histológicas adecuadas del tejido del rumen; con las papilas ruminales recubiertas del epitelio escamoso estratificado queratinizado. En las lesiones histopatológicas existieron alteraciones estructurales del citoplasma, cuyas células están hinchadas, evidenciando degeneración hidrópica. El 40% de los cortes evidenciaron muerte celular de ligera a moderada (++ a +++), con invasión transepitelial de células polimorfonucleares degenerados y lisados, los que en un 65% de los cortes, se encontraron difusos en la Lámina propia entre los capilares sanguíneos de ligero a moderado, acompañados, en algunos casos de escasos macrófagos. No obstante, en los tejidos lesionados existen evidencias de aumento de producción de células, en distintos grados: de moderada a severa (+++ a ++++), manifestando hiperplasia.

La capa muscular conserva las tunicas interna y externa así como la serosa, características citoarquitecturales sin cambios aparentes, sin desorden celular.

Demostrando que la presencia de los Paramphistómidos a nivel ruminal está asociado a diferentes cambios estructurales de la mucosa de la papila y pared ruminal (Figuras de la 9 a la 14), provocando abrasiones con degeneraciones hidrópicas, edemas, necrosis multifocal de leve a moderada; modificaciones que degradan la funcionalidad de las papilas. La severidad y la extensión de los cambios estructurales dependen del número de Paramphistómidos migratorios.

La presente exploración es respaldada por lo manifestado por Lapage (1986), Quiroz (2005), Paucar (2008), Cruz (2003) Velástegui y Guerra (2012), Dube, et al., (2013; Drugreri y Modern, (2002); Fuertes, (2015), quienes indican que las lesiones microscópicas inducidos por los Paramphistómidos en el rumen, provocan daño traumático, por la fijación de su ventosa ventral, succionando parte de la mucosa y perturbando la irrigación sanguínea con pérdida de sangre. Siendo la lesión en la capa superficial y de los tejidos subyacentes, existiendo propagación de epitelio en las zonas que rodean al parásito y una evidente proliferación del epitelio estratificado escamoso de las papilas, así como signos de degeneración; también encontrándose edema en la capa epitelial e infiltración linfocitaria en la lámina propia.

Sin embargo, también ocurren algunas modificaciones, los cuales han sido interpretados como una respuesta adaptativa de hiperplasia de moderada a severa a la infección de Paramphistómidos, que pueden llevar a una compensación parcial del disturbio funcional. Demostrando que estas células tienen la capacidad de dividirse por sus células que son lábiles (MedelinePlus, 2016).

Las lesiones registradas fueron similares a los realizados por Espinoza (2015) donde registró alteraciones histopatológicas de edema en la zona de implantación del parásito de la mucosa ruminal; necrosis del epitelio de revestimiento; inflamación con

infiltración leucocitaria en la lámina propia de la mucosa; degeneración del epitelio de la papila ruminal. Así también es similar al trabajo evaluado por Fuertes (2015) quien valorizó 49 bovinos infestados con Paramphistómidos observando acantosis, hiperqueratosis e incluso necrosis del epitelio plano estratificado, leucocitos globulares, linfocitos intraepiteliales y células de Langerhans, infiltrado inflamatorio compuesto principalmente por linfocitos El grado de lesión estuvo significativamente relacionado con la carga parasitaria en las diferentes regiones del rumen y retículo, y fue más significativo en el saco ventral del rumen.

4.3. RELACIÓN DEL NÚMERO DE HUEVOS POR GRAMO DE HECES (HPG) CON EL NÚMERO DE PARÁSITOS ADULTOS (NPA).

Tabla 1: HPG y NPA en el rumen y retículo de 22 bovinos positivos a Paramphistómidos. Camal Municipal de Cajamarca.

Parámetro	HPG	NPA
Media	95,77	5759,86
Mediana	106,00	5810,00
Moda	150,00	9500,00
Desvió Estándar	77,947	4848,09
Rango	213,00	15285,00
Mínimo	4,00	235,00
Máximo	217,00	15520,00
Percentiles	25	8,75
	50	106,00
	75	156,25
		9500,00

Donde HPG: Huevos por gramo de heces; NPA: número de parásitos adultos

El valor que más se repitió es 150 HPG y 9500 de NPA; la mitad de los bovinos está con menos de 106 HP y menos 5810 NPA en el rumen y retículo. La mayor

concentración de HPG y de NPA se encuentra en el primer cuartil (4 a 8,75: Rango de 4,75 para HPG y de 235 - 646,25 con rango 411,25 para parásitos adultos) y tercer cuartil (106 a 156,25, Rango 50,25 para HPG y de 5810-9500 con rango 3690 para NPA) respectivamente, mostrando una menor dispersión en el primer cuartil (figuras 15 y 16).

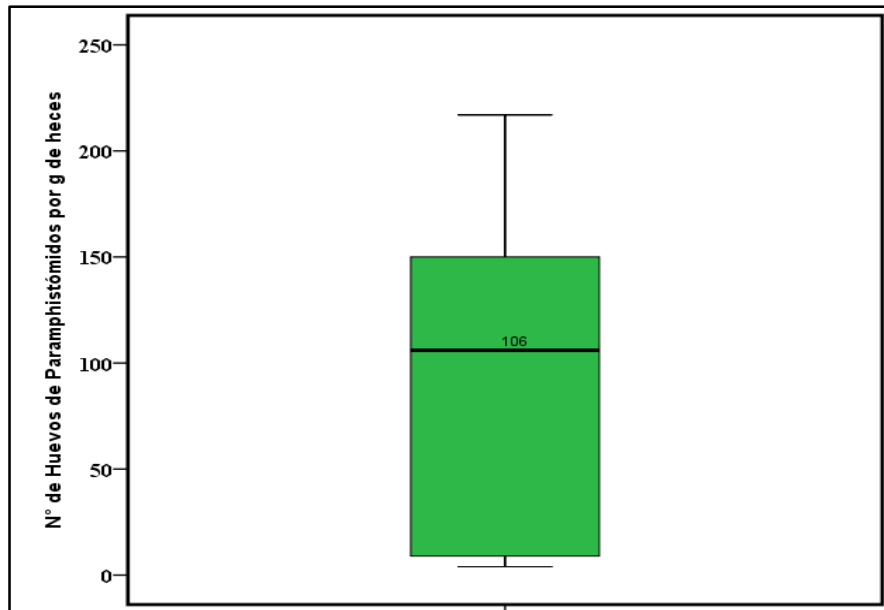


Figura 15: Diagrama de caja de bigotes ilustrando HPG en 22 bovinos positivos a Paramphistómidos. Camal Municipal de Cajamarca

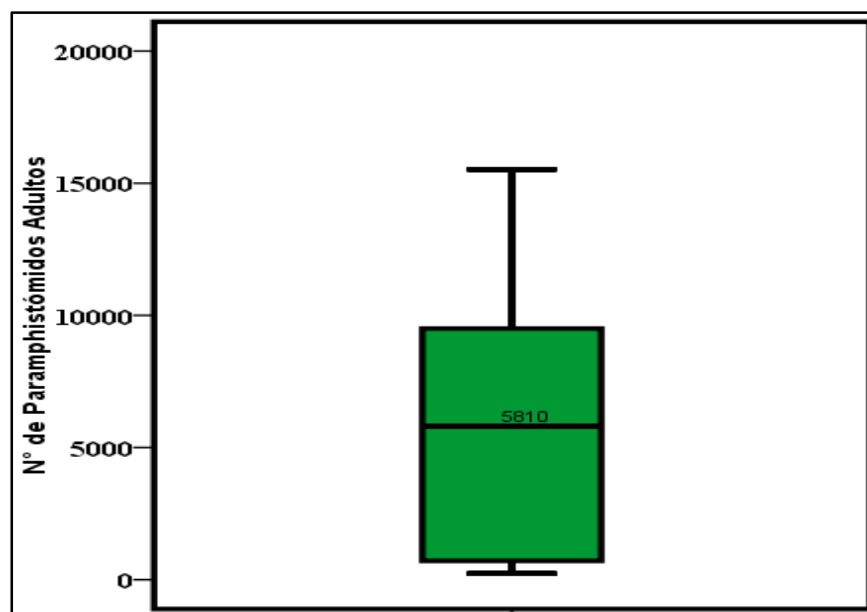


Figura 16: Diagrama de caja de bigotes del NPA del rumen y retículo de 22 bovinos positivos a Paramphistómidos. Camal Municipal de Cajamarca.

4.3.1. Validación del Modelo Lineal para relacionar HPG con NPA

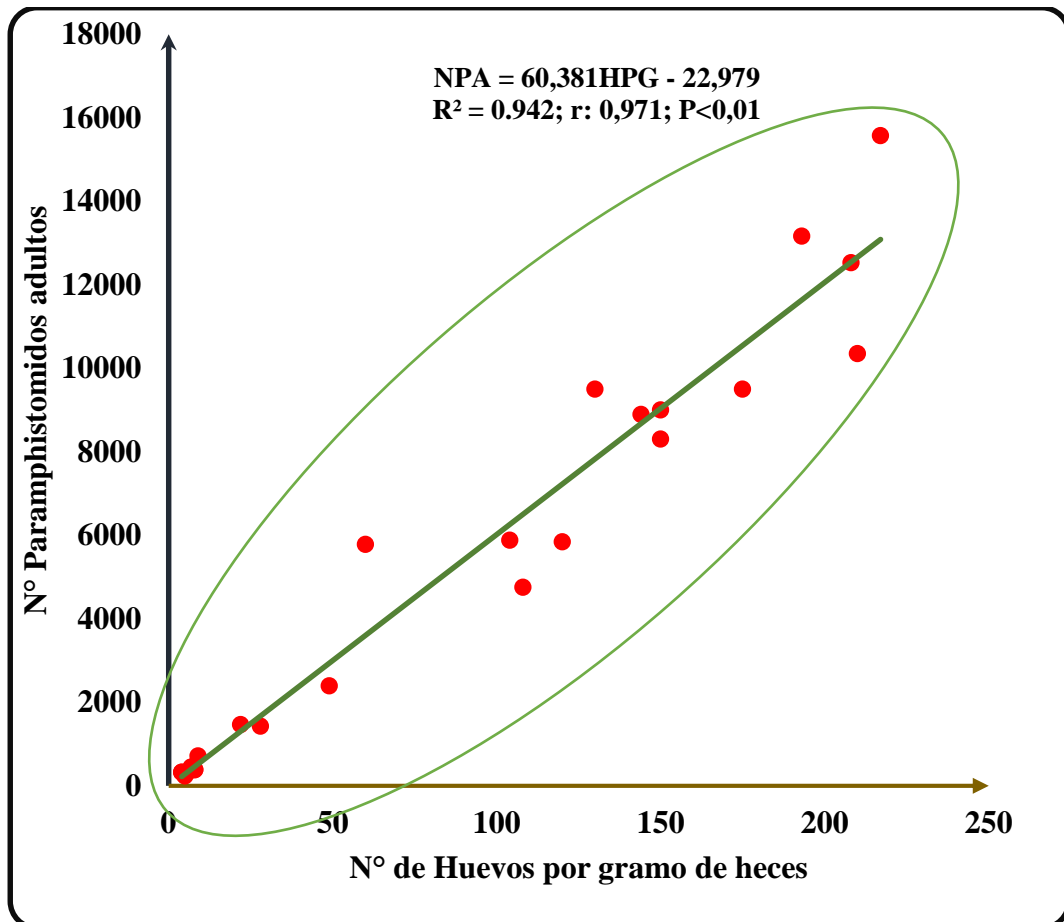


Figura 17: Relación del HPG con NPA de 22 bovinos infectados con Paramphistómidos. Camal Municipal de Cajamarca

Dónde: R²: Coeficiente de determinación; r: Correlación, P < 0,01 (significancia al 99%), NPA: Número de parásitos adultos.

Análisis de las Regresiones (Apéndices 1; figura 17); para la validación del modelo apropiado.

➤ **Modelo Lineal**

$$NPA = 60,381HPG - 22,979; P < 0, 01; r = 0,971; R^2:0,939 \text{ (corregida)}$$

HPG = Huevos por gramo en heces

NPA: Número de Paramphistómidos adultos.

➤ **Análisis**

- **Modelo lineal**

$\hat{\beta}_0$ (-22,979) valor no es significativo (P > 0,05; Apéndice 1)

$\hat{\beta}_1 = 60,381 \pm 3,337^*$. Revela que por cada huevo que se incrementa en un gramo en heces el número de parásitos se incrementa en 60,381 (60 parásitos) siendo altamente significativo ($P < 0,0001$: Apéndice 1) quedando demostrado que este coeficiente es diferente de cero lo que valida el modelo.

El coeficiente de correlación ($r: 0,971$) demostrando una correlación positiva y significativa ($P < 0,01$).

Normalidad de los residuos: Para determinar si los residuos tienen una distribución normal, por el método gráfico se puede observar en la gráfica (17) que la nube de puntos se aproxima a la recta, ajustando muy bien la regresión lineal, pudiéndose afirmar que los residuos tienen distribución normal.

La ecuación demuestra que no existe auto correlación de los residuos (Prueba de Durbin – Watson- Apéndice 1).

El coeficiente de determinación (R^2) en la ecuación lineal manifiesta que el 94,2% de la variabilidad de los parásitos adultos es explicado por el número de huevos por gramo en heces.

Por lo anterior mente mencionado y registrando la ecuación lineal mejor ajuste, motivo el cual se considera la ecuación lineal para el presente trabajo de investigación.

4.3.2. De la relación entre HPG con NPA positivos a Paramphistómidos.

La relación, del presente trabajo experimental, entre el NPA ubicados en el rumen y retículo con HPG obtenidos al análisis coproparasitológico fue muy alta

* Intervalo de confianza al 95%

($r: 0,971$) y directamente proporcional. Con el modelo obtenido ($60,381 \pm 3,37 \text{HPG} - 22,979$) indicando que por el incremento de un huevo por gramo de heces, al análisis coproparasitológico, el número de Paramphistómidos adultos en el rumen, retículo se incrementa en 60.

El mayor número de huevos que se presentan en bovinos altamente infestados podría deberse a la variabilidad inherente del hospedador, esto es respaldado por lo manifestado por Quiroz, (2005), quien indica que la evolución de una infección parasitaria puede ser lenta o rápida, debido a la elevada o poca resistencia que está ligada a la edad, a la re infestación y al estado nutritivo. Por consiguiente, la inmunidad se ve disminuida, no teniendo una adecuada protección del efecto letal de esta parasitosis (Urquhart, et al., 2001), quien encontraría un medio más adecuado para incrementar su ovoposición.

Los datos obtenidos son similares a los encontrados por Briones (2015), quien estudio 15 vacunos, de diferente sexo y edad, positivos a *Calicophoron microbothrioides*, sacrificados en el Camal Municipal de Cajamarca, determinando el promedio de parásitos de $3919,33 \pm 4605$ Paramphistómidos, con una media de $3272,07 \pm 37701$ de parásitos adultos adheridos a la mucosa y una media de $647,27 \pm 1006$ de parásitos adultos en el líquido ruminal, con una carga parasitaria promedio es de $68,93 \pm 73$ HPG, existiendo una relación de $r: 0,959$ ($P < 0,01$). Siendo la capacidad reproductiva del *Calicophoron microbothrioides* mediante el método de Dinnik y Dinnik es de $666,68 \pm 287$ huevos promedio por parásito.

Los valores registrados en el presente trabajo de investigación, son mayores a los hallados por Fuertes (2015), quien obtuvo una carga parasitaria total de los animales

de 19487 Paramphistómidos adultos, variando entre 8 y 8005 parásitos por animal (mediana = 144).

La relación entre HPG con NPA, fue similar a lo manifestado por Mage y Dorchies (1988) y Briones (2015), quienes especifican una relación directamente proporcional y altamente significativa.

4.4. EVALUACIÓN DE LA GANANCIA DE PESO DIARIO (GPD) Y LA CONDICIÓN CORPORAL (CC) EN VACAS EN LACTACIÓN, POSITIVAS A PARAMPHISTÓMIDOS.

Tabla 2: Promedio de GPD (kg) en 26 vacas en lactación. Fundo San Vicente. Baños del Inca.

Grupo	Nº	GPD ± DS
Negativos a Paramphistómidos alimentados con forraje	5	0,57±0,23 b
Negativos a Paramphistómidos alimentados con forraje más concentrado	5	1,05±0,1 a
Positivos a Paramphistómidos alimentados con forraje más concentrado	8	0,22±0,3 c
Positivos a Paramphistómidos alimentados con forraje	8	0,40±0,33 bc

Letras diferentes en una misma columna indican diferencia (Prueba de Duncan P<0,05). DS. Desvío estándar.

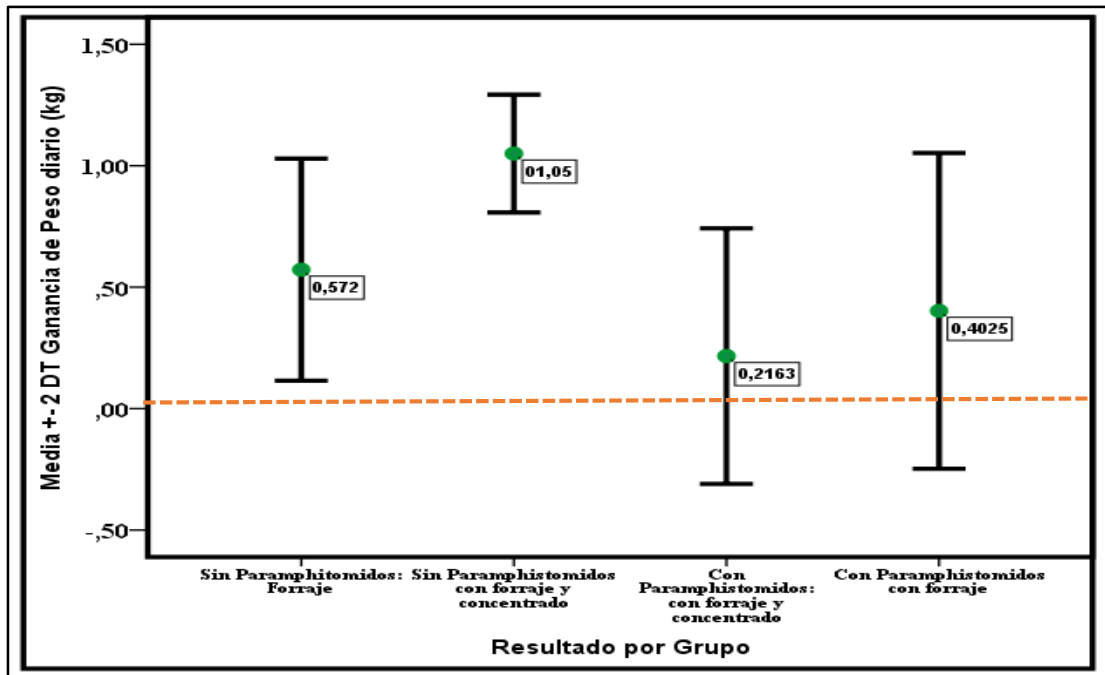


Figura 18: GPD (kg) en los grupos de vacas, tabulados durante 60 días en 26 vacas en lactación. Fundo San Vicente-Baños del Inca.

El efecto de los Paramphistómidos se ve reflejado en las GPD (kg), siendo al análisis estadístico altamente significativo entre las GPD de los grupos de vacas ($P < 0,01$). Donde la tabla 2 y figura 18, refieren las características importantes de las GPD (kg); observándose a ambos grupos de vacas positivas a la infección con Paramphistómidos que los desvíos estándares son elevados en relación a la media, lo que expresa que las GPD no fueron similares dentro de cada grupo (Apéndice 4). Registrando una correlación inversamente proporcional entre GPD con HPG ($r: -0,705$; $P < 0,05$). Esto puede ser debido a lo manifestado por Lapage (1986) Cardona et al. (1999) y Andresen (2009), quienes manifiestan que el grado de afección depende de la carga patológica de la parasitosis, de la edad y del estado de defensa del animal infectado, produciendo en el digestivo patologías de tipo inflamatorio, inmunológico, disfunciones y alteraciones en la absorción, debido a que su alimentación está basada en líquidos y células del lugar donde alberga. Lo que se vería reflejado en los diferentes incrementos de pesos.

También se observa que el grupo de vacas negativas a Paramphistómidos (-) que consumen forraje más concentrado tienen mayores GPD ($1,05 \pm 0,1$ kg/d) que el grupo de vacas negativas que consumen forraje ($0,57 \pm 0,23$ kg/d), que el grupo de vacas positivas a Paramphistómidos (+) que consumen forraje más concentrado ($0,22 \pm 0,3$ kg/d) y que el grupo de vacas positivas que consumen solo forraje ($0,40 \pm 0,33$ kg/d). Exhibiendo ambos grupos (+), pérdida de peso, lo que manifiesta, en algunas de ellas, balance energético negativo.

A pesar que las vacas del grupo que consumen solo forraje (- y +) no existe diferencia en las ganancias de peso, pero se observa (figura 18) que las vacas negativas tienen una ganancia mínima de 0,25 kg/día y un máximo de 0,83 kg/día (rango de 0,58 kg/d), en cambio las vacas positivas que consumen forraje va desde -0,28 kg/día (pérdida de peso) hasta 0,83 kg diario (rango 1,11); y, las (+) que consumen forraje más concentrado van desde -0,17 kg/d hasta 0,73 kg/d de ganancia (rango 0,90 kg/d).

Esto puede ser debido a los Paramphistómidos, que cuando están adheridos al epitelio del rumen, fijados en la base de las papilas por la ventosa oral y el acetábulo del trematodo provocan presión (Quiroz, 2005; Flores y Rodríguez, 2013), originando alteraciones patógenas que los parásitos ejercen sobre sus hospedadores por acción esfoliatriz (succión de los líquidos) y traumática (Drugreri y Modern, 2002; Pizano y Torres, 2011; Lapage, 1986), ocasionando reducción del consumo voluntario de los alimentos, por depresión del centro regulador del apetito; dañando la mucosa del tracto digestivo, reduciendo la superficie de absorción de los nutrientes, ocasionando un síndrome de mala digestión y absorción, alterando la conversión alimenticia, afectando la tasa de crecimiento y ocasionando pérdidas de peso y sangre (Entrocasso, 1988;

Arévalo, 2006; Cancino, 2005; Alomar, et al., 1997; Lapage, 1986; Torrel y Paz, 2015; Cordero, et al., 1999; Urquhart, et al., 2001; Radostis, et al., 2002).

Tabla 3: CC al inicio y a los 60 días de las 26 vacas en lactación. Fundo San Vicente- Baños del Inca.

Grupo	N°	CC, Inicio ±DS	CC, Final (60 días) ±DS
Negativos a Paramphistómidos alimentados con forraje	5	2,50±0,18 a	2,61± 0,11 a
Negativos a Paramphistómidos alimentados con forraje más concentrado	5	2,51±0,05 a	2,71±0,12 a
Positivos a Paramphistómidos alimentados con forraje más concentrado	8	2,22±0,43 a	2,41± 0,19b
Positivos a Paramphistómidos alimentados con forraje	8	2,63±0,27 a	2,65±0,19 a

Letras diferentes en una misma columna indican diferencia (Prueba de Duncan $P<0,05$), DS. Desvío estándar.

La primera calificación de la CC, que se realizó al inicio el experimento (Tabla 3), las CC promedios fue similar en los cuatro grupos. Al segundo registro (60 días) las CC fueron diferentes ($P<0,05$) en los cuatro grupos, siendo menor la CC en las vacas positivas a Paramphistómidos que recibieron como alimento forraje más concentrado ($2,41 \pm 0,19$) comparados con el grupo de animales infectados con Paramphistómidos alimentados con forraje ($2,61 \pm 0,11$) al grupo de vacas negativas alimentadas con forraje más concentrado ($2,71 \pm 0,12$) y a las alimentadas solo con forraje ($2,65 \pm 0,19$).

A pesar que dos grupos recibieron solamente forraje y los otros dos recibieron forraje más concentrado, con la misma disponibilidad de alimentos (cantidad y calidad), similar producción de leche (Apéndice 2), la misma adaptación al medio ambiente y sabiendo que el equilibrio energético es determinado por la diferencia entre el consumo

y los requerimientos de energía libre y proteína cruda para mantenimiento, producción y ganancia de peso, los animales infectados tienden a un menor aprovechamiento de energía y proteína, ya que cubre los requerimientos de mantenimiento con una inadecuada conversión alimenticia.

Lo que es respaldado por lo manifestado por Alomar, et al., (1997), Entrocasso (1988), Arévalo (2006) y Cancino (2005) quienes manifiestan que el parasitismo gastrointestinal daña la mucosa del tracto digestivo, reduciendo la superficie de absorción de nutrientes, con efectos adversos que tienen su consecuencia sobre las alteraciones de los procesos fisiológicos como la reducción de la ingestión de los alimentos y la disminución de las ganancias de peso, así como la disminución de la condición corporal.

La baja CC es corroborado por Paucar (2008), quien manifiesta que durante la Paramphistomosis crónica, la principal manifestación como consecuencia de la mala digestión de los alimentos es el retardo en el crecimiento y deficiente estado nutricional del animal, reflejado en la CC.

Los valores registrados en las vacas positivas a Paramphistómidos alimentados con forraje más concentrado ($2,41 \pm 0,19$) son menores a los remendados por Grigera y Bargo (2005) y García y Hippen (2012) quienes manifiestan que a partir de la lactancia media (2,6 meses) la condición corporal debe estar en 2,5, donde las vacas recuperan progresivamente sus reservas corporales, llegando a la lactancia media a una CC de 3,0. Siendo las vacas demasiado delgadas las que poseen producción de leche reducida y una demora en la reiniciación del ciclo estral luego del parto, ocasionando una reducción del porcentaje de preñez. (Gonzalez, 2010).

4.5. ESTIMACIÓN DEL NÚMERO DE PARAMPHISTÓMIDOS ADULTOS SEGÚN MODELO EN 16 VACAS EN LACTACIÓN. FUNDO SAN VICENTE – BAÑOS DEL INCA.

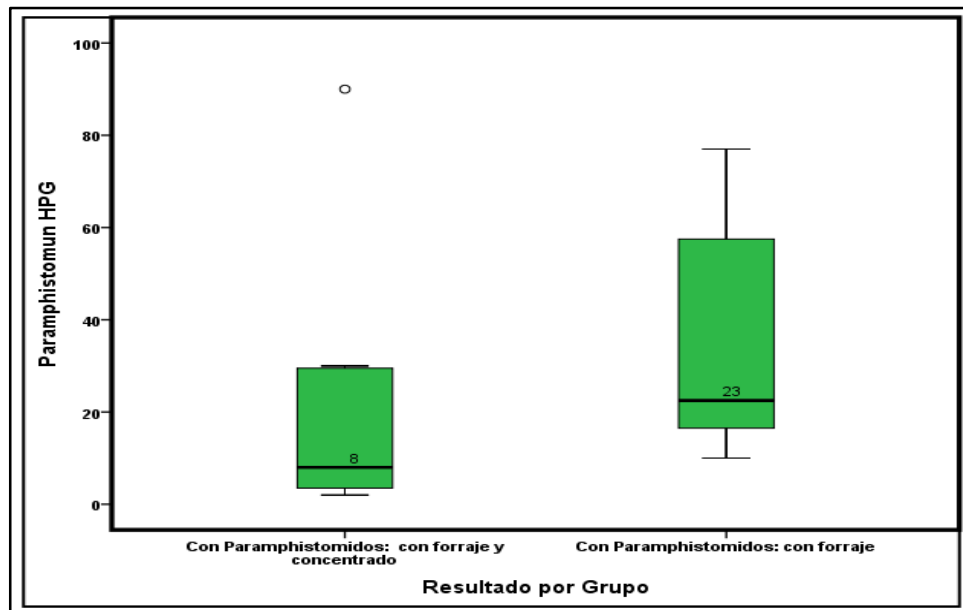


Figura 19: Diagrama de caja de bigotes de HPG de 16 vacas en lactación, positivas a Paramphistómidos. Fundo San Vicente – Baños del Inca.

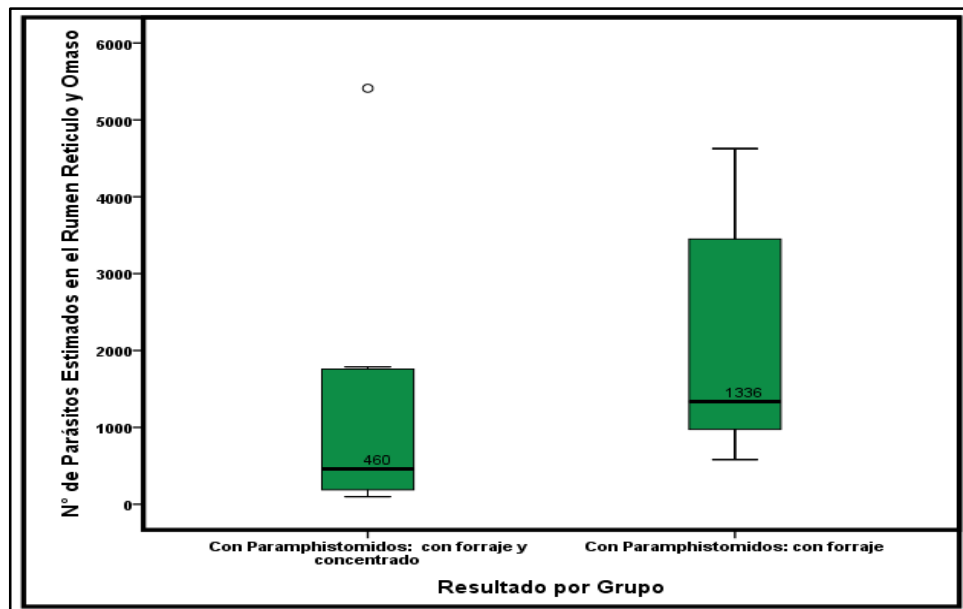


Figura 20: Diagrama de caja de bigotes del NPA estimados para 16 vacas en lactación, positivas a Paramphistómidos. Fundo San Vicente – Baños del Inca.

Se determinó mediante la ecuación del modelo lineal: $NPA = 60,381HPG - 22,979$.

La caja de bigotes en las figuras 19 y 20 describen las características importantes, tanto la dispersión como la asimetría en los dos grupos, observándose un valor atípico (0) en el grupo de vacas infectadas con Paramphistómidos alimentadas con forraje más concentrado, este valor es numéricamente distante del resto de datos, los cuales si se toman en cuenta los resultados serían engañosos, que alteran la mediana y el promedio, pero en estos casos es mejor tomar la mediana.

En la interpretación, se observó que en los dos grupos de vacas positivas a Paramphistómidos (+) son similares estadísticamente en el número promedio de parásitos adultos ($P > 0,05$). Observándose mayor dispersión de parásitos adultos en el grupo de vacas positivas alimentadas con forraje (Mínimo 581, Máximo: 4626; Rango 4045); comparado con el grupo de vacas alimentadas con forraje más concentrado con un mínimo 98, máximo: 1999 (5411 valor real), aproximadamente; Rango de 1901 (5313 valor real). Registrando promedios de 1336 de NPA para el grupo de vacas (+) alimentadas con forraje y de 460 para las vacas (+) alimentadas con forraje más concentrado (Apéndice 8).

Registrando tendencia similar en el HPG donde el grupo de vacas positivas alimentadas con forraje tienen un mínimo 10, Máximo: 77; Rango 67; comparado con el grupo de vacas alimentadas con forraje más concentrado con un Mínimo 2, Máximo: 32 (90 valor real), aproximadamente; Rango de 30. Registrando promedios de 22 de HPG para el grupo de vacas (+) alimentadas con forraje y de 21,75 para las vacas (+) alimentadas con forraje más concentrado (Apéndice 8).

Los valores de HPG y NPA son menores a los registrados en el Camal Municipal y a los determinados por Briones (2015). Siendo el NPA mayores a los mencionados por Fuertes (2015).

4.6. EVALUACIÓN DE LOS METABOLITOS SANGUÍNEOS.

Tabla 4: Valores promedios de glucosa, colesterol, triglicéridos y urea en suero sanguíneo de las 26 vacas en lactación. Fundo San Vicente - Baños del Inca

Grupo	N°	Glucosa mg/dl ±DS	Colesterol mg/dl±DS	Triglicéridos mg/dl±DS	Urea mg/dl±DS
Negativos a Paramphistómidos alimentados con forraje	5	69,48±8,05 b	155,40±16 a	23,8±5,80 a	19,22±3,51a
Negativos a Paramphistómidos alimentados con forraje más concentrado	5	74,80±10 b	136,74±45 a	23,00±4,3 a	19,38±2,1 a
Positivos a Paramphistómidos alimentados con forraje más concentrado	8	86,10±10,21 a	94,30±35 b	25,38±8,7 a	19,70±2,0 a
Positivos a Paramphistómidos alimentados con forraje	8	76,69±6,2 ab	96,25±31,5 b	24,88±3,23 a	19,85±3,12 a
Total	26	77,84±10,23	114,81±23,25	24,46±6	19,54±5,56

Letras diferentes en una misma columna son significativas prueba de Duncan ($P < 0,05$), y el ANOVA: DS: desvío estándar

4.6.1. Niveles de glucosa en suero.

Los niveles de glucosa en suero del grupo de vacas negativas a Paramphistómidos (Alimentadas con forraje y alimentadas con forraje más concentrado), no obtuvieron mucha dispersión, cuyos rangos fueron de 19,31 mg/dL (63,24 a 82,55 mg/dL) y de 27,65 mg/dL (58,56 a 86,21 mg/dL), respectivamente, lo que queda demostrado por el bajo coeficiente de variación (Apéndices 10 y 11).

El grupo de vacas positivas a Paramphistómidos mostraron un ligero incremento de dispersión sobre todo los alimentados con forraje más concentrado cuyo rango fue de 33,33 mg/dL (72,88 a 106,21 mg/dL). El grupo de vacas alimentadas con forraje registró un rango de 18,67 mg/dL (67,99 a 86,66 mg/dL), cuyos coeficientes de variación están dentro de la normalidad (Apéndice 12 y 13).

Los niveles de glucosa sérica en el grupo de vacas negativas a Paramphistómidos que consumen forraje ($69,48 \pm 8,05$ mg/dL) y las que consumen forraje más concentrado ($74,80 \pm 10$) tienen menores niveles medios de glucosa ($P < 0,05$), comparados con los niveles de glucosa del grupo de vacas positivas a Paramphistómidos alimentadas con forraje más concentrado ($86,10 \pm 10,21$ mg/dL). (Tabla 4). Estas diferencias posiblemente sea debido a la ingesta de concentrado que contiene carbohidratos de fácil digestión en el rumen, se sintetizan mayor cantidad de AGV y ácido láctico (que puede ser cambiado por propiónico) y estando las papilas ruminales modificadas en su estructura histopatológica por acción de los Paramphistómidos, son incapaces de absorber adecuadamente los AGV, modificando la flora y fauna ruminal que proliferan las bacterias gram (+) ocasionando aumento de ácido láctico, produciendo una acidosis subaguda o subclínica, provocando en la sangre un cambio de sus componentes con aumentando por encima de las cifras normales del

piruvato, lactato y glucosa, produciendo una acidosis metabólica (Blando y Ávila, 2013; Andresen, 2009; Nagaaja y Lechtenberg, 2007). Con ausencia o disminución de cuerpos cetónicos (Soler, 2000).

Los valores obtenidos de glucosa en vacas positivas alimentadas con forraje más concentrado, son mayores a los recomendado por Hincapie (2012); Campos et al. (2004), Razz y Clavero (2004) y Giraldo, et al (2009); esto puede ser debido a lo manifestado por Church, (1993) donde indican que los gérmenes amilolíticos a nivel ruminal compiten por los carbohidratos solubles y por los productos de la hidrólisis del almidón y de la hemicelulosa, especialmente con un pH más bajo y producen mayores cantidades de propionato y ácido láctico, siendo estos inversamente proporcional al ácido acético. (Church, 1993).

Esta elevada glucosa no es aprovechada adecuadamente por el organismo, lo que se ve reflejado por la correlación inversamente proporcional de $r: -0,887(P<0,01)$ entre glucosa y peso vivo del grupo de Paramphistómidos alimentados con forraje y concentrado. Donde varios mecanismos están detrás de este síntoma. La pérdida de peso puede ocurrir como consecuencia de la hiperglucemia, deshidratación, degradación muscular y problemas con la tiroides (Sienra, 2009).

La hiperglucemia pueda se debida al estrés parasitario y metabólico, debido al incremento la noradrenalina, adrenalina y glucocorticoides que influyen sobre la producción de insulina inhibiendo la utilización de glucosa (Buestán, 2011).

4.6.2. Niveles colesterol en suero.

En el grupo de vacas negativas a Paramphistómidos (alimentados con forraje y alimentados con forraje más concentrado), los niveles de colesterol no tienen mucha

dispersión, cuyos rangos fueron de 41,70 mg/dL (132,46 a 174,16 mg/dL) y de 109,91 mg/dL (58,85 a 168,76 mg/dL), respectivamente. Los coeficientes de variación son los adecuados (Apéndices 10 y 11).

El grupo de vacas positivas a Paramphistómidos muestran una mayor dispersión sobre todo los alimentados con forraje más concentrado (45,57 a 132,07 mg/dL), donde el 75% de las vacas tienen valores de colesterol menores de 129,57 mg/dL. Teniendo un coeficiente de variación de 36 % para el grupo de vacas alimentadas con forraje más concentrado (Apéndices 12).

Las vacas positivas a Paramphistómidos alimentados con forraje en nivel de Colesterol, tienen un rango de 78 mg/dL (Mínimo 57,93 y un máximo de 135,93 mg/dL), con un coeficiente de variación del 33% (Apéndices 12). Demostrando que las vacas Positivas a Paramphistómidos tienen menor nivel de Colesterol que el grupo de vacas negativas.

Se puede observar que los niveles promedios de colesterol 114,69 mg/dl son valores menores a lo manifestado por Campos et al (2004), Ceballos (2002) y Giraldo, et al (2009) esto debido a los valores bajos de colesterol registrados en las vacas positivas a Paramphistómidos ($94,30 \pm 35$ y $96,25 \pm 31,5$ mg/dL) ocasionan una deficiente absorción de los AGV, sobre todo del ácido acético, a nivel de la mucosa ruminal originando un déficit energético (Aguilar, 2013). Lo que es respaldado por lo manifestado por Sierra (2009), quien indica que la acidosis de tipo subagudo o subclínico se relacionan con alteraciones de la capacidad de absorción del epitelio ruminal (hiperqueratosis del rumen). Cuyo síntoma precoz es el déficit de producción de ácido acético por alteración de la flora celulolítica (Church, 1993). Que es un precursor para la formación de Acetil – CoA para la síntesis de colesterol (Aranda, et

al., 2002; Relling y Mattioli, 2003; Osorio y Vinazco, 2010). En estas circunstancias el pH cae a valores de 5,2 a 5,6 (Sierra, 2009 y Granja, 2010), donde la reacción de síntesis de colesterol estaría limitada en la transformación del 3 hidroxil 3 metil glutaril CoA a mevolato, debido a que la reacción que es catalizada por la enzima HMGA-reductasa que necesita de un pH óptimo de 7.

4.6.3. Niveles de triglicéridos en suero.

Se observa en el grupo de vacas negativas y positivas a Paramphistómidos que consumen forraje y forraje más concentrado, que en los niveles de triglicéridos no existen diferencia significativa ($P>0,05$), por lo que se analiza en forma general, indicando que existe normalidad en la distribución, con un rango de 28 mg/dL (Mínimo 15 mg/dL- Máximo de 43 mg/dL). Con un coeficiente de variación ligeramente elevada del 24% (Apéndice 14).

Las concentraciones de triglicéridos están dentro del intervalo considerado como normal por Pogliani y Biel (2007), quienes consideran valores entre 16,3 y 34,8 mg/dL., demostrando que la concentración promedio de los triglicéridos ($24,04\pm 6$ mg/dL), de las vacas en producción del fundo San Vicente- Baños del Inca, cuya producción de leche vaca día en promedio es de $9,23\pm 1,85$ litros, no sufren déficit energético en su alimentación (Duque, et al., 2011; Aguilar, 2013; Osorio y Vinazco, 2010; Hincapie, 2012), esto también es respaldado, por las existencia de los promedios de las ganancias de peso y a los incrementos de las condiciones corporales de las vacas registradas en los diferentes grupos (tanto positivas como negativas a Paramphistómidos – Tabla 4).

4.6.4. Niveles de urea en suero.

El grupo de vacas negativas y positivas a Paramphistómidos que consumen forraje y forraje más concentrado, en los niveles de urea no existe diferencia significativa ($P>0,05$), por lo que se analiza en forma general, indicando que existe normalidad en la distribución, con un rango de 9,76 mg/dL (Mínimo 16 mg/dL- Máximo de 25,75 mg/dL). Con un coeficiente de variación dentro de lo ideal del 14% (Apéndice 14).

Existiendo una correlación inversamente proporcional de triglicéridos con urea en el grupo de concentrados y forraje en vacas positivas alimentados con forraje más concentrado ($r: -0,754; P<0,05$).

Los valores obtenidos de urea (mg/dl) fueron similares ($P>0,05$) en los cuatro grupos de vacas no existen diferencia significativa, registrando un promedio de $19,59\pm 2,56$ mg/dL, valores son menores a los registrados por Sánchez (1999) y Quíntela et al (2011), Castello, et al (2014), esto puede ser debido al tipo de dieta que utilizaron así como la raza ya que ellos utilizaron una raza productora de carne para su trabajo, concluyendo que existe deficiencia de proteína en la dieta en los cuatro grupos experimentales.

Mediante los resultados obtenidos, permite caracterizar las vías metabólicas del grupo de vacas infectadas con Paramphistómidos, lo que han permitido obtener una idea del metabolismo de la ración consumida, ya que el estado del colesterol y glucosa han sido afectados en el que se ve reflejado en el desequilibrio en el ingreso, egreso y biotransformación de los ingredientes de la ración consumida de los animales.

CAPITULO V

CONCLUSIONES

5.1. CONCLUSIONES.

De acuerdo a los objetivos y resultados obtenidos se concluye que:

- El Paramphistómido produce alteraciones histopatológicas a nivel ruminal, evidenciando degeneración hidrópica, con necrosis multifocal con infiltración transepitelial de neutrófilos degenerados y edema con evidencia de cambios adaptativos.
- La relación entre el número de Paramphistómidos adultos con el número de huevos por gramo por heces fue muy alta ($r: 0,971$, $P<0,01$), cuyo modelo de regresión lineal fue: $NPA = 60,381HPG - 22,979$; $P<0,01$; $R^2:0,939$, determinando que al incremento de un huevo por gramo de heces, al análisis coproparasitológico, el número de Paramphistómidos adultos en el rumen y retículo se incrementa en 60.
- Los menores incrementos de peso y condición corporal se registraron en el grupo de vacas positivas a Paramphistómidos alimentadas con forraje y concentrado.
- En los perfiles metabólicos, los valores de glucosa (mg/dL) fueron elevados en el grupo de vacas positivas a Paramphistómidos alimentadas con forraje y concentrado ($P<0,05$). Los valores de colesterol (mg/dL) fueron menores en los grupos de vacas positivas a paramphistómidos ($P<0,05$).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Aguilar, C., 2013. Perfil metabólico energético del ganado lechero.. *Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Agropecuarias Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia.*, p. 91.
- Alarcón, E. y Velásquez, L., 2009. Descripción y morfología de Cotilophoron (Digenia: Paramphistomidae) Hallados en bovinos de Rionegro. Antioquia. *Revista colombiana de Ciencias Pecuarias 2009.*, 22(2), pp. 168-177.
- Albarracín, C., 2003. *Producción de ceba de bovinos en estabulación.* Primera ed. Bogotá - Colombia: Productos Editoriales y Audiovisuales.
- Alomar, D., Tadich, N., Jimenez, V. y Gallo, C., 1997. Efecto de un programa básico de salud ovina sobre la producción de lana en rebaños pequeños de la provincia de Valdivia.. *Facultad Ciencias Agrarias Facultad Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Casila 567, Valdivia - Chile*, 29(2), pp. 295-299 ISSN 0301-732X.
- Andresen, H., 2009. *Acidosis ruminal -Laminisis y pederá.* Consultado en abril del 2015 Available at: handresen.perulactea.com/manual-de-ganaderia-lechera/.
- Angus, D., 1978. *Helminología Veterinaria.* Primera ed. México: El Manual Moderno S.A. de C.V..
- Aranda, M., Brave, N. y Casagrande, R., 2002. Colesterol en bovinos. *Sitio Argentino de Producción Animal*, p. 6.
- Arévalo, J., 2006. *Comparación de las concentraciones de abamectina en hígado, bilis y plasma entre ovinos parasitados y no parasitados.* Primera ed. Concepción - Chile: Universidad de Concepción - Facultad de Medicina Veterinaria. Departamento de Ciencias Clínicas.
- Arias, J. y Nesti de Alonso, A., 1997. Importancia de los niveles de nitrógeno ureico en leche y sangre en el ganado lechero. *Revista Facultad de Agronomía (LUZ)*, Issue 16, pp. 553-561.
- Astete - Espinoza, L. P. y Cáceres , M. C., 2000. Efecto del parasitismo del isópodo bopírido *Ionella ogassizi* (Isopoda: Epicaridea) (Bornnier, 1990) sobre la fisiología nutricional del nape *Neotrypaea uncinata*. *Revista chilena de Historia Natural*, Volumen 73, pp. 243 - 252.
- Ayala, A., 2016. *Tejido Conectivo o Conjuntivo.* Consultado el 19 de junio 2016. Available at: <http://www.monografias.com/trabajos82/tejido-conectivo-o-conjuntivo/tejido-conectivo-o-conjuntivo.shtml> de Google.
- Babera, G., 2000. Perfiles metabólicos. Suplementación mineral del bovino al pastoreo y referencias a engorde en corral. *Sistema Orgánicos*, Volumen Edic. del autor, Río Cuarto,, pp. 128-129.
- Bach, A., 2002. Trastornos ruminales en el vacuno lechero: un enfoque práctico. Artículo Rumiantes. *Archivo Portal Veterinaria albéitar Informativo Veterinario Fuente: XVIII Curso De Especialización FEDNA, Barcelona - España.*
- Barreto, L. d. E., 2005. *Nutrición y Alimentación Animal: Digestión, absorción y metabolismo de los carbohidratos en monogástricos y rumiantes.* Bogotá - Colombia: Facultad de Ciencias Agrarias.

- Barriga, O., 2002. *Enfermedades parasitarias de los animales domésticos de la América Latina*. 2da ed. Santiago de Chile: Santiago - Germinal.
- Blando, G. y Ávila, G., 2013. Acidosis ruminal y sus consecuencias. *Departamento de Producción Animal - FCVZ - UNAM*. www.fmvz.unam.mx/fmvz/departamentos/rumiantes/.../BtRgClig013.pdf, p. 6.
- Bondi, J., 2008. Aparato Digestivo. *Fellow del American College of Gastroenterology. Miembro de la Sociedad Argentina de Gastroenterología Buenos Aires - Argentina*.
- Borchert, A., 1976. *Parasitología Veterinaria*.. 3era Edición ed. s.l.:ACRIBIA .
- Bradford, P., 2010. *Medicina Interna de Grandes Animales*. Buenos Aires - Argentina: ELSEVIER MOSBI CE.
- Briones, B., 2015. *Relación de Calicohoron microbothiroides adulto en su carga parasitaria y capacidad reproductiva en vacunos beneficiados en el Camal Municipal de Cajamarca*. Universidad Nacional de Cajamarca- Facultad de Ciencias Veterinarias.: Tesis Para Optar el Título de Médico Veterinario 52p.
- Brotowidjoyo, M. and Coperman, O., 1979. Abattoir surbey of bovine paramphistomosis in the Norte Queenslan.. *Aust Vet.J*, pp. 55, 402.
- Buestán, C., 2011. *Fisiología del estrés y sus efectos sobre la reproducción de la hembra bovina*, Cuenca - Ecuador: Monografía de grado. Universidad de Cuenca. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 77pp.
- Cabra, A. y Herrera, H., 2007. Estudio de prevalencia de la Fasciola hepatica Y Caracol Lymnaea spp. en predios del Municipio de Simijaca Cundimarca. *Universidad de la Salle. Facultad de Medicina Veterinaria - Bogotá, D.C.*, Volumen Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de Médico Veterinario, pp. 27-31.
- Calsamiglia, S. y Ferret, A., 2002. Fisiología ruminal relacionada con la patología digestiva : acidosis y meteorismo. *XVIII curso de Especializacion del FEDNA*, pp. 97-114.
- Campos, G., Cubillos, C. y Rodas, A., 2007. *Indicadores metabólicos en razas lecheras especializadas en condiciones tropicales en Colombia*. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia; AA 237. Palmira, Valle del Cauca, Colombia. : s.n.
- Campos, R., Carreño, E. y González, F., 2004. Perfil metabólico de vacas nativas colombianas. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 8(2), pp. 32 - 41.
- Cancino, L., 2005. *Efecto del parasitismo gastrointestinal suclínico sobre ganancias de peso y la concentración de metabolitos sanguíneos en corderos mellizos*.. Valdivia- Chile: Título de Médico Veterinario- Pag. 46.
- Cardona, L., Stahringer, R. C. y Caracostantógol, C. S., 1999. Efecto del parasitismo gastrointestinal de los ovinos en crecimiento en el Este del Chaco, Argentina. Variación estacional de la infección parasitaria. *INTA Estación Experimental Colonia Benites*, XVI(153), pp. 175-185.
- Castello, V. C.; Haydt, E; Ezequiel, B; Jane, M; Vey da Silva, D; D´Aurea, P; De Olivera, F; Patiño Pardo, R, 2014. Glicerina cruda en la dieta de bovinos: efecto

- sobre los parámetros bioquímicos séricos. *Rev. Colombiana cienc. Animal*, 6(1), pp. 86-102.
- Ceballos, A.; Villa, N; Bohórquez, A; Quiceno, J; Jaramillo, M; Giraldo, G, 2002. Análisis de los resultados de perfiles metabólicos en lecherías del trópico alto del eje cafetero colombiano. *Revista Colombiana de Ciencia Pecuaria*, 15(1), pp. 26-35.
- Church, D., 1993. *El rumiante fisiología digestiva y nutrición*. Zaragoza - España: ACRIBIA, S. A..
- Ciappesoni, C., 2001. Digestión y absorción en rumiantes (particularidades de las cabras).. *Fermentación y Absorción de Nutrientes*.
- Contreras, P. G. C. y Valenzuela, G., 1993. Determinación de urea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. *Archivos en Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias- Universidad Austral de Chile*, XXV(2), pp. 165 - 173.
- Cordero, D. C. M. y otros, 1999. *Parasitología Veterinaria*.. 1era ed. España: Mc Graw-Hill Interamericana.
- Cruz- Reyes, A. y Camargo-Camargo, B., 2001. *Glosario de términos en parasitología y ciencias afines*. Primera Edición ed. México: Plaza y Valdés, S.A. de C.V..
- Cruz, C., 2003. *Enfermedades gastrointestinales producidas por los trematodes en bovinos* www.fmvz.unam.mx/fmvz/.../bovinotecnia/BtRgCliG004.pdf. Consultado en abril, 2015.
- Cunningham, J. G., 1995. *Fisiología Veterinaria*. Primera ed. México: Interamericana. McGraw-Hill.
- Díaz, P., 2009. *Rutas Metabólicas*.. Consultado en diciembre 2015. Available at: <http://es.slideshare.net/atavizon/rutas-metabolicas>.
- Dirksen, G., Dieter, M. y Stober, 2005. *Medicina interna y cirugía del bovino*.. Intermedica. ed. Argentina: 4ta edición. Argentina:..
- Drugreri, L. y Modern, D., 2002. *Parasitología Veterinaria. ZOE - Tecno - Campo. Buenos Aires - Argentina. Parte I*, p. 3.
- Dube, S., Onyedineke, N. y Aisien, M., 2013. Ceylonocotyle, Bothriophoron, and Colicophoron species Parasitic in some Nigerian Cattle. *Advances in Bioresarch. Asv. Biores.*, Vol4 (2), pp. 38- 43.
- Dunn, A., 1978. *Enfermedades Parasitarias de los Bovinos*. 3era ed. s.l.:Manual Moderno.
- Duque, Q., Olivera, M. y Rosero, N., 2011. Metabolismo energético en vacas durante la lactancia temprana y el efecto de la suplementación con grasa protegida. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 24(1).
- Entrocasso, C., 1988. Alteraciones fisiológicas de la gastroenteritis verminosas y sus consecuencias en la producción de carne.. *Estación Experimental Agropecuaria Balcerce Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria*., 10(3-4), p. 02.
- Eskildsen, E., 2013. Generalidades de los Trematodos. *Apuntes guía parasitología*, Volumen 12, p. 14.
- Espinoza, O., 2015. *Alteraciones histopatológicas del tejido ruminal de vacunos causado por Paramphistómidos beneficiados en el Camal Municipal de Cajamarca*.

- Cajamarca, Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de - cajamarca: Trsis para optar el título de Médico Veterinario. p. 58.
- Fidalgo, L., 2015. *Enfermedades Metabólicas del ganado vacuno lechero II Evaluación. Consultado mayo, 2015. <http://164.73.28.51/drupal-6.16/sites/default/files/Enfermedades%20Metab%C3%B3licas%20II%20-%20Dr.%20Fidalgo.pdf>*.
- Fiore, M. D., 1997. *Atla de histología normal*. Septima Edición ed. Buenos Aires: "El Ateneo" Pedro Garcia S.A..
- Flores, M. y Rodríguez, V., 2013. *Nutrición Animal. Tema 22. Degradación ruminal y digestión de los rumiantes. ULPGC Universidad las Palmas Gran Canaria. <http://www.webs.ulpgc.es/nutranim/index.html>. Consultado en Noviembre 2015.*
- Frasinelli, C., Casagrande, H. y Veneciano, J., 2004. La condición corporal como herramienta de manejo en rodeos de cría bovina. *INTA Estación Experimental Agropecuaria San Luis- Información Técnica*, ISSN 0327-425X(168), p. 17 p.
- Fuertes, F., 2015. Bovine Paramphistomosis by *Calicophoron daubneyi* in the Northwest of Castilla and León: a study of the epidemiological, pathological and local immune response. *Memoria presentada para optar el grado de doctor en Veterinaria por la Universidad de León - España*, p. 183.
- García, A. y Hippen, A., 2012. *Básicos Lecheros: Alimentación de vacas lecheras para condición corporal. Consultado 23 de junio 2016. Available at: http://web.altagenetics.com/peru/DairyBasics/Details/3086_Alimentacion-de-las-vacas-lecheras-para-condicion-corporal.html*.
- Gille, U., 2006. *Corte histológico de una papila ruminal de ovejas. Consultado en diciembre 2015. Available at: <https://es.wikipedia.org/wiki/Rumiante>*.
- Giraldo, L. F., Loaiza, A. M., Botero, S. Á. y Uribe-Velásquez, L. F., 2009. Parámetros metabólicos séricos y condición corporal durante el pre y posparto en vacas Brahman. *Rev. Cient. (Maracaibo)*, 19(4), pp. 350-355.
- Gonzalez, A., 2012. *Epietelio escamozo estratificado no queratinizado y queratinizado: es.slideshare.net/AlanGlezSoriano/epitelio-escamoso-estratificado. Consultado: 2015]*.
- Gonzalez, V., 2010. Uso de la condición corporal como herramienta de manejo en rebaños lecheros. p. 7.
- Granados, M. E., 2009. *Sistema metabólico de los rumiantes: Metabolismo ruminal*. Bogotá Colombia: Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente.
- Granja, S., 2012. Acidosis ruminal en bovinos lecheros: implicaciones sobre la producción y salud animal. *REVET. Sitio Argentino de Producción Animal*, 13(4), p. 10.
- Grigera, J. y Bargo, F., 2005. *Evaluación del estado corporal de las vacas lecheras. Consultado en enero 2016. http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/cria_condicion_corporal/45-cc_lecheras.pdf*.
- Herd, T., 2000. Variability Characteristics and Test Selection in Herd Level Nutritional and Metabolic Profile Testing.. *Veterinary Clin North America: Food Animal Practice*. 2000: , pp. 16 (2): 387-403..

- Hess, H. ; Lascano, C.E.; Baquero, L.A.; Becerra, A; Ramos, A., 1999. Fuentes de variación en la composición de la leche y niveles de urea en sangre y leche en vacas en sistemas de doble propósito en el trópico bajo de Colombia.. *Pasturas tropicales.*, p. 10.
- Hincapie, J., 2012. Perfiles Metabólicos. *Curso de Graduación de Buitría.*
- Huamán, O., 2011. Prevalencia de Paramphistomosis bovina en la zona de Tartar del Valle de Cajamarca.. *Tesis de Médico Veterinario . Universidad Nacional de Cajamarca - Perú*, p. 33.
- Jimeno, V., Garcia Rebollar, P. y Majana, M., 2004. Acidosis ruminal y patologías asociadas en rumiantes. *Ganadería - Departamento de producción animal UPM*, pp. 80-85.
- Junquera, P., 2015. *Parásitos del Ganado.- Paramphitomum spp en el ganado bovino, ovino y caprino.Consultado en mayo 2016.* Available at: http://parasitipedia.net/index.php?option=com_content&view=article&id=193&Itemid=281 .
- Kassai, T., 2002. *Hilmintología Veterinaria*. Primera ed. Zaragoza - España: ACRIBIA S.A..
- King, M., 2015. *Metabolismo del Nitrógeno y ciclo de la Urea*. Consultado en diciembre 2015. Available at: themedicalbiochemistrypage.org/es/nitrogen-metabolism-sp.php.
- Lapage, G., 1986. *Parasitología Veterinaria*. 9na ed. Argentina: C.E.C.S.A..
- Laplace, J., 1968. Surles phenomenes macaniques et electriques du tractus digestif chez le mouton.. *Laboratorio de physiologie – Pharcodynamie de INS A Lyon, France.*, p. 200.
- Lasa, M., 2011. www.portalesmedicos.com/diccionario_medico/index.../Histopatologia. [En línea].
- López, F. J., 2006. Relación entre la condición corporal y eficiencia reproductiva en vacas Holstein. *Facultad de Ciencias Agropecuarias. Programa Agrozootecnia Universidad del Cauca.*, 4(1), pp. 77-86.
- López, L., Romero, J. y Velásque, L., 2008. Aislamiento de Paramphistomidae en vacas de leche y en el hospedador intermediario (*Lymnaea truncatula* y *Lymnaea columella*) en una granja del trópico alto en el occidente de Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias - Universidad de Atioquia*, Issue 21, pp. 9 -18.
- Márquez, L., 2013. *Resistencia a los antihelmínticos, origen, desarrollo y control.* www.engormix.com › Ganaderia › Artículos técnicos › Sanidad. Consultado el 05 de marzo 2015.
- Medline Plus, 2016. *Enciclopedia Médica*. Consultado el 05 de marzo 2016. Available at: <https://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/>.
- Meline, A., 2013. *Uso de 3 dosis de infusión de pasto gordura (Melinis minutiflora) por vía oral , como nematicida gastrointestinal en pequeños rumiantes.* Guatemala: Título de Médico Veterinario, Universidad de San Carlos de Guatemala , Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,mpag. 82.
- Mercado, R., 2012. *Uniones intercelulares*. Consultado el 25 de marzo 2016. Available at: <http://rodneymercado2011.blogspot.pe/2012/04/uniones-intercelulares.html>.,

- Molina, M., Vásquez, C. y Ruíz, G., 1991. Metabolismo del colesterol, su regulación a nivel hepático e intestinal. *Consejo Superior de Investigaciones Científicas Licencia Creative Commons 3.0 España (by-nc)*, 42(Fasc. 4), pp. 298-308.
- Montalvo, A. C., 2010. *Biología celular e histología médica*. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina. Departamento de Biología Celular y Tisular: 17 pp.
- Mosquera, L., 2008. *Bovino tipo leche y tipo carne. Condición corporal bovinos. Consultado abril 2016*. Available at: condicioncorporalbovinos.blogspot.com.
- Nagaeaja, T. y Lechtenberg, K. F., 2007. Acidosis en el ganado bovino en corral de engorda. *Departamento de diagnóstico en medicina/pato biología, Colegio de Medicina Veterinaria*, 004(002), pp. 720 -749.
- Nava, C. C. y Díaz, C. A., 2001. *Introducción a la digestión ruminal. Consultado 2016* Available at: http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/enlinea/Ruminal/digest_ruminal.htm.
- Novoa, C. y Díaz, C., 2001. Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos.. *Sitio argentino de Producción Animal, Departamento de Nutrición Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM*, pp. 1 - 13.
- Oblitas, I., 2011. Prevalencia de Paramphistomosis bovina en la zona Norte del Valle de Cajamarca.. *Tesis. Médico Veterinario- Universidad Nacional de Cajamarca - Perú*, p. 63.
- Ojeda-Robertos, N. F., Medina- Reynes, A., Graduza-Arias, G. y Rangel-Ruiz, L. J., 2014. Dinámica de excreción de huevos de Fasciola hepática y Paramphistomum spp en ganado bovino de Tabasco. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 1(1), pp. 73-80.
- Ortiz, P.; Cabrera, M; J, López; Lenis, C; Velasquez, L., 2010. Calicophoron microbothrioides: un agente causal de la paramphistomosis en Cajamarca, Perú. XXII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias, Lima.. p. 22.
- Osorio, J. H. y Vinazco, J., 2010. El metabolismo lipídico bovino y su relación con la dieta, condición corporal, estado productivo y patologías asociadas.. *Biosalud ISSN 1657 - 9550*, 9(2), pp. 56 - 66.
- Pacheco, L., 2001. *Bioquímica estructural y aplicada a la medicina*. 381 p ed. s.l.:Instituto Politécnico Nacional.
- Pauca, S. S., 2008. Prevalencia de Paramphistomosis en ganado lechero en tres distritos de Oxapampa. *Tesis Médico Veterinario. Universidad Nacional Mayor de San Marcos - Lima- Perú*, p. 53.
- Paz, S., 2007. Paranfistomosis bovina: Enfermedad emergente en el área mediterránea.. *Departamento de Patología Animal, Facultad de Veterinaria de Lugo Universidad de Santiago de Compostela (España)*, pp. 1-5.
- Pechin, P., 1999. *Metabolismo ruminal de los hidratos de carbono y los lípidos*. www.biblioteca.unlpam.edu.ar/pubpd/anuavet/n1999a28pechin.pdf. Consultado el 2015.
- Pinedo, R.; Chávez, E; Casas, E; Suarez, F; Sánchez, N; Huamán, H, 2010. Prevalencia de Tramátodes de la familia Paramphistomatidae en bovinos del distrito de

- Yurimaguas, provincia del Alto Amazonas. Loreto. *Rev. investig. vet. Perú*, 21(2), pp. 161-167.
- Pinedo, V., 2011. Paramfistomosis Bovina: Parasitosis Emergente en el Perú. *Siirivs. Sistema de Revisiones en investigación Veterinaria de San Marcos*, Volumen Revisión Bibliográfica, pp. 1-12.
- Piña, F. D. X., 2013. Paramphistomosis bovina. *Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela de Medicina Veterinaria*, p. pp 62.
- Pizano, K. y Torres, H., 2011. *Clasificación de los Parásitos: Phylum Platyhelminthes. Zoología de los Invertebrados.. Consultado marzo 2015.* Available at: www.slideshare.net/karina2260/phyllum-platelmintes.
- Plasencia, O., 2011. Prevalencia de Paramphistomosis bovina en la zona de Huacaríz del valle de Cajamarca. *Tesis Médico Veterinario. Universidad Nacional de Cajamarca - Perú*, p. 34.
- Plus, M., 2012. Temas de Salud, Medicinas y Suplementos. *Enciclopedia Médica*.
- Polto, J., 2014. *Epidemiología de las trematodosis bovinas en la región de Salto (Uruguay)*. Universidad de Lisboa, Facultad de Medicina Veterinaria 126 p: Tesis Doctoral.
- Portocarrero, L., 2009. Eficacia del Rafoxanide en el tratamiento del Paramphistomun sp en vacunos de la campiña de Cajamarca. *Tesis Medico Veterinario. Universidad Nacional de Cajamarca - Perú*, p. 48.
- Quintela, L; Becerra, JJ; Rey, C; Díaz, C; Cainzos, J; Rivas, F; Huanca, W; Prieto, A; Herradón, PG, 2011. Perfiles metabólicos en pre parto, parto y postparto en vacas de raza rubia gallega: estudio preliminar. *Recursos ruraris IBARDER: Instituto de Biodiversidade Agraria y Desenvolvento Rural*, Volumen 7, pp. 5 -14.
- Quiroz, R. H., 2005. *Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos..* 876 p ed. México: Editorial LIMUSA.
- Radostis, O. G. G., Blood, D. y Hincheliff, K., 2002. *Medicina Veterinaria*. 9na ed. Madrid - España: Hill NEMMG : Mc Graw - Hill.
- Ramirez-Perez, A. y Buntinx, D. E., 2015. *Metabolismo de los carbohidratos y proteínas. Consultado el 05 diciembre.* Available at: http://amaltea.fmvt.unam.mx/textos/alimenta/MET_CHO_LIP_PRO2.pdf .
- Ramos, C., 2008. Fisiología del Rumen. *Fisiología Animal*, pp. 1 - 48.
- Rangel, R., Gamboa, A. y Alvorez, B., 2003. Variación estacional de Paramphistomun cervi en la región sierra en el estado de Tabasco - México. *Universidad Autónoma de Tabasco*, p. 1.
- Rasco, M. y Ortíz, P., 2007. Prevalencia de paramphistomum sp en ganado vacuno lechero de Cajamarca. *Universidad Nacional de Cajamarca - Perú*.
- Razz, R. y Clavero, T., 2004. Niveles de urea, fósforo, glucosa e insulina de vacas, en ordeño suplementadas con concentrado en un sistema de Panicum maximum y Leucaena leucocephala. *Revista Científica , FCV-Luz*, XIV(4), pp. 365-369.
- Relling, A. y Mattioli, G., 2003. *Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes..* Ediciones 2002 - 2003 ed. Argentina: Argentina.

- Ríos, C., Marín, M. P., Catafau, M. y Wittwer, F., 2006. *Concentraciones sanguíneas de β -hidroxibutirato, NEFA, colesterol y urea en cabras lecheras de tres rebaños con sistemas intensivos de producción y su relación con el balance nutricional*. Archivos de medicina veterinaria, 38(1), 19 - 23: s.n.
- Rodríguez, A., Grande, G., Perusia, O. P. C. y Maiztegui, J., 1995. *Trastornos metabólicos en los animales domésticos*.. 2da ed. s.l.:Círculo de Medicina Veterinaria.
- Rodríguez, C., 2011. *Expresión y caracterización de una peroxidasa recombinante de nabo (*Brassica napus*) en un sistema bacteriano*. Querétaro. Tesis para obtener el doctorado en Ciencias de los Alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Química- México: p 175.
- Rodríguez, I., Pérez, CC; España, F; Dorado, J; Hidalgo, M; Sanz, J, 2004. Niveles químicos y plasmáticos en vacas repetidoras tras I.A.. *Arch. Zootec.*, Volumen 53, pp. 59-68.
- Rodríguez, J. y Chaverri, L., 2012. *Curso de anatomía y fisiología animal: Consultado el 05 de marzo 2015*. Available at: <http://www.campusvirtual.unt.edu.ar/course/view.php?id=436>.
- Rodríguez, L., 2013. La paramfitomiasis y su tratamiento.. *Sistema de Revisiones en Investigación Veterinaria de San Marcos, Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Medicina Veterinaria.*, pp. 1- 9.
- Rojas, J., Torrel, S. y Raico, M., 2013. Método de Sedimentación Natural. *Técnica y protocolo usado en el Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca. Aprobado en Congreso 2013 ALPA. La Habana - Cuba*.
- Ruíz, L. Coy, F; Gadea, M; Matas, P; Romar, A; García, V., 2009. Fisiología Animal.. *Tema 6 Digestión de los rumiantes Departamento de Fisiología Universidad de Murcia Murcia España*..
- Saborio-Montero, A. y Sánchez, J., 2014. Evaluación de la condición corporal en un hato de vacas Jersey en pastoreo en la zona alta de Cártago, variaciones del ciclo reproductivo. *Agronomía Costarricense* , 38(1), pp. 55-56.
- Salazar, A., Navarro, C. J. y Pallarés, M., 2013. *Citología e Histología Veterinaria*. [En línea] Available at: <http://ocw.um.es/cc.-de-la-salud/citologia-e-histologia-veterinaria/programa> [Último acceso: 2015].
- Sanabria, R., 2006. Paramphistomosis en los ovinos. *Revista informática Argentina*, pp. 362: 56 - 62.
- Sanabria, R., 2012. Parasitismo gastrointestinal y pulmonar de rumiantes. *CEDIVE Parasitismo gastrointestinal y Sanidad de Rumiantes CEDIVE Facultad*, p. 11.
- Sanabria, R., 2013. *Trematodes de los rumiantes domésticos*. Cursos de enfermedades de los rumiantes y cerdps - clínica y Sanidad de Rumiantes: - CEDIVE- Facultad de Cs. Veterinarias. sanabriaref@cedivechascomus.com.ar.
- Sánchez, J., 1999. *Concentración de urea sérica en bovinos lecheros de once establos de la campiña de Cajamarca*., Cajamarca p 63: Tesis para optar el Título de Médico Veterinario- Facultad de Medicina Veterinaria Universidad Nacional de Cajamarca.

- Saowakon, N.; Naruwan; Lorsuwannarat, Natcha; Changklungmoa, Narin; Wanichanon, Chaitip; Sobhon, Prasert, 2013. Paramphistomum cervi: The in vitro effect of plumbagin on motility, survival and tegument structure. *EL SEVIER-Experimental Parasitology*, 133(journal homepage: www.elsevier.com/locate/yexpr), pp. 179 - 186.
- Sienra, R., 2009. Acidosis en bovinos. *Sitio Argentino de Producción Animal*, pp. 1 - 6.
- Sisson, S., 1974. *Anatomía de los Animales domésticos*. La Habana Cuba: : Revolucionaria Inst. Cubano.
- Smith, H. A. y Jones, T. C., 1980. *Patología Veterinaria*. Primera Edición en Español ed. México: UNION TPOGRAFICA EDITORIAL. HISPANO AMERICANA S.A. de C.V..
- Soler, M., 2000. Scidosis Láctica. *Revista Cubana de Medicina*, 39(2), pp. 115-9.
- Soulsby, E., 1992. *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos*. 7ª ed. México ed. Soulsby E. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7ª ed. México.: Nueva Editorial Interamericana/McGraw-Hill. 823 p p..
- Suárez, V., Oleachea, F., Rossanigo, C. y Romero, J., 2006. Enfermedades parasitarias de los ovinos y otros rumiantes menores en el cono sur de América.. *Enfermedades Parasitarias INTA*. .
- Torrel, T., 2009. Caracterización clínica patológica de Paramphistomosis bovina en Cajamarca: Sensibilidad y especificidad al análisis coproparasitológico, comparado a la necropsia y respuesta al control con Closantel. *Cajamarca: Universidad Nacional de Cajamarca*.
- Torrel, T. y Paz, S. A., 2015. *Paramphistomosis en Bovinos y Ovinos en Cajamarca*. Primera Edición ed. Cajamarca: Universidad Nacional de Cajamarca.
- Torrel, T. Rojas, J; Vera, J; Huamán z, O; Plasencia, O; Oblitas, I; Rodríguez, J., 2012. Prevalencia de Paramfistomidosis en bovinos del valle de Cajamarca, Perú.. *XX Congreso Nacional de Ciencias Veterinarias, Piura, Perú.*, pp. 10-15.
- Torrel, T. Rojas, J; Vera, Y; HUamán, O; Plasencia, O; Oblitas, I, 2011. *Prevalencia conjunta de paramfistomosis y fasciolosis en bovino lechero del valle de Cajamarca. Consultado el 05 de marzo 2016*. Available at: <http://mrojas.perulactea.com/>.
- Torres, G. y Sosa, T., 2002. *Aparato digestivo En: Estrada E, Uribe M (ed) Atlas de histología de vertebrados .. México: primera edición Coordinación de servicios editoriales, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México D F, Mexico*..
- Triviño, P., 2010. Evaluación de dos sistemas de alimentación en el desarrollo ruminal y la respuesta productiva de terneros criados artificialmente.. *Valdivia - Chile.*, p. 44.
- Underwood, E. y Suttle, N., 1999. Mineral nutrition of livestock.. *CAB International, Edinburgh, UK*. , p. 456.
- Urquhart, G. G; Arnour, J; Duncan, J; Dunn, A; Jennings, F., 2001. *Parasitología Veterinaria*. .. España: SEEASAZ-

- Vale, E., Muñoz, A. y Urdenata, G., 2000. Sarcosporidiosis y trematodiasis en un bovino.. *Estudio clínico y anatomopatológico de un caso Revista Científica FCV - LUZ*, pp. :3:167-74..
- Vásquez, Y. y Gonzalez, R., 2006. La alimentación y la composición de la leche en aexplotaciones gallegas. *Pastos*, 2(XXXVI), pp. 217-240.
- Vega, R., 2008. Inmunología del médico general: iNFLAMACIÓN. *Rev. Fac. Med. UNAM*, 51(5), pp. 220-222.
- Velástegui, L. J. y Guerra, J. D. I. M., 2012. *Prevalencia de parasitosis por Paramphistomon spp, en ganado bovino del Cantón el Chaco. - Provincia el Napo. Quito Ecuador: Trabajo de Tesis. pp 115*
- Vera, Y., 2011. Prevalencia de Paramphidtomodid Bovina en la Zona de Tres Molinos del Valle de Cajamarca. *Tesis Médico Veterinario - Universidad Nacional de Cajamarca - Perú*, p. 26.
- Villar, C., 2009. Efectos del parasitismo sobre la producción bovina.. *Artículos Técnicos de Ganadería de Carne Villavicencio - Colombia..*
- Wattiaux, M. A., 1998. Metabolismo de los lipidos en vacas lecheras. En: *Nutrición y Alimentación. Wisconsin- Madison: s.n., pp. 13-16.*
- Zavaleta de Lucio, E., 2013. Los ácidos grasos volátiles, fuentes de energía de los rumiantes. *Departamento de Nutrición y Bioquímica. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootécnia.*

APÉNDICES

Apéndice 1: Análisis de regresión lineal entre HPG con NPA del rumen y retículo de 22 bovinos. Camal Municipal de Cajamarca.

Para determinar el incremento de parásitos adultos por cada incremento de un huevo por gramo de heces.

Resumen del modelo

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación	Durbin-Watson
0,971	0,942	0,940	1191,844	1,806

La variable independiente es huevos por gramo.

ANOVA

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	4,652E8	1	4,652E8	327,474	0,000
Residual	28409841,27	20	1420492.064		
Total	4,936E8	21			

La variable independiente es huevos por gramo.

Coeficientes

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta		
HPG	60,381	3,337	0,971	18,096	0,000
(Constante)	-22,979	408,273		-0,056	0,956

Apéndice 2: Promedio de la producción de leche (Litros) de 26 vacas en lactación. Fundo San Vicente -Baños del Inca.

Grupo	N°	Media ± DS
Negativos a Paramphistómidos alimentados con forraje	5	8,2±1,5 a
Negativos a Paramphistómidos alimentados con forraje más concentrado	5	9,7±1,6 a
Positivos a Paramphistómidos alimentados con forraje más concentrado	8	9,9±1,4 a
Positivos a Paramphistómidos alimentados con forraje	8	8,9±2,5 a
Total	26	9,23±1,85

Letras Similares en una misma columna indican similitud ($P>0,05$); DS. Desvío estándar.

Apéndice 3: Análisis de varianza completamente al azar de la producción de leche entre los grupos de las vacas. Fundo San Vicente- Baños del Inca

F de V	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	Sig
Modelo	3	10,4216346	3,47387821	1,02	0,4015
Error	22	74,69375	3,39517045		
Total	25	85.1153846			

Coefficiente de variación: 19%.

Apéndice 4: Análisis de varianza de GPD entre grupos vacas en lactación. Fundo San Vicente- Baños del Inca.

F de V	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	Sig.
Modelo	3	2,25844404	0,75281468	11,1	0,0001
Error	22	1,4918175	0,06780989		
Total	25	3,750			

Coefficiente de variación: 51%.

Apéndice 5: Análisis de varianza de inicio de la CC de los grupos de vacas en lactación. Fundo San Vicente-Baños del Inca.

F de V	GL	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	3	0,69893404	0,23297801	2,63	0,0756
Error	22	1,9495275	0,08861489		
Total	25	2,64846154			

Coefficiente de variación: 12,4%

Apéndice 6: Análisis de varianza al final de la CC de los grupos de vacas en lactación. Fundo San Vicente- Baños del Inca.

F de V	GL	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	3	0,37700962	0,12566987	4,62	0,0118
Error	22	0,598375	0,02719886		
Total	25	0,97538462			

Coefficiente de variación: 6,39%

Apéndice 7: Prueba de normalidad de Shapiro – Wilk, para HPG y NPA estimados de las 16 vacas en lactación positivas a Paramphistómidos. Fundo San Vicente- Baños del Inca

	Resultado por grupo	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
HPG	Con Paramphistómidos: Con forraje y concentrado	0,683	8	0,003
	Con Paramphistómidos: Con forraje	0,847	8	0,107
NPA estimados en el Rumen y Retículo	Con Paramphistómidos: Con forraje y concentrado	0,707	8	0,003
	Con Paramphistómidos: Con forraje	0,855	8	0,107

No existe normalidad en las variables tanto para HPG como para el número de parásitos estimados.

Apéndice 8: Estadística descriptiva de HPG y NPA de 16 vacas en lactación positivas a Paramphistómidos. Fundo San Vicente –Baños del Inca

Resultado por Grupo		Paramphistomun HPG	N° de Parásitos Estimados en el Rumen y Retículo
Con Paramphistomidos: con forraje y concentrado	N° Válidos	8	8
	Media	21,75	1290,25
	Mediana	8,00	460,00
	Moda	2,00	98,00
	Desv. típ.	29,80	1799,08
	Varianza	887,93	3236688,21
	Rango	88,00	5313,00
	Mínimo	2,00	98,00
	Máximo	90,00	5411,00
Con Paramphistomidos: con forraje	N° Válidos	8	8
	Media	35,00	2090,50
	Mediana	22,50	1336,00
	Moda	10,00	581,00
	Desv. típ.	25,15	1518,45
	Varianza	632,57	2305699,71
	Rango	67,00	4045,00
	Mínimo	10,00	581,00
	Máximo	77,00	4626,00

Apéndice 9: Pruebas no paramétricas de Mann- Whitney para HPG y número de Paramphistómidos, de las 16 vacas en lactación positivas a Paramphistómidos. Fundo San Vicente – Baños del Inca.

Resultado por grupo		N	Rango promedio
HPG	Con Paramphistómidos: Con forraje y concentrado	8	6,75
	Con Paramphistómidos: Con forraje	8	10,25
	Total	16	
NPA estimados en el Rumen y Retículo	Con Paramphistómidos: Con forraje y concentrado	8	6,75
	Con Paramphistómidos: Con forraje	8	10,25
	Total	16	

Estadísticos de contraste ^b

	Paramphistomun HPG	NPA estimados en el rumen retículo
U de Mann-Whitney	18,000	18,000
W de Wilcoxon	54,000	54,000
Z	-1,470	-1,470
Sig. asintót. (bilateral)	0,141	0,141
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	0,161 ^a	0,161 ^a

a. No corregidos para los empates.

b. Variable de agrupación: Resultado por Grupo

Apéndice 10: Estadística descriptiva del colesterol y glucosa del grupo de vacas en lactación negativas a Paramphistómidos alimentado con forraje. Fundo San Vicente - Baños del Inca.

Resultado por Grupo		Colesterol mg/dl	Glucosa mg/dl
Media		155,3980	69,4880
Mediana		155,2400	65,7700
Moda		132,46	63,24
Rango		41,70	19,31
Mínimo		132,46	63,24
Máximo		174,16	82,55
Percentiles	25	63,6150	63,43
	50	65,7700	64,88
	75	77,2200	70,36
	CV %	10	11

Apéndice 11: Estadística descriptiva del colesterol y glucosa del grupo de vacas en lactación negativas a Paramphistómidos alimentado con forraje más concentrado. Fundo San Vicente – Baños del Inca.

Resultado por Grupo		Colesterol mg/dl	Glucosa mg/dl
Media		136,7360	74,7980
Mediana		157,5500	77,3300
Moda		58,85	58,56
Rango		109,91	27,65
Mínimo		58,85	58,56
Máximo		168,76	86,21
Percentiles	25	66,3050	62,43
	50	77,3300	75,69
	75	82,0250	77,71
	CV%	33	14

Apéndice 12: Estadística descriptiva del colesterol y glucosa del grupo de vacas en lactación positivas a Paramphistómidos alimentado con forraje más concentrado. Fundo San Vicente – Baños del Inca.

Resultado por Grupo		Colesterol mg/dl	Glucosa mg/dl
Media		94,2950	86,1013
Mediana		97,5250	85,2150
Moda		45,57	72,88
Rango		86,50	33,33
Mínimo		45,57	72,88
Máximo		132,07	106,21
Percentiles	25	61,47	78,49
	50	97,52	85,24
	75	129,57	91,32
	CV%	36	12

Apéndice 13: Estadística descriptiva del colesterol y glucosa del grupo de vacas en lactación positivas a Paramphistómidos alimentado con forraje. Fundo San Vicente – Baños del Inca.

Resultado por Grupo		Colesterol mg/dl	Glucosa mg/dl
Media		96,2538	76,6863
Mediana		87,2750	76,9900
Moda		57,93	67,99
Rango		78,00	18,67
Mínimo		57,93	67,99
Máximo		135,93	86,66
Percentiles	25	65,1700	70,7200
	50	87,2750	76,9900
	75	131,5850	81,2100
	CV%	33	8

Apéndice 14: Estadística descriptiva de la urea y triglicéridos del grupo de vacas en lactación negativas y positivas a Paramphistómidos alimentado con forraje y forraje más concentrado. Fundo San Vicente – Baños del Inca.

	Triglicéridos mg/dl	Urea mg/dl
Media	24,46	19,59
Mediana	24,00	19,29
Moda	23,00	18,26
Desv. típ.	5,787	2,56
Varianza	33,138	6,575
Rango	28,00	9,76
Mínimo	15,00	16,00
Máximo	43,00	25,75
Percentiles		
25	21,75	17,61
50	24,00	19,28
75	26,50	20,36
CV%	24	14%

Apéndice 15: Análisis de varianza de los niveles de glucosa entre grupos de vacas en lactación. Fundo San Vicente– Baños del Inca.

F de V	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	Sig.
Modelo	3	951,683	317,227667	4,19	0,0173
Error	22	1666,33644	75,742565		
Total	25	2618,019			

Coefficiente de variación: 11%

Apéndice 16: Análisis de varianza de los niveles de colesterol entre grupos de vacas en lactación. Fundo San Vicente– Baños del Inca.

F de V	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	Sig.
Modelo	3	16762,2732	5587,4244	5,01	0,0085
Error	22	24514,9078	1114,31399		
Total	25	41277,171			

Coefficiente de variación: 29%

Apéndice 17: Análisis de varianza de los niveles de triglicéridos entre grupos de vacas en lactación. Fundo San Vicente – Baños del Inca.

F de V	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	Sig.
Modelo	3	20,9115385	6,9705128	0,19	0,9021
Error	22	807,55	36,7068182		
Total	25	828,462			

Coefficiente de variación: 25%

Apéndice 18: Análisis de varianza de los niveles de urea entre grupos de vacas en lactación. Fundo San Vicente- Baños del Inca

F de V	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	Sig.
Modelo	3	1,5530571	0,5176857	0,07	0,9754
Error	22	162,818978	7,4008626		
Total	25	164,372			

Coefficiente de variación: 13%

Apéndice 19: Prueba de Shapiro – Wilk para ver la normalidad de glucosa, colesterol, triglicéridos y urea. Fundo San Vicente – Baños del Inca.

Resultado por grupo		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	Gl.	Sig.
Glucosa mg/dl	Sin Paramphistómidos: Forraje	0,837	5	0,158
	Sin Paramphistómidos: Forraje y concentrado	0,907	5	0,453
	Con Paramphistómidos: Con forraje y concentrado	0,949	8	0,697
	Con Paramphistómidos: Con forraje	0,959	8	0,801

Resultado por grupo		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	Gl.	Sig.
Colesterol mg/dl	Sin Paramphistómidos: Forraje	0,980	5	0,933
	Sin Paramphistómidos: Forraje y concentrado	0,771	5	0,046
	Con Paramphistómidos: Con forraje y concentrado	0,891	8	0,241
	Con Paramphistómidos: Con forraje	0,876	8	0,172

Resultado por Grupo		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	Gl.	Sig.
Triglicéridos mg/dl	Sin Paramphistómidos: Forraje	0,957	5	0,787
	Sin Paramphistómidos: Forraje y concentrado	0,980	5	0,937
	Con Paramphistómidos: Con forraje y concentrado	0,917	8	0,405
	Con Paramphistómidos: Con forraje	0,831	8	0,060

Resultado por Grupo		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	Gl.	Sig.
Urea mg/dl	Sin Paramphistómidos: Forraje	0,850	5	0,195
	Sin Paramphistómidos: Forraje y concentrado	0,926	5	0,567
	Con Paramphistómidos: Con forraje y concentrado	0,971	8	0,905
	Con Paramphistómidos: Con forraje	0,918	8	0,416

Apéndice 20: Método de inclusión en parafina.

- **Toma de muestra:** aproximadamente 1 cm³ de tejido ruminal.
- **Fijación.** Fijada las muestras en bloques de tejido ruminal en solución de formaldehído bufferado al 10%, se los lavó en agua corriente por 5 a 10 minutos, para eliminar el exceso del fijador.
- **Deshidratación.** Las muestras fueron sometidas a concentraciones crecientes de alcohol etílico en soluciones de 80° a 95° de alcohol absoluto hasta la deshidratación total.
- **Aclaramiento.** Efecto de aclaramiento de las muestras con xileno en 3 baños en vasos Coplin.
- **Impregnación.** Terminado el proceso de aclaramiento por 3 horas, las muestras fueron colocadas en soluciones de concentración creciente de parafina. Debiendo mantenerse durante todo el proceso (6 horas) a temperatura de derretimiento (60°C).
- **Inclusión.** De las muestras de bloques de parafina diluida, se obtuvieron tacos de parafina que contenían las muestras correspondientes. Se las dejó enfriar al aire libre por 24 horas, para permitir un proceso satisfactorio, luego permanecieron por 72 horas en refrigeración.
- **Microtomía.** Obteniendo el endurecimiento y enfriamiento de los tacos de parafina, se los montaron en el micrótopo de rotación, para obtener rebanadas de tejido de 5 – 8 micras de grosor. Estos cortes se extendieron en Baño María (37-40°C), que previamente contiene gelatina adhesiva. Se recupera el corte con una lámina portaobjetos, se las dejó secar al aire libre hasta el momento de

colorearlas. Se tomaron un total de 2 a 3 cortes por muestra, analizando la mejor lámina.

- **Coloración.** Una vez seca la muestra, se llevó a cabo la coloración con Hematoxilina-Eosina.
- **Montaje.** Finamente, se realizó el montaje, adicionando una gota de bálsamo de Canadá, como pegamento, se colocó una lámina cubreobjetos, evitando con presión la formación de burbujas de aire.

Apéndice 21: Determinación de HPG por el método de sedimentación natural cuantificada en base a 1 gramo de heces (Rojas, et al., 2013).

- En un vaso de plástico de 400 mL de capacidad, se pesó 1 g de heces, luego se agregó aproximadamente 200 mL de agua de caño, homogenizando la muestra con un agitador eléctrico (batidora eléctrica) por aproximadamente 10 segundos.
- Se pasó por un embudo con malla metálica de 80 hilos por pulgada hacia otro vaso de vidrio de forma cónica de 250 mL de capacidad, se agregó más agua de caño hasta llenar a 1 cm del borde del vaso. Dejando reposar por 5 minutos.
- Se decantó el sobrenadante dejando aproximadamente 15 mL de sedimento en el vaso. Luego se colocó 3 gotas de lugol fuerte y se esperó 5 minutos para colorear los huevos.
- Se vacía el sedimento a una placa petri rayada y observar al estereoscopio a 16 aumentos.

Apéndice 22: Método para el conteo de Paramphistómidos adultos del rumen y retículo

- **Examen para obtener el rumen y retículo.**

En el momento de la evisceración, de los bovinos positivos a paramphistomun, se obtuvo el rumen y retículo; identificado con un arete de plástico ubicado en la serosa ruminal, el número será el mismo que se registró al obtener la muestra de heces.

- **Obtención del contenido ruminal y reticular.**

En el momento de la evacuación, el contenido fue recolectado en unas bolsas plásticas, para tamizado con una malla de plástico con abertura tamiz de ½ cm y agua en abundancia para el conteo de parásitos adultos que se encuentran libres.

- **Revisión de la mucosa.**

Se realizó la revisión de la mucosa ruminal y reticular para contar los parásitos adheridos a la mucosa, utilizando el método de observación directa.

Apéndice 23: Forma de medir la CC por el método de Grigera y Bargo (2005)

- Estos autores basan la explotación de los animales únicamente a la inspección visual y fijan puntuaciones extremas de la CC de 1 a 5, pero incorporando fracciones intermedias de 0,25 puntos. Donde 1 corresponde a un animal caquéctico y 5 a un animal obeso (Grigera y Bargo, 2005).
- Para la determinación de la CC deben evaluarse zonas anatómicas específicas del área pélvica y lumbar como las costillas cortas, el ligamento sacro, el hueso de la cadera, los ligamentos de la fosa y los isquiones. Los puntos de referencia

para la determinación de la CC se muestran en la siguiente figura (Grigera y Bargo, 2005):

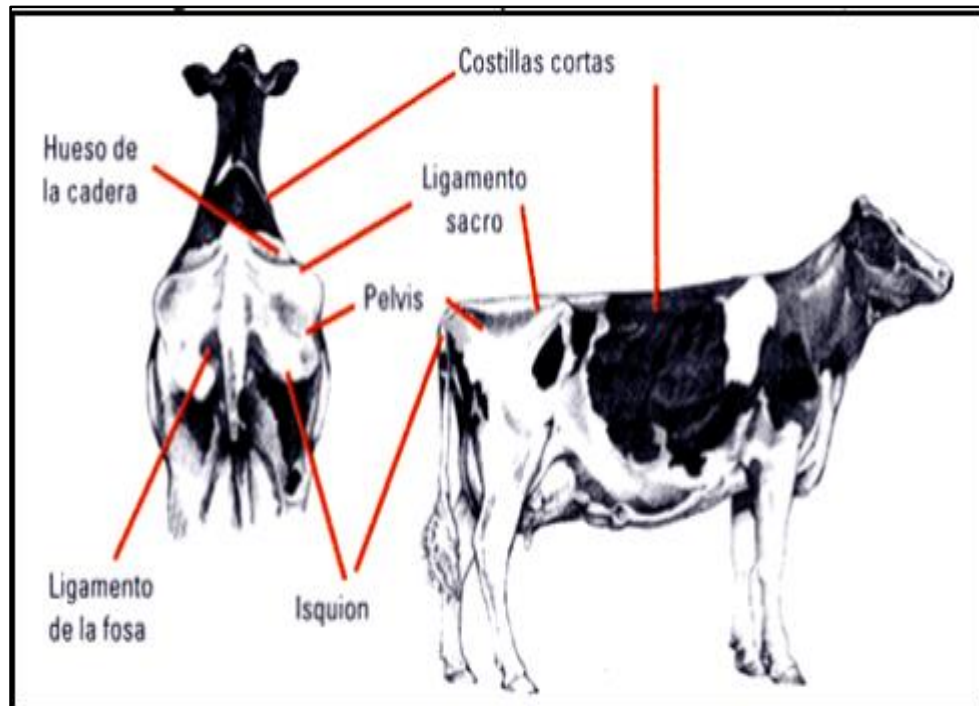


Figura 21: Puntos anatómicos para determinar la CC.
Fuente: Grigera y Bargo (2005).

- El primer paso en la determinación de la CC es la observación lateral de la línea imaginaria que une el hueso de la cadera al isquion. Si el área está descubierta de grasa subcutánea la parte superior del fémur es visible y la línea proyectada tiene forma de V, entonces la CC es $\leq 3,0$. Si por el contrario una mayor deposición de grasa subcutánea oculta la parte superior del fémur, la línea proyectada tiene forma de U y la CC es $\geq 3,25$.
- Este paso generalmente es el más difícil en el proceso de calificación, sobre todo si la vaca se encuentra entre una calificación de 3,0 y 3,25. Si hay dudas en cuanto a si se trata de una V o una U, se recomienda seguir con el paso siguiente.

- Si la vista lateral toma la forma de V y el hueso de la cadera visto angular y la desde atrás se observa redondeado la CC es 3,0.
- Si el hueso de la cadera es angular y la parte posterior del isquion está parcialmente cubierta por la grasa subcutánea la CC es 2,75.
- Si el ala del íleon y la parte posterior del isquion son angulares pero se palpa grasa subcutánea en la parte posterior del isquion, la CC es 2,50.
- Si la mitad de las costillas cortas son visibles la CC es 2,25.
- Si los dos tercios de las costillas cortas son visibles, entonces la CC es 2,0.
- Si el ligamento sacro es parcialmente visible y los ligamentos a ambos lados de la cola no son visible la CC es 3,75.
- Si ambos ligamentos no son visible y la vista lateral del área pélvica proyecta una línea recta entre el hueso de la cadera y el isquion la condición corporal es $\geq 4,25$.
- Si la parte posterior del isquion se encuentra sumergida en grasa subcutánea la CC es 4,50.
- Si el hueso de la cadera no es visible la CC es 4,75.
- Si ningún accidente óseo es visible la CC es 5,0.

Nota: Si bien esta metodología permite clasificar fácilmente a la mayoría de los animales, pueden presentarse dudas entre operarios (Ej: 2,0 ó 2,25; 3,50 ó 3,75). Estas diferencias de cuarto punto no son significativas sobre todo cuando es la misma persona la encargada de realizar estimaciones sucesivas.

Apéndice 24: Determinación de la GPD en vacas.

Para medir el peso se utiliza la cinta métrica pesadora, que es similar a un metro de costura que reemplaza la distancia por metros, libras o kilogramos. Se coloca al animal detrás de las patas delanteras rodeando al tórax, se puede conocer de manera muy cercana el peso aproximado que arrojaría una báscula.

Apéndice 25: Determinación de los PM.

Para estimar los valores de glucosa, colesterol, triglicéridos y urea se utilizó las muestras de suero sanguíneo, conservados a -20°C.

- Los materiales utilizados fueron suero sanguíneo, tubo de tapa roja, reactivos, cubetas, micro pipetas, centrífuga, espectrofotómetro, reloj.
- El procedimiento general para determinar glucosa, colesterol y triglicéridos se realizó por separado por cada ítem y es como sigue:
- Se rotularon los tubos de ensayo: R: Blanco; S: Estándar D. Muestra de suero.
- Luego se pipeteó en tubos marcados como: blanco, estándar y muestras, los reactivos indicados en las siguientes tablas. Se incluyó tantos tubos de muestras como se consideró conveniente. Se añadió en último lugar el reactivo (para glucosa, colesterol y triglicéridos) para comenzar la reacción.

Apéndice 26: Técnica preparación de soluciones para glucosa, colesterol y triglicéridos.

		Blanco	Calibrador o estándar	Nuestra de estudio
Muestra de suero	(ml)	----	----	0,01
Calibrador o estándar	(ml)	----	0,01	----
Reactivo de trabajo*	(ml)	1,00	1,00	1,00

✓ Se mezcló e incubó 15 minutos a temperatura ambiente.

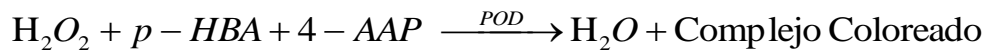
- Se ajustó el espectrofotómetro a cero de absorbancia (DO) a la longitud de onda de 500nm y utilizando el tubo blanco (intensidad de luz a una longitud de onda específica).
- Luego se leyó la absorbancia del estándar (abstd) y la muestra (absm) contra el blanco de reactivo en el espectro fotómetro.

Apéndice 27: Determinación de la glucosa.

- **Fundamento del método.**

La glucosa reacciona con el reactivo enzimático que contiene una mezcla de las enzimas Glucosa Oxidasa (GOD) y Peroxidasa (POD). En la primera etapa la Glucosa es oxidada a Ácido Glucónico por la acción de la enzima GOD, liberándose como producto H_2O_2 , el cual en una reacción mediada por la enzima POD, reacciona con el Ac. P-Hidroxibenzoico y 4- Aminoantipirina produciéndose un compuesto coloreado con un máximo de absorción a 505 nm., en cantidad proporcional a la cantidad de Glucosa presente en la muestra.

* El reactivo de trabajo puede ser. Reactivo para glucosa, colesterol y triglicéridos



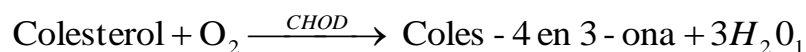
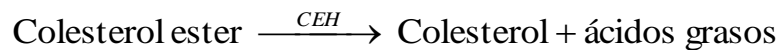
- **Cálculos.**

$\text{FACTOR} = \frac{\text{Concentración calibrador}}{\text{Abs, Calibrador}}$
$\text{Glucosa (mg/dL)} = \text{Factor} \times \text{Abs. Muestra}$

Apéndice 28: Determinación del colesterol.

- **Fundamento del método**

El colesterol se determina por acción de las enzimas colesterol éster hidrolasa y colesterol oxidasa. La primera libera el colesterol de los ésteres de colesterol, y la segunda oxida el colesterol libre produciéndose peróxido de hidrógeno, el cual en presencia de la enzima peroxidasa reacciona con el sistema cromogénico dando origen a un compuesto coloreado que absorbe a 505 nm.



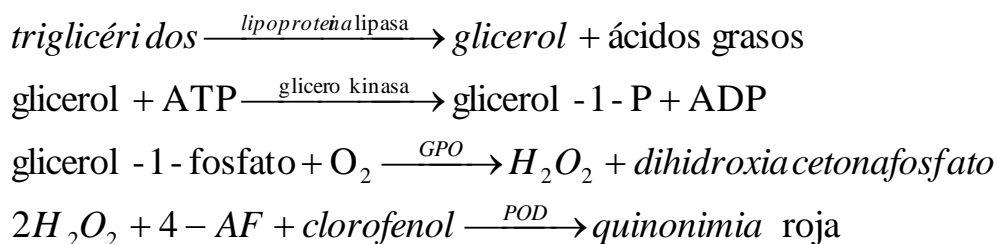
- **Cálculos.**

$\text{FACTOR} = \frac{\text{Concentración calibrador}}{\text{Abs, Calibrador}}$
$\text{Colesterol Total (mg/dL)} = \text{Factor} \times \text{Abs. Muestra}$

Apéndice 29: Determinación de triglicéridos.

- **Fundamento del método.**

El fundamento de la técnica se basa en los triglicéridos son hidrolizados por una lipasa específica liberando ácidos grasos y glicerol. El glicerol es fosforilado por la enzima gliceroquinasa y posteriormente, el glicerol-1-fosfato es oxidado a dihidroxiacetona fosfato por la enzima glicerol-fosfato oxidasa, generándose peróxido de hidrógeno. Posteriormente, en una reacción del tipo Trinder, el peróxido de hidrógeno reacciona con 4 Aminoantipirina y el ácido 3,5-Dicloro-2-Hidroxibencensulfónico para producir por medio de la enzima peroxidasa un compuesto coloreado en cantidad proporcional a la concentración de triglicéridos presente la muestra, midiéndose la absorbancia a 520nm.



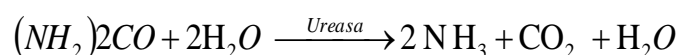
- **Cálculos.**

$\text{FACTOR} = \frac{\text{Concentración calibrador}}{\text{Abs, Calibrador}}$
$\text{Triglicéridos (mg/dL)} = \text{Factor} \times \text{Abs. Muestra}$

Apéndice 30: Determinación de urea sérica.

- **Fundamento del método.**

La urea presente en la muestra, es desdoblada a amonio por acción de la enzima ureasa, según la proposición de Faucet y Scott.



El amonio producido reacciona con salicilato e hipoclorito en ambiente alcalino, formándose un complejo de color verde. La intensidad del color producido es directamente proporcional a la cantidad de urea en la muestra, y su absorbancia se lee a 600 nm (580 – 620).

• **Procedimiento.**

- ✓ Preparar el diluyente para enzimas en un litro de agua destilada.
- ✓ En 3 tubos marcados B (Blanco), S (Estándar), D (Desconocido), colocar:

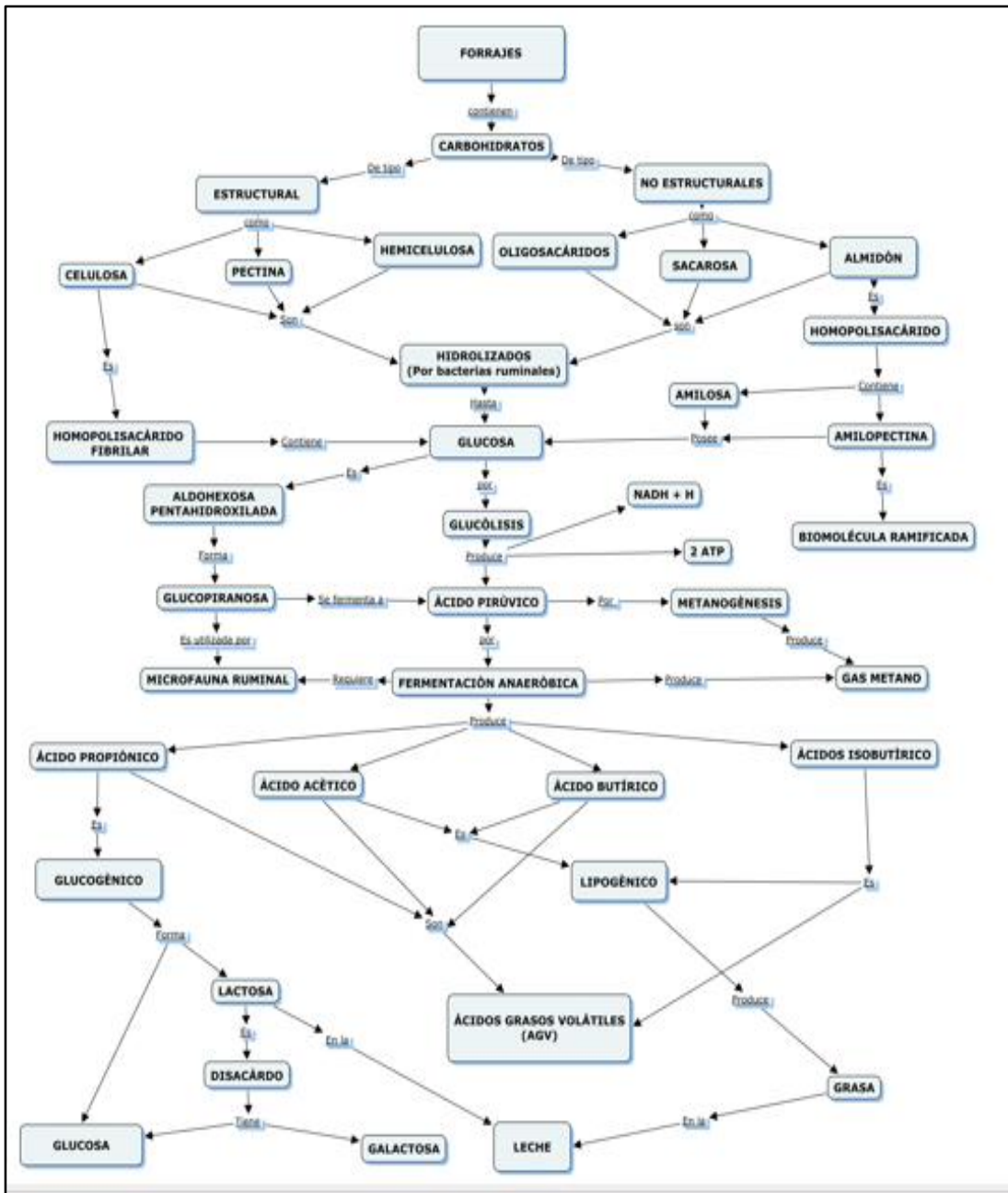
Apéndice 31: Técnica preparación de soluciones para determinar urea.

		Blanco	Calibrador o estándar	Nuestra de estudio
Muestra	(ml)	----	----	0,01
Standard	(ml)	----	0,01	----
Reactivo de trabajo	(ml)	1,00	1,00	1,00
Incubar 10 minutos a temperatura ambiente				
Reactivo Hipoclorito	(ml)	1,00	1,00	1,00
Mezclar e incubar 10 minutos a temperatura ambiente				

- ✓ Leer la densidad óptica en espectrofotómetro a 580 nm.
- ✓ Calcular el resultado.

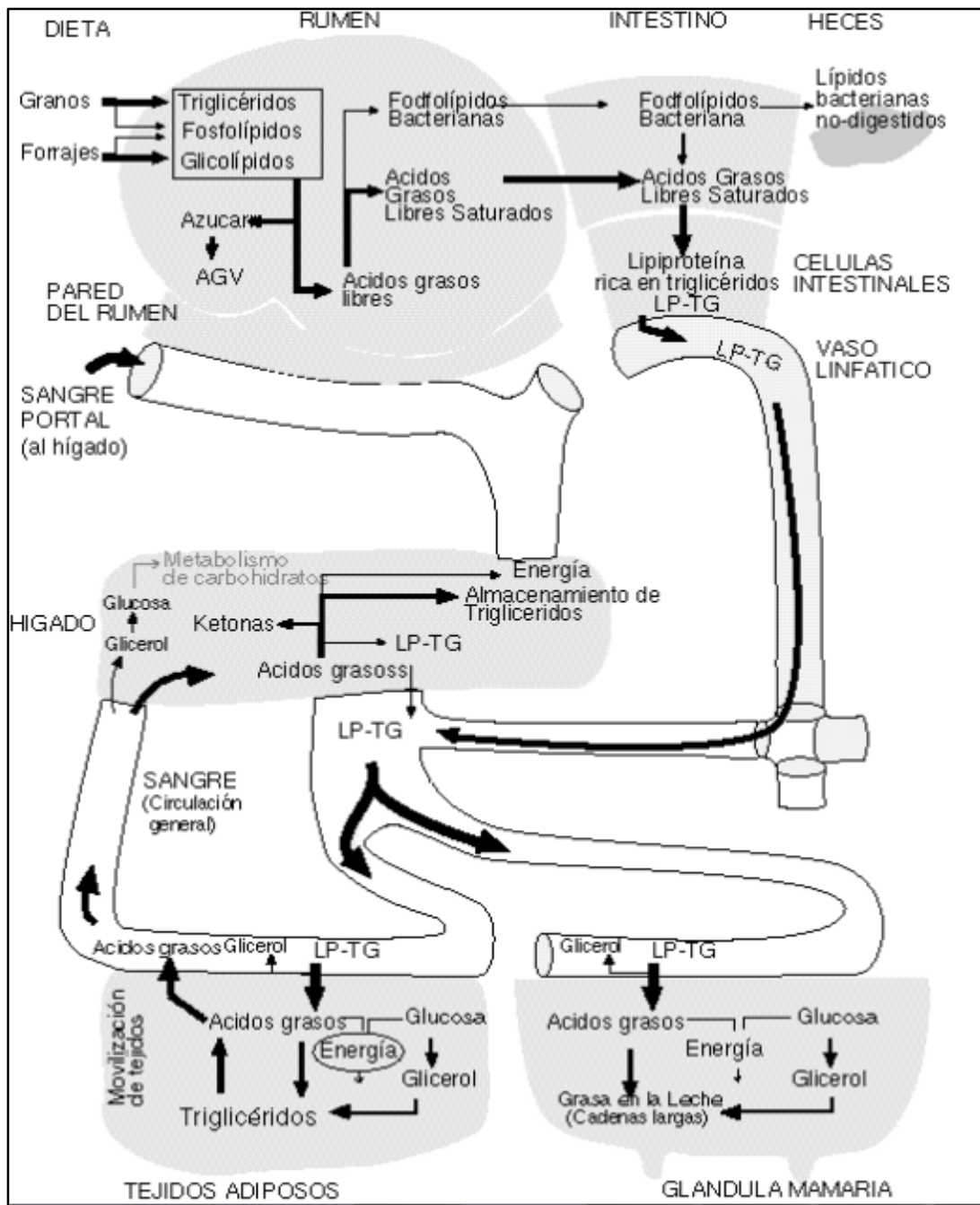
• **Cálculos**

$FACTOR = \frac{\text{Concentración calibrador}}{\text{Abs, Calibrador}}$
$\text{Urea (mg/dL)} = \text{Factor} \times \text{Abs. Muestra}$

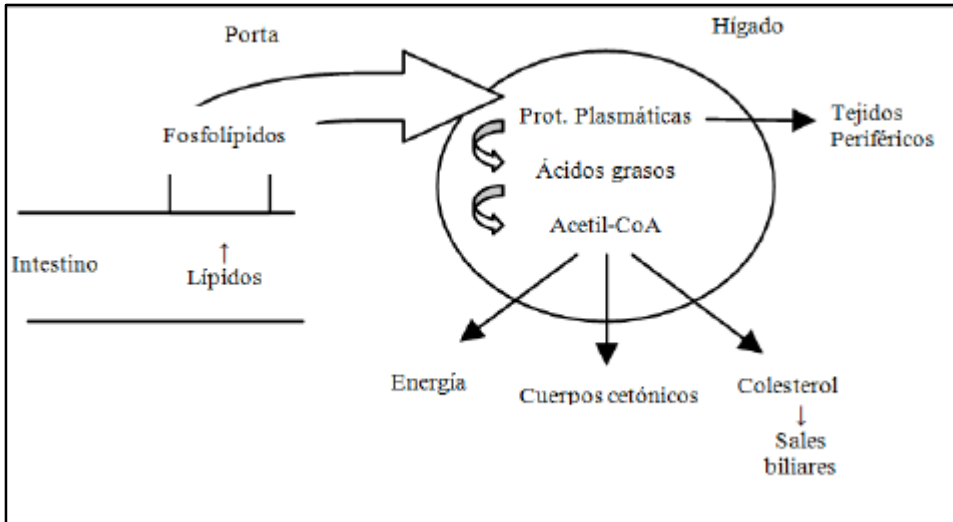


Apéndice 32: Bioquímica ruminal de los forrajes

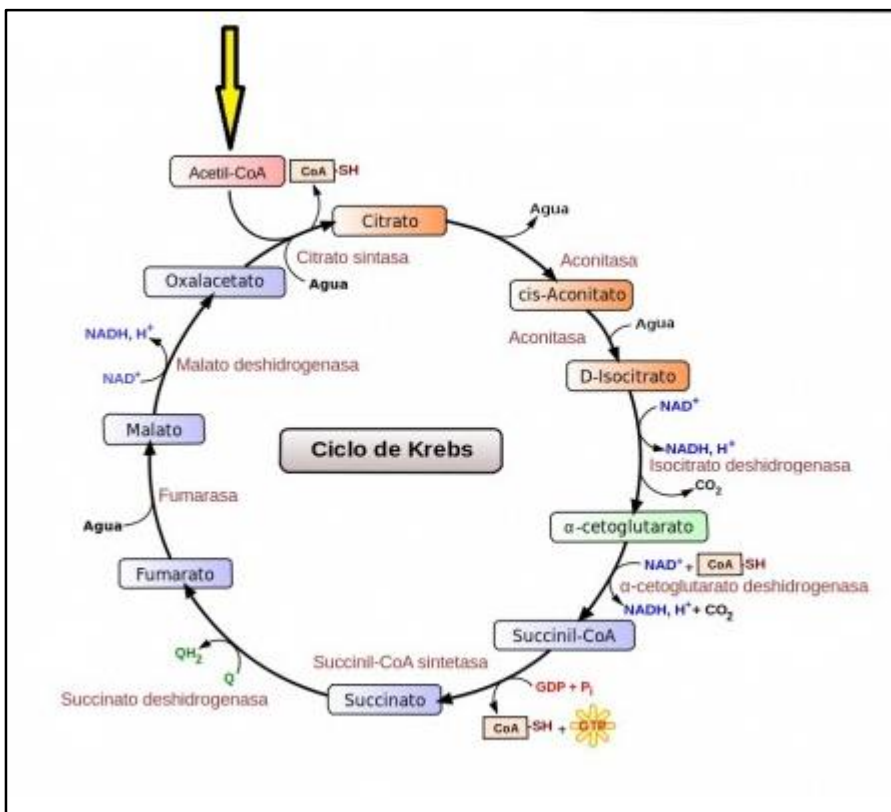
Fuente: Granados (2009).



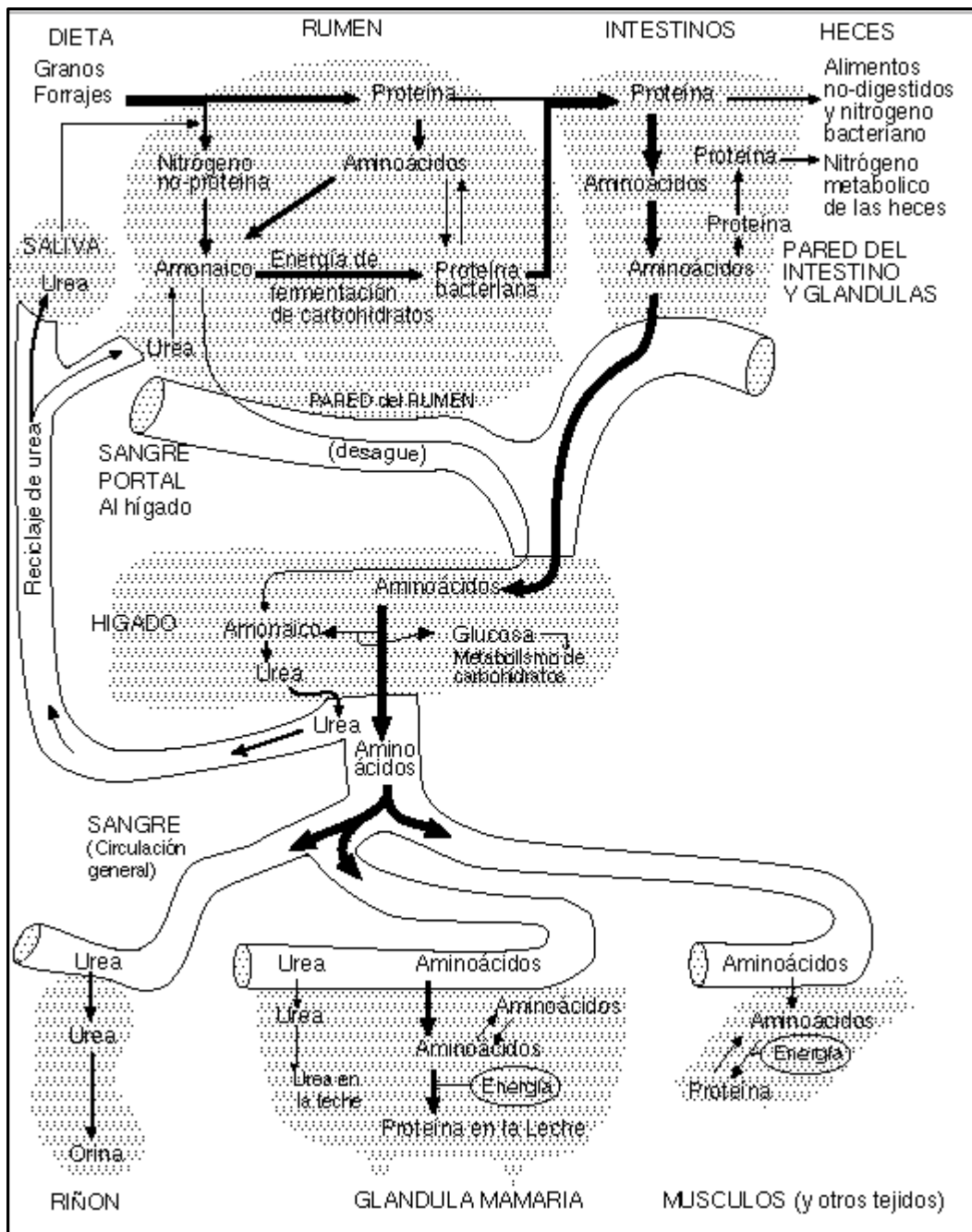
Apéndice 33: Metabolismo de los lípidos en vacas
Fuente: Wattiaux (1998).



Apéndice 34: Principales destinos de los lípidos en bovinos.
Fuente: Osorio y Vinazco (2010).



Apéndice 35: Esquema del ciclo de Krebs
Fuente: Osorio y Vinazco (2010)



Apéndice 36: Metabolismo de las proteínas en las vacas

Fuente: Wattiaux (1998).