



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



**Eficacia del Triclabendazol y Triclabendazol más Ivermectina
en el control de *Fasciola hepatica* en bovinos Holstein del
fundo Santa Rosa de Huacariz, Cajamarca, Perú**

TESIS

Para optar el Título Profesional de

MÉDICO VETERINARIO

Presentada por la Bachiller

KARIN YANET NIETO CAYOTOPA

Asesores

Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares
M.V. Roger Arístides Bueno Cabrera

CAJAMARCA - PERÚ

2018



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
NORTE DE LA UNIVERSIDAD PERUANA
Fundada Por Ley N°14015 Del 13 De Febrero De 1962
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
DECANATO

Av. Atahualpa 1050 – Ciudad Universitaria Edificio 2F – 205 Fono 076 365852



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Cajamarca, siendo las dieciséis horas y doce minutos del diecinueve de diciembre del dos mil dieciocho, se reunieron en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Veterinarias “**César Bazán Vásquez**” de la Universidad Nacional de Cajamarca, los integrantes del Jurado Calificador, designados por el Consejo de Facultad, con el objeto de evaluar la sustentación de Tesis Titulada: “**EFICACIA DE TRICLABENDAZOL Y TRICLABENDAZOL MÁS IVERMECTINA EN EL CONTROL DE *Fasciola hepática* EN BOVINOS HOLSTEIN DEL FUNDO SANTA ROSA DE HUACARIZ, CAJAMARCA, PERÚ**”, asesorada por el docente Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares, Co-Asesor M.V. Roger Aristides Bueno Cabrera y presentada por la Bachiller en Medicina Veterinaria: **KARIN JANETH NIETO CAYOTOPA**.

Acto seguido el Presidente del Jurado procedió a dar por iniciada la sustentación, y para los efectos del caso se invitó al sustentante a exponer su trabajo.

Concluida la exposición de la Tesis, los miembros del Jurado Calificador formularon las preguntas que consideraron convenientes, relacionadas con el trabajo presentado; asimismo, el Presidente invitó al público asistente a formular preguntas concernientes al tema.

Después de realizar la calificación de acuerdo a las pautas de evaluación señaladas en el Reglamento de Tesis, el Jurado Calificador acordó: **APROBAR** la sustentación de Tesis para optar el Título Profesional de **MÉDICO VETERINARIO**, con el Calificativo Final obtenido de **DIECISÉIS (16)**.

Siendo las diecisiete horas y diez minutos del mismo día, el Presidente del Jurado Calificador dio por concluido el proceso de sustentación.


Dr. ABEL MELCHOR GARCÍA BAZÁN
PRESIDENTE


Dr. JOSÉ FERNANDO CORONADO LEÓN
SECRETARIO


Dr. JUAN DE DIOS ROJAS MONCADA
VOCAL


Dr. TEÓFILO SEVERINO TORREL PAJARES
ASESOR


M.V. ROGER ARÍSTIDES BUENO CABRERA
Co-ASESOR



DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada a mi querido y amado esposo por su apoyo incondicional, a mi hija Sofía De Los Ángeles por ser la razón y motivo de todos mis días para seguir adelante, y a mi gran amigo Bolt.

A Dios, por iluminarme, bendecirme y darme las fuerzas necesarias todos los días.

A mi familia, en especial a mis abuelitos Wenceslao y Graciela, a mi padre y mi hermana Betty por su apoyo para cumplir mis sueños.

A mis tíos, en especial a mi tío Hugo, por sus consejos brindados en mi formación profesional.

A mis suegros y cuñados, por cuidar de mí y brindarme su apoyo y amor incondicional.

Al Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares, por los consejos y orientación brindados en la vida profesional, por brindarme su apoyo con la realización de esta Tesis.

KARIN



AGRADECIMIENTO

A mi asesor Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares por la amistad brindada y su apoyo incondicional para el desarrollo del presente trabajo.

Al M.V. Roger Bueno Cabrera, por su asesoramiento y apoyo incondicional durante el desarrollo de este trabajo.

Al Dr. Juan De Dios Rojas Moncada y al Dr. Abel García Bazán, por su colaboración y formación desinteresada en la ejecución del mencionado trabajo.

A toda la familia y amigos, que de una u otra manera hicieron posible ver realizados mis aspiraciones de ser profesional, en especial a mi primo Rony Nieto y amigo Raúl Rubio.

KARIN



RESUMEN

En los últimos años la eficacia de Triclabendazol ha disminuido, debido a su uso frecuente e inadecuado en la ganadería de la campiña de Cajamarca. En estudios realizados se conoce que la Ivermectina administrada conjuntamente con Triclabendazol y con la intervención de la proteína transportadora glicoproteína P, incrementa la biodisponibilidad de Triclabendazol aumentando su eficacia. El presente trabajo evaluó este efecto administrando Ivermectina vía subcutánea, y se realizó entre los meses de setiembre y noviembre del año 2016, en bovinos Holstein del fundo Santa Rosa de Huacariz, Cajamarca, se utilizaron 30 bovinos hembras de la raza Holstein. Se realizó el test de reducción de conteo de huevos (T.R.C.H) mediante el Método de Sedimentación Natural Modificado por Rojas y Torrel tomando la muestra a los 28 días pos tratamiento. Se obtuvo para Triclabendazol una eficacia del 0,76%; para Triclabendazol más Ivermectina subcutánea una eficacia de 57,84%. Se concluye que la administración de Ivermectina subcutánea incrementa la eficacia de Triclabendazol en 57,08%.

Palabras clave: bovinos, *Fasciola hepatica*, Triclabendazol, Ivermectina, glicoproteína P, eficacia, Cajamarca.



ABSTRACT

In the last years the efficacy of Triclabendazole is disminuye, due frequent use and inadequate in the dairy farmed from Cajamarca. In researches with ivermectin and Triclabendazole and the intervention of protein transportador of glicoproteina P, the biodisponibility of Triclabendazole is increased and efficacy. The present research had how objetive evaluat the efficacy of subcutaneus Ivermectin and carri out between the months of September and november of 2016, in cattle Hosltein of Fundo Santa Rosa from Huacaríz, Cajamarca. Thirty female cattle carri out the Test of Reduction Eggs (TRE) with the metod of sedimentation Natural, modiflicated by Rojas and Tiorrel. Twenty eight days post treatment. The efficacy of Triclabendazole was 0.76%, Triclabendazol more subcutaneus Ivermectin was 57.84%. The conclusión that administration of sucvutaneus ivermectin increased the efficaxcy of Triclabendazole in 57.8%.

Keywords: Bovine, *Fasciola hepatica*, Triclabendazole, Ivermectin, P glycoproteina, efficacy, Cajamarca.



ÍNDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

RESUMEN

ABSTRACT

Pág.

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	3
1.1. Objetivo General	3
1.2. Objetivos Específicos	3

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO	4
2.1. Antecedentes	4
2.2. Base teórica	6
2.2.1- Fasciolosis	6
2.2.2.-Triclabendazol	15
2.2.3.-Ivermectiva	18
2.2.4.-Glicoproteína P (gp-P)	20



CAPÍTULO III	
MATERIALES Y MÉTODOS	24
3.1. Localización del trabajo de investigación	24
3.2. Material y equipo	25
3.2.1. Material biológico	25
3.2.2. Materiales farmacológicos	25
3.2.3. Material de trabajo de campo	25
3.2.4. Material y equipo de laboratorio	26
3.3. Metodología	26
3.4. Análisis Estadístico	27
3.5. Procedimientos	28
3.5.1. Actividades que se realizaron en campo	28
3.5.2. Actividades que se realizaron en Laboratorio.....	30
CAPÍTULO IV	
RESULTADOS	31
CAPÍTULO V	
DISCUSIÓN	32
CAPÍTULO VI	
CONCLUSIONES	33
CAPÍTULO VII	
LISTA DE REFERENCIAS	34



ANEXO 39

Anexo 1. Formación de los Grupos Experimentales.

**Anexo 2. Registro de resultados de laboratorio pre y pos dosificación,
peso vivo y dosis terapéutica de cada fármaco.**

Anexo 3. Cálculo de eficacia e intervalos de confianza.

Anexo 4. Prueba de Hipótesis (Z).



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La Región Cajamarca considerada como una de las más importantes cuencas lecheras del país, acopia aproximadamente 900 000 litros día, cuenta con una población de 661 400 vacunos, con 133 500 vacas en ordeño siendo la mayor población de vacas en producción a nivel nacional (INEI, 2013).

Los fundos dedicados a la producción lechera en Cajamarca ven limitada su producción, por varios factores, entre ellos enfermedades microbianas, metabólicas y principalmente las parasitarias, debido a que en Cajamarca, como en otras zonas de la sierra del país, encuentran hospedador intermediario condiciones climatológicas favorables (temperatura, humedad presión atmosférica) para su desarrollo, ocasionando estragos en la ganadería, las que se traducen en pérdidas económicas por la baja producción de leche y carcasa, como problemas reproductivos y el enflaquecimiento progresivo (caquexia) lo que ocasiona que el animal se torne inmunodeprimido y pueda ser afectado por otros agentes patógenos ocasionando problemas de morbimortalidad (Torrel, 2008).

La Fasciolosis es una enfermedad parasitaria, cuyo agente etiológico es la *Fasciola hepatica*, su forma larvaria se localiza en el parénquima hepático y la forma adulta en conductos biliares de diferentes especies como bovinos, ovinos, caprinos, cerdos, equinos, conejos, venados, hombre y otros animales silvestres (Quiroz, 1995).



Es evidente una insuficiencia de la eficacia del Triclabendazol en la Región Cajamarca, con el consecuente incremento de la prevalencia de *Fasciola hepatica* en las unidades pecuarias. Así, en el fundo Otuzco del valle Cajamarquino, se obtuvo una eficacia de 80%, en 10 vacas. En el predio Quebrada Honda, distrito de Tumbadén, San Pablo se obtuvo el 81% de eficacia en 15 bovinos Holstein hembras de diferentes edades (Terán y Rojas, 2011).

Se ha demostrado que, la combinación del Triclabendazo más la Ivermectina influye sobre la actividad de Triclabendazo y de su metabolito principal sobre *Fasciola hepatica*, llegando a mejorarla hasta en 60%, tal como se ha comprobado en experiencias con cepas resistentes. Probablemente, este sea un camino que ayudará a ir reduciendo la prevalencia, del fenómeno de resistencia a los antiparasitarios y del Triclabendazo en particular (Mottier, 2006).



1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la eficacia del Triclabendazol y del Tielabendazol más Ivermectina suministrados por vía oral y sub cutánea, respectivamente, en el control de *Fasciola hepatica* en bovinos de la raza Holstein del fundo Santa Rosa de Huacariz.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Determinar la eficacia del Triclabendazol (oral) mediante la cuantificación del número de huevos por gramo de heces de los bovinos de leche.
- ✓ Determinar la eficacia del Triclabendazol (oral) más Ivermectina (Sub cutánea) cuantificando el número de huevos por gramo de heces de los bovinos de leche.
- ✓ Relacionar la eficacia del Triclabendazol oral y del Triclabendazol oral más Ivermectina subcutánea. mediante la cuantificación del número de huevos por gramo de heces de los bovinos de leche.



CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Un antihelmíntico es muy eficaz cuando su eficacia es superior al 98%, es eficaz cuando su eficacia esta entre 90-98%, es moderadamente eficaz o todavía un grado aceptable de eficacia cuando su eficacia esta entre 80-89% y es insuficientemente activo cuando su eficacia es menor del 80% (Kassai, 2002).

En el trabajo realizado en el fundo San Francisco de Chumbil, Provincia de San Pablo Cajamarca, en vacas Holstein se encontró una eficacia del Triclabendazol de $57,75 \pm 8,19\%$ para Triclabendazol más Ivermectina Oral, $56,64$ y para Triclabendazol más Ivermectina Sub cutánea $69,93 \pm 7,52 \%$ (Bueno y Torrel, 2016).

En el fundo Tartar de la Universidad Nacional de Cajamarca se obtuvo el $2,8 \%$ de eficacia con Triclabendazol, el estudio se realizó en 15 bovinos de diferente edad (Rojas *et al.*, 2006).

En el predio Quebrada Honda, distrito de Tumbadén, San Pablo, se obtuvo el 81% de eficacia del Triclabendazol en 15 bovinos Holstein hembras de diferente edad (Rojas *et al.*, 2006).

En el predio Santa Elvira de la Sociedad Agrícola de Interés Social (SAIS) José Carlos Mariátegui, se obtuvo 77% de eficacia, del Triclabendazol en 15 bovinos Holstein hembras, entre 13 a 31 meses de edad (Palomino y Rojas, 2011).



La eficacia normal de Triclabendazol debe estar por encima del 90% frente a todos los estadios de *Fasciola hepatica*, desde una semana de edad hasta adultos, por lo que es evidente una disminución de la eficacia de Triclabendazol en Cajamarca según los trabajos anteriormente mencionados, esto es preocupante ya que es el único fasciolicida con mayor acción, por lo que es importante recuperar la eficacia de esta droga (Kassai, 2002).

Estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado que la glicoproteína P (gp-P) funciona como una bomba de flujo que secreta en forma activa una gran cantidad de compuestos no relacionados, desde el interior de la célula hacia el espacio extracelular. A nivel intestinal, la gp-P limita la absorción y difusión trans epitelial provocando modificaciones en la biodisponibilidad de fármacos administrados por vía oral (Lin, 2003).

La gp-P se localiza en tejidos involucrados en los procesos de absorción (ej. células epiteliales de intestino) distribución (ej. barrera hematoencefálica) y eliminación de fármacos (ej. superficie canalicular de los hepatocitos, superficie apical de las células epiteliales del túbulo renal y superficie apical de los enterocitos). También se encuentra en la superficie luminal de las células endoteliales del cerebro, células del sistema hematopoyético y corteza y médula adrenal (Lin, 2003).

En estudios recientes, se ha concluido que la Ivermectina (lactona macrocíclica de uso muy extendido) tiene la capacidad de bloquear la glicoproteína-P, incrementando la biodisponibilidad de los metabolitos del Triclabendazol en ovinos. Estudios *in vitro* han demostrado una interacción farmacocinética, entre Triclabendazol e Ivermectina, esta última, influye sobre la actividad del Triclabendazol y de su metabolito principal Triclabendazol sulfóxido, llegando a mejorarla hasta en 60%, tal como se ha comprobado en experiencias con cepas resistentes. Probablemente este sea un camino que ayudará a recuperar la eficacia del Triclabendazo (Mottier, 2006).



2.2. Base Teórica

2.2.1. Fasciolosis

Es una enfermedad parasitaria ocasionada por *Fasciola hepatica*, tremátodo más común del hígado, prevalente en áreas templadas y en regiones de gran altitud (Kassai, 2002); constituye una de las principales enfermedades parasitarias que limitan el desarrollo pecuario en el país, debido a los efectos patológicos de la *Fasciola* que se traducen en una disminución de la producción y productividad del ganado bovino ocasionando grandes pérdidas económicas, del orden de 10,5 millones de dólares anuales. Por otro lado, su implicancia en Salud Pública es de mucha importancia debido a que es una zoonosis de alta prevalencia en zonas enzoóticas de la sierra peruana, situación que se agrava por la carencia de fasciolicidas de uso humano (Leguia, 1991).

Etiología. Enfermedad producida por un trematodo, perteneciente al Phylum Platyhelminthes, Clase Tremátoda, Sub clase Digenea, Familia Fasciolidae, Género *Fasciola*, Especie *hepatica* (Leguia, 1991).

Nombre común. Es conocida vulgarmente como "alicuya", "gusano del hígado", "duela de hígado", "jallo jallo", "ccallutaca", "distoma", "saguaype", "palomilla del hígado", "babosa" y "lenguasa" (Leguía, 1991).

Morfología. El parásito adulto tiene una longitud de 18-50mm x 4-14 mm de ancho, el cuerpo es aplanado dorso ventralmente de forma foliácea, ancha anteriormente formando un cono posterior (Quiroz, 1995). El tegumento está cubierto por espinas proyectadas hacia atrás (Urquhart *et al.*, 2001); posee dos ventosas muy próximas y un proceso cónico en su extremo

anterior donde se encuentra la boca. Los órganos internos (aparato digestivo y reproductor) son ramificados, especialmente los ciegos, que son largos y con numerosos divertículos laterales. Los dos testículos ocupan la parte media corporal. El ovario y el útero están localizados anteriormente a los testículos, las glándulas vitelógenas formadas por finos folículos ocupan las márgenes laterales del trematodo (Cordero *et al.*, 1999).

Los huevos son ovalaos, operculados, amarillos y grandes; miden de 130 a 150 por 63 a 90 micras; su cáscara es relativamente delgada (Urquhart *et al.*, 2001). Son de color amarillo claro, lleno de gránulos finos y su núcleo descentralizado (Ueno y Gonçalves, 1998).

Ciclo de vida. Las fasciolas adultas se ubican en los conductos biliares del huésped, sus huevos descienden por dichos conductos y son excretados con las heces (Blood y Radostits, 1992). Una *Fasciola* adulta pone entre 2000 a 8000 huevos/día (Ueno y Gonçalves, 1998). Los huevos en el agua (especialmente fuera de las heces) incuban entre tres a cuatro semanas dando lugar a una primera forma larvaria, el miracidio, que abandona el huevo por el opérculo y nada en busca del caracol hospedero del género *Lymnaea* (Blood y Radostits, 1992).

El miracidio mediante su espolón cefálico y sustancias líticas originan un agujero en la superficie de la cabeza o del pie del caracol, a través del cual inyecta un conjunto de células blásticas que se encuentran en el interior del miracidio; éstas se organizan en los tejidos del caracol, originando una cavidad que constituye la segunda forma larvaria, el esporocisto, en cuya pared interior se efectúa una primera reproducción



asexual, dando lugar de cinco a ocho redias. Éstas, desarrollan, y a su vez en su interior, se realiza una segunda reproducción asexual llegando a formar 15 a 20 cercarias (Rojas, 1990).

Las cercarias rompen la redia, abandonan el caracol y mediante un flagelo nadan en búsqueda de una superficie de adherencia, que generalmente son las hojas de las hierbas del lugar, dando origen a la forma quística llamada metacercaria. El desarrollo en el caracol se demora alrededor de seis a siete semanas (Rojas, 1990).

El desenquistamiento de las metacercarias tiene lugar en dos fases: de activación, la primera acontece en el rumen y es activada por una alta concentración de dióxido de carbono, ambiente reductor y temperatura de 39°C; la segunda o emergencia ocurre en el intestino delgado, por debajo de la desembocadura del conducto colédoco y es desencadenada por la bilis y el propio parásito (Cordero *et al.*, 1999).

Las duelas jóvenes atraviesan la pared intestinal, el parásito emigra por el parénquima hepático asentándose definitivamente en los conductos biliares a partir de los 40 días aproximadamente, donde alcanzan la madurez sexual. Los primeros huevos aparecen en las heces a partir de 55-56 días desde la ingestión de las metacercarias (Cordero *et al.*, 1999).

Importancia económica

La Fasciolosis constituye uno de los problemas más serios que afronta la industria pecuaria, por las razones siguientes: (Leguía, 1991).



- Disminuyendo la cantidad y calidad de carne, leche y subproductos, así se ha reportado, un 30-50% menos de incremento de peso en animales jóvenes.
- Entre 20-70 % menos de producción de leche.
- Se devalúa el capital pecuario debido a la mortalidad y predisposición a contraer otras enfermedades.
- Deprime el apetito y produce un mal aprovechamiento de los alimentos debido a deficientes índices de conversión.
- Decomiso de hígados parasitados, que se traduce en cuantiosas pérdidas tanto económicas, como de valiosas fuentes proteicas para la población humana, llegándose incluso a importar hígados para satisfacer la demanda nacional.
- Disminuye la rentabilidad ganadera por el aumento de costos en los productos pecuarios y baja de los ingresos.
- Puede producir abortos debido a toxinas que afectan la circulación fetal y/o la migración de la *Fasciola* que causan lesiones al feto, o por estrés nutricional.
- Alteraciones en el ciclo reproductivo que se manifiestan en una disminución de los porcentajes de fertilidad y preñez, incremento de la edad de la pubertad y porcentaje de crías nacidas muertas.

En nuestro país se han realizado estimados sobre pérdidas debido a mortalidad, disminución de la producción de leche, carne, abortos, y decomiso de vísceras que permiten ubicar a la fasciolosis como la segunda enfermedad parasitaria económicamente importante en rumiantes, ya que produce



pérdidas por 10,5 millones de dólares al año, lo que representa el 39,5% de las pérdidas por parasitismo y el 15,26% sobre el total de pérdidas por todo concepto. Sin embargo, este no incluye los costos por otros rubros como: tratamiento, asesoramiento técnico (Leguía, 1991).

Importancia en salud pública

La Fasciolosis es una zoonosis que ha adquirido caracteres alarmantes en ciertas zonas enzoóticas de la sierra. Estudios efectuados en los Valles del Mantaro, Cuzco y Cajamarca reportan tasas de infección entre 15 a 56% en niños y adultos de áreas rurales. Sin embargo, esta zoonosis no ha sido evaluada en toda su magnitud debido al desconocimiento o poca importancia que el Ministerio de Salud asigna a esta enfermedad y la ausencia de diagnósticos clínicos diferenciales con otras enfermedades hepáticas, en pacientes de zonas endémicas. Reportes clínicos en humanos mencionan un caso de fasciolosis crónica en un paciente que presentó severa anemia (3,2 g/100 ml de hemoglobina) y 2,870 huevos por gramos de heces. Los síntomas más importantes fueron: Falta de apetito, anemia, fiebre irregular, cólicos hepáticos, vómitos, pérdida de peso, eosinofilia y moderada ictericia (Leguía, 1991).

La epidemiología de la fasciolosis humana en las zonas endémicas está relacionada con los siguientes factores: El consumo generalizado de berros, alfalfa, lechuga, etc. en forma de ensaladas o jugos, cultivadas en ambientes contaminados con *Fasciola hepatica*. La prevalencia es más frecuente en niños por su mayor contacto con riachuelos y la costumbre de llevarse a la boca vegetales infectados.



El desconocimiento del ciclo biológico del parásito y los bajos niveles socioeconómicos de la población rural. Los altos niveles de contaminación del medio ambiente debido a la falta de adecuados programas de prevención y control de la enfermedad en los animales domésticos. La carencia de fasciolidas de uso humano, utilizándose al presente el clorhidrato de emetina, el cual debe ser aplicado con vigilancia médica debido al riesgo de accidentes hepatotóxicos y cardiovasculares (Leguía, 1991).

Patogenia

La fasciolosis hepática aguda y crónica está producida por diferentes estadios de *Fasciola hepatica* en el hígado. La forma aguda se puede presentar a las 5 a 6 semanas de haberse producido una ingesta de gran cantidad de metacercarias desencadenando una invasión rápida de fasciolas jóvenes en el hígado (Blood y Radostits, 1992), esto causa una destrucción del parénquima hepático dando lugar a una insuficiencia hepática aguda, a lo que hay que añadir los efectos de la hemorragia de la cavidad peritoneal y disminución en la síntesis de albúmina. Las fasciolas inmaduras se alimentan de tejido hepático, pero accidentalmente pueden ingerir una pequeña cantidad de sangre lo que produce una discreta anemia durante las cuatro a cinco semanas de la infestación. La fasciolosis crónica se desarrolla lentamente debido a la actividad de las *Fasciolas* adultas en los conductos biliares, éstas producen colangítis, obstrucción biliar, destrucción del tejido hepático, fibrosis y anemia (Blood y Radostits, 1992). Mediante el marcado de glóbulos rojos, con radioisótopos, se ha calculado la pérdida hepática diaria por



cada verme en aproximadamente 0,5–1mL de sangre (Cordero *et al.*, 1999).

Síntomas clínicos

Fundamentalmente depende de la cantidad y frecuencia de ingestión de metacercarias, siendo los síntomas más frecuentes inapetencia, anemia, pérdida de peso, menores índices productivos (Rojas, 1990). Los animales afectados se muestran poco vivaces e incluso, letárgicos, el edema submandibular y la ascitis no son características constantes (Cordero *et al.*, 1999).

Lesiones Anatomopatológicas

- **Casos agudos y sub agudos.** Se observa la presencia de líquido sanguinolento en la cavidad peritoneal. El hígado se encuentra aumentado de tamaño, engrosado, pálido, friable y con numerosos depósitos de fibrina en su superficie. Al corte el parénquima muestra gran cantidad de tractos hemorrágicos y si este es sumergido y comprimido dentro de agua se verá la emergencia de fasciolas inmaduras precoces e inmaduras, generalmente entre 1-10 mm.
- **Casos crónicos.** Presencia de gran cantidad de líquido seroso en la cavidad peritoneal. El hígado se encuentra reducido de tamaño y con diversos grados de cirrosis hepática, es decir fibrosado y de consistencia dura. Los conductos biliares se visualizan como cordones blanquecinos prominentes, engrosados y fibróticos, al corte contienen gran cantidad de fasciolas y bilis de color negrusco. En vacunos muchos conductos se hallan calcificados (Leguía, 1991).



- **Diagnóstico.** El diagnóstico de la Fasciolosis puede realizarse mediante la observación de la sintomatología, la utilización de técnicas específicas (biopatológicas, parasitológicas e inmunológicas) y los hallazgos de necropsia (Cordero *et al.*, 1999); siendo el método más difundido el recuento de huevos en la materia fecal mediante la prueba de sedimentación (Nari y Fiel, 2001; Kassai, 2002). Los datos obtenidos de un muestreo de materias fecales que sea representativo pueden ser expresados en forma cuantitativo (Nari y Fiel, 2001). El hallazgo de 100 a 200 huevos por gramo de heces en vacuno, indican una infección probablemente patógena, que requiere la aplicación de un fasciolicida (Cordero *et al.*, 1999).
- **Epidemiología.** *Fasciola hepatica*, es el trematodo más importante para los rumiantes domésticos, es la causa más común de enfermedad hepática en áreas templadas del mundo. En EE. UU, es endémica a lo largo del Golfo de México, la costa occidental, la región de las Montañas Rocosas y otras áreas. Se encuentra presente en el este de Canadá, Columbia Británica y Sur América y tiene importancia económica especial en las islas británicas, oeste y este de Europa, Australia y Nueva Zelanda (Merck *et al.*, 2007).

En el Perú, está ampliamente distribuida, abarcando prácticamente todos los pisos altitudinales del país, aunque con mucha menor frecuencia en la selva baja. Se la encuentra por lo tanto en las regiones costa, yunga, quechua, suni, puna y selva alta, siendo notoriamente más frecuente en la región quechua. Donde se puede encontrar



hatos con variada tasa de infección, desde algunos casos hasta el 100%. Los márgenes de temperatura ambiental óptimos para el desarrollo del huevo están entre 10 y 30 °C. La temperatura crítica mínima es de 10°C, por debajo de la cual tanto el caracol como las formas larvarias de la *Fasciola*, entran en un estado de diapausa o hibernación. La humedad también es importante en la estacionalidad y juntamente con la temperatura influyen en la dinámica poblacional del caracol, que repercute en la producción de cercarias y obviamente en la de metacercarias (Rojas, 1990).

Tratamiento. La terapia de la Fasciolosis debe ir dirigida tanto contra las fasciolas adultas localizadas en los conductos biliares como contra las formas inmaduras en migración por el parénquima hepático con el fin de restaurar la función hepática. También para disminuir al máximo la contaminación de las pasturas con huevos que se multiplicará la infectividad del potrero con metacercarias. (Cordero *et al.*, 1999). Para tal fin, existen productos como Rafoxanide, Triclabendazol, Clorsulón, Closantel, Nitroxinil entre otros (Blood y Radostits, 1992).

Prevención. La fasciolosis por su amplia distribución entre los rumiantes domésticos y muchas especies silvestres es difícilmente erradicable, pero sí puede controlarse combinado los tratamientos antihelmínticos con medidas higiénicas y el control del pastoreo. La forma más importante y generalizada de profilaxis en todo el mundo es la aplicación estratégica de fasciolicidas que eliminan los parásitos de los animales infectados y que también contribuye a la reducción de la contaminación de los



pastos. La elección del fármaco, aparte de consideraciones económicas, debe basarse en el conocimiento de su eficacia frente a las diferentes fases del desarrollo de *Fasciola hepatica* (Cordero *et al.*, 1999).

El hospedador intermediario de la *F. hepatica* es un caracol del género *Lymnaea sp.* De 5-8 mm de longitud y de 3-7 mm de ancho, la concha es cónica, puntiaguda y posee de 3-4 espiras bien marcadas. Se caracteriza por ser muy resistente a las condiciones medio ambientales. En épocas de lluvia desarrolla todo su potencial reproductivo pero en las de sequía se entierra profundamente y allí puede sobrevivir por varios meses (Parra, 1996). El control no es fácil, por medios físicos se logra mejorando el drenaje, al reducir la humedad el hábitat de los caracoles cambia y mueren, el cercado de áreas pantanosas excluye los animales en pastoreo de zonas de caracoles. El empleo de productos químicos (molusquicidas) tiene el inconveniente de incrementar la contaminación ambiental, romper el equilibrio biológico, sin embargo, a pesar de ser costoso, es efectivo (Quiroz, 1995).

2.2.2. Triclabendazol

Descripción. Es de la familia química de los benzimidazoles; su nombre químico es 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxil)-2-metiltio-1H-benzimidazol (Márquez, 2007).

Farmacodinamia. El sitio más usual de metabolismo es el hígado, donde comúnmente ocurren reacciones de oxidación y separación. Su acción es producida por un derivado metabólico: Sulfóxido de Triclabendazol, el cual después de



ejercer su acción a nivel de parénquima hepático y conductos biliares, es eliminado conjuntamente con la bilis.

Todos los benzimidazoles actúan sobre los parásitos interfiriendo su metabolismo generador de energía, la gran mayoría inhibiendo la enzima fumarato reductasa. El bloqueo del paso de la fumarato reductasa inhibe la generación de la energía mitocondrial en la forma de adenosin trifosfato (ATP). Además de bloquear la fumarato reductasa, también se fija a la tubulina de los parásitos, lo que impide la unión de las subunidades de proteínas alfa y beta de la tubulina y altera la función y estructura de los microtúbulos de las células de los parásitos. Los microtúbulos son estructuras intracelulares con varias funciones relacionadas con el movimiento de los cromosomas durante la división celular, la absorción de nutrientes, la motilidad y el soporte estructural de la célula, el movimiento de partículas intracelulares, la exocitosis y la comunicación intracelular (Márquez, 2007).

De acuerdo con esto, el efecto antiparasitario de Triclabendazol es un proceso letal, pero relativamente lento (Merck *et al.*, 2007).

Farmacocinética. Después de que se administra por vía oral se absorbe bien. La $C_{p_{max}}$ se alcanza a las 8 horas, se metaboliza hasta 95% de la dosis administrada y los principales metabolitos encontrados en plasma son Sulfóxido y el Triclabendazol sulfona. Se elimina principalmente en heces, el resto en orina y leche (Sumano, y Ocampo.1997). Son variantes pequeñas las que existen entre estos Benzimidazoles, salvo su espectro, que en este caso es más eficaz contra Fasciolas adultas de más de seis semanas es de



100% y con otras formas inmaduras de hasta una semana de edad su eficacia alcanza a 99% (Adams, 2003).

Dosificación. En lo general, se recomienda dosis de 5 mg/kg en cabras, de 10 mg /kg en las ovejas y de 12 mg/kg en el ganado vacuno (Adams, 2003).

Indicaciones y eficacia. En las ovejas se pueden conseguir eficacias del 98-100% contra *Fasciola hepatica* con dosis de 15 mg/kg en los trematodos de 1 día, de 15 mg en trematodos de 1-4 semanas, de 10 mg/kg en los trematodos de 6 a 8 semanas, de 5 mg/kg en los trematodos de 10 semanas y de 2,5 mg/kg en los trematodos de 12 semanas (Adams, 2003). Quizá, el efecto más importante en este producto sea el residual, ya que después de una sola aplicación no existen huevos de *Fasciola* hasta por 11 semanas, lo que permite desarrollar un plan para erradicar al parásito en la granja. Con solo cuatro aplicaciones/año es factible eliminar la metacercaria de la pastura (Sumano y Ocampo, 1997).

Toxicidad. La dosis máxima tolerada es de 200 mg/kg por lo cual los animales pueden presentar incoordinación hasta por 3 días. Se informa que consecuente a la aplicación del Triclabendazol se puede presentar reacciones en pie por fotosensibilidad, la cual se manifiesta por inflamación de la piel y de la ubre; esto se considera un efecto de toxicidad, del cual no está bien definida la causa. Se indica que puede existir lesión en el área de piel donde se aplique el producto por vía subcutánea, sin que esto sea una limitante para su uso. No produce efectos teratógenos (Sumano y Ocampo, 1997).



Tiempo de retiro. El tiempo de retiro para carne de ovino y bovino es de 28-42 días, y para leche es de 7 días (Sumano y Ocampo, 1997).

2.2.3. Avermectinas

Descripción. Las avermectinas y las milbemicinas son fármacos estrechamente relacionados, que pertenecen al grupo de las lactonas macrocíclicas. Son drogas de amplio espectro y elevada potencia que se usan para el control de parásitos internos y externos (nematodos y artrópodos), razón por la cual se les denomina endectocidas. Fue introducida comercialmente en 1981 y es el miembro más antiguo y de mayor uso del grupo de las avermectinas disponibles como producto comercial, siendo un potente antihelmíntico con propiedades nematocidas (Campbell, 1989; Brownlee *et al.*, 1997).

Avermectina es un término genérico utilizado para un grupo amplio de fármacos cuyo compuesto original es la avermectina b1 (abamectina), de la cual derivan la Ivermectina, la Doramectina y la Eprinomectina (Strong, 1993). La Ivermectina (ivm), fue introducida comercialmente en 1981 y es el miembro más antiguo y de mayor uso del grupo de las avermectinas disponibles como producto comercial, siendo un potente antihelmíntico con propiedades nematocidas e insecticidas (Campbell *et al.*, 1989).

Ivermectina es una avermectina y es la primera lactona macrocíclica disponible comercialmente, y es la que se ha estudiado de manera más extensa (Merck *et al.*, 2007), está probada para el control de nematodos gastrointestinales,



vermes pulmonares, piojos chupadores y cresas del ganado bovino. Fue introducida comercialmente en 1981 y es el miembro más antiguo y de mayor uso del grupo de las avermectinas disponibles como producto comercial, siendo un potente antihelmíntico con propiedades nematicidas e insecticidas (Campbell, 1989, Brownlee *et al.*, 1997).

Características fisicoquímicas. Es un polvo blanquecino o amarillento, escasamente soluble en agua, pero soluble en glicol de propileno, glicol de polietileno y aceites vegetales es fotolábil en solución (Plumb, 2006).

Farmacocinética. Los rumiantes sólo absorben de un cuarto a un tercio de la dosis vía oral debido a la inactivación de la droga en el rumen. Si bien hay mayor biodisponibilidad luego de la administración subcutánea, la absorción enteral es más rápida. Tiene una vida media terminal extensa en la mayoría de las especies, se metaboliza en el hígado mediante rutas oxidativas y se excreta primariamente en materia fecal (Plumb, 2006).

Farmacodinamia y mecanismo de acción. Las membranas de las células musculares somáticas, faríngeas, uterinas y sus neuronas asociadas de nematodos y artrópodos contienen canales iónicos selectivos al cloro. Las Avermectinas y las milbemicinas actúan como agonistas de elevada afinidad sobre la subunidad de estos canales, de tal manera que, cuando los nematodos y artrópodos son expuestos a la acción de estos compuestos químicos, la motilidad, la fecundación y la capacidad de alimentación de estos parásitos se afecta. Estos compuestos químicos comparten el mismo mecanismo de

acción. Las avermectinas también han mostrado actividad sobre el complejo receptor glicina/canal cloro. Estos complejos están restringidos al sistema nervioso central en los mamíferos, por lo que, dadas las bajas concentraciones de avermectinas que se alcanzan en el SNC, hacen que estas moléculas sean extremadamente seguras en mamíferos (Márquez, 2007).

Vías de administración y dosis terapéutica. La Ivermectina administrada por vía subcutánea es más efectiva que la vía oral en contra de ecto y endoparásitos en ovinos, bovinos y caprinos, comparada con la vía oral (Lespine *et al.*, 2005). El desarrollo tecnológico de bolos de liberación sostenido para la administración de fármacos antihelmínticos, es considerado un importante avance en el control de nemátodos endoparásitos de los rumiantes, bolos que se expanden al depositarse dentro del rumen, liberando el antihelmíntico en forma constante por un período de 135 a 180 días (McKellar y Benchaoui, 1996). La dosis es de 0,2 mg/Kg pv vía oral y sub cutánea (Plumb, 2006).

Seguridad. Su uso en vacas en gestación es seguro, no se indica en vacas en producción (Plumb, 2006).

2.2.4. Glicoproteína-P (gp-P)

La gp-P es un complejo glicoproteico de membrana de 1280 aminoácidos con un peso molecular de 170 KDa. Está compuesta por dos mitades simétricas y homólogas que actúan en forma coordinada como una unidad. Cada mitad consta de seis dominios transmembrana y de un dominio de unión al ATP localizado en la superficie citosólica. Si bien se ha determinado que ambos sitios de unión al ATP son necesarios para que la actividad de la gp-P se produzca eficientemente, la interacción

entre los sitios de unión al ATP y los dominios de unión a drogas son esenciales para que se produzca la hidrólisis del ATP estimulada por el sustrato y el transporte del mismo. Mediante este mecanismo de transporte activo, los sustratos son secretados sin modificar fuera de la célula contra un gradiente de concentración, lo que provoca una disminución de su concentración intracelular (Ambudkar *et al.*, 1999).

El efecto farmacológico obtenido tras la administración de una droga depende de la interacción de ésta con su receptor (fase farmacodinamia). Para obtener un efecto farmacológico óptimo son necesarias concentraciones efectivas del fármaco en el sitio de acción (biofase) durante un cierto período (Lanusse y Prichard, 1993). De esta manera, los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción (fase farmacocinética) influyen directamente en las concentraciones de droga que alcanzan el sitio de acción y, por lo tanto, en su efecto farmacológico. Mientras que los procesos de absorción y distribución determinan el pasaje del fármaco desde su sitio de administración hacia la circulación sistémica y su llegada a la biofase, los procesos de biotransformación (metabolismo) y excreción determinan la finalización de la acción del fármaco en el organismo (Alvinerie *et al.*, 1999).

Localización de la glicoproteína-P en tejidos normales.

La gp-P se localiza en tejidos involucrados en los procesos de absorción (ej. células epiteliales de intestino), distribución (ej. barrera hemato encefálica) y eliminación de fármacos (ej. superficie canalicular de los hepatocitos, superficie apical de las células epiteliales del túbulo renal y superficie apical de los enterocitos).



También se encuentra en la superficie luminal de las células endoteliales del cerebro, células del sistema hematopoyético y corteza y médula adrenal (Lin, 2003).

Rol de la glicoproteína-P en la disposición de fármacos. La forma en la que la actividad de la gp-P y otros transportadores celulares varía a lo largo del intestino ha sido escasamente definida. La distribución de la gp-P en el tracto gastrointestinal se incrementaría desde el duodeno hacia el colon, con picos de expresión en íleon y colon distal (Stephens *et al.*, 2002). Estos resultados concuerdan con estudios *in vitro* realizados en intestino de rata donde la mayor actividad gp-P se observó en íleon, con menores niveles de actividad en el resto de los segmentos intestinales (Hunter *et al.*, 1997).

La actividad de los transportadores celulares en el proceso de absorción de fármacos influye sobre la biodisponibilidad sistémica de los mismos y, por lo tanto, es determinante en la resultante eficacia clínica tras la administración oral de drogas. La actividad de gp-P en la distribución de diferentes compuestos juega un rol importante en el comportamiento farmacológico/toxicológico de los mismos. La presencia de gp-P en las células endoteliales de la barrera hemato encefálica limita la entrada al sistema nervioso central de numerosos fármacos como Ivermectina, loperamida, dexametasona, digoxina, entre otros (Schinkely *et al.*, 1995). La presencia de gp-P en placenta constituye una importante barrera para el acceso de xenobióticos al feto (Lin, 2003).

Interacción farmacocinética entre Triclabendazol, Ivermectina y glicoproteína-P. Existen varios mecanismos moleculares por los cuales se presenta resistencia de *Fasciola*



hepatica al Triclabendazol. Entre ellos se encuentra: a) la lenta reducción de la oxidación del Triclabendazol (TCBZ) a triclabendazol sulfóxido (TCBZSO) que es el metabolito activo, b) la unión del TCBZ a proteínas no específicas restringe la habilidad del fármaco a unirse al sitio de acción, y c) el eflujo mediado por transportadores donde se sobre expresa la acción de la glicoproteína-P (gp-P) permitiendo la eliminación del fármaco desde las células (Álvarez *et al.*, 2007).

Fue introducida comercialmente en 1981 y es el miembro más antiguo y de mayor uso del grupo de las avermectinas disponibles como producto comercial, siendo un potente antihelmíntico con propiedades nematocidas e insecticidas (Campbell, 1989, Brownlee *et al.*, 1997).

En este caso los resultados han demostrado *in vitro* una interacción farmacocinética muy interesante, puesto que la Ivermectina influye sobre la actividad del Triclabendazol y de su metabolito principal sobre *F. hepatica*, llegando a mejorarla hasta el 60%, tal como se ha comprobado en experiencias con cepas resistentes. Probablemente este sea un camino que ayudará a ir reduciendo la incidencia del fenómeno de la resistencia a los antiparasitarios y del Triclabendazol en particular (Mottier *et al.*, 2006).



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LOCALIZACIÓN

La investigación se realizó en el fundo Santa Rosa de Huacariz de Cajamarca. Cuenta con las siguientes características climatológicas (*).

Las pruebas de diagnóstico fueron procesadas en el Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca.

• Altitud	:	2750 msnm
• Latitud Sur	:	7° 10' 36"
• Longitud Oeste	:	78° 29' 35"
• Temperatura promedio anual	:	15,4°C
• Temperatura máxima promedio anual	:	22,4°C
• Precipitación pluvial anual	:	707,4 mm
• Humedad relativa promedio anual	:	62,9%
• Clima	:	Templado

Fuente: (*) Datos Convenio SENAMHI Cajamarca- UNC 2016



3.2. MATERIAL Y EQUIPO

3.2.1. Material biológico

Se utilizó 30 vacas de la raza Holstein positivas a *Fasciola hepatica*, tres meses sin dosificación.

3.2.2. Materiales farmacológicos

Triclabendazol al 12 %, suspensión de uso oral.

Ivermectina al 1 %, solución Inyectable vía subcutáneo.

3.2.3. Material de trabajo de campo

- Botas de jebe
- Mameluco
- Naricera
- Cinta bovinométrica
- Sogas
- Bolsas de polietileno
- Jabón
- Libreta de apuntes
- Bolígrafos
- Caja tecnoport
- Lápiz marcador
- Agujas hipodérmicas N° 16 x ½"
- Jeringas hipodérmicas
- Jeringas y cánulas dosificadoras
- Tablero de campo
- Cámara fotográfica
- Lapiceros de tinta indeleble
- Planillas para registro de datos



3.2.4. Material y equipo de laboratorio

- Balanza de precisión.
- Vasos plásticos de 400 mL de capacidad.
- Vasos de vidrio cónico de 260 mL de capacidad.
- Embudo con malla metálica de 80 hilos/pulgada.
- Placas petri de 10 centímetros de diámetro, marcadas, paralelas de 1 centímetro de separación.
- Estereoscopio con luz incorporada.
- Agitador eléctrico.
- Estilete (aguja N° 22x ½ pulgada).
- Lápiz de tinta indeleble.
- Detergente.
- Baguetas.
- Contómetro.
- Guantes quirúrgicos.
- Mandil.
- Papel toalla.
- Lugol parasitológico.

3.3. METODOLOGÍA

La investigación tiene un diseño experimental comparativo; la muestra de estudios fue de 30 bovinos hembras de raza Holstein (Anexo. Fig. 1) diferentes edades, 15 animales por grupo experimental. Homogenizados con aproximación en cuanto a HPG.

Para determinar la eficacia antihelmíntica fasciolicida se aplicó el test de reducción del contenido de huevos (T.R.C.H), cuyo protocolo a seguir fue el referido por (Ueno y Gonçalves ,1998), que a continuación se indica.

Los tratamientos aplicados en el presente estudio de investigación se definen según los fármacos a usar, teniendo en cuenta la dosis y vía de administración como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Tratamientos del estudio.

Tratamiento	Fármacos, dosis en mg/kg pv y vía de administración
T ₁	15 animales recibieron una dosis de Triclabendazol 12 mg/kg pv/oral
T ₂	15 animales que recibieron una dosis de Triclabendazol 12 mg/kg pv/oral más Ivermectina 0,2 mg/kg pv/sub cutánea

En cada uno de los tratamientos se evaluó 15 unidades experimentales (bovinos). El primer muestreo de heces, para determinar hpg se realizó en un mínimo plazo de 7 días pre dosificación y el segundo muestreo el día 28 post dosificación; protocolo propuesto por (Ueno y Gonçalves, 1998).

3.4. Análisis Estadístico

Se utilizó la fórmula para determinar el porcentaje de reducción de huevos (eficacia) de cada unidad experimental obtenida de (Ueno y Gonçalves, 1998), se empleó la prueba Z (ver Anexo 4).

$$Eficacia = \frac{C}{A} \times 100$$

$$C = A - B$$

Dónde:

A= Es la sumatoria del número de huevos encontrados antes de la aplicación del fasciolicida.

B= Es la sumatoria del número de huevos encontrados pos dosificación.

C= Es la diferencia de huevos que resultan de la pre dosificación y pos dosificación.

3.5. Procedimiento

3.5.1. Actividades que se realizaron en campo

Se realizaron tres visitas al lugar donde se desarrolló la investigación.

Primera visita. En la primera visita se llevó a cabo las siguientes actividades:

- **Identificación de animales.** Se anotaron el número de arete o nombre de cada animal (Anexo. Fig. 2).
- **Estimación del peso vivo.** Se midió el perímetro torácico con una cinta bovinométrica (Anexo. Fig. 3).
- **Determinación de la edad del animal.** Esta información se obtuvo a través del propietario de los animales, registros, dentición (cronología dentaria).

- **Recolección y traslado de muestras de heces al laboratorio de Parasitología Veterinaria, en pre dosificación.** En primeras horas de la mañana, se procedió a realizar la extracción de heces directamente del recto en aproximadamente 100 g obtenidas en bolsas de polietileno (Anexo Fig. 4), las mismas que fueron rotuladas con la identificación de cada animal correspondiente (Anexo Fig. 5); así fueron trasladadas al Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, para su procesamiento.

Segunda visita. En la segunda visita se dosificó a los animales que conforman los grupos experimentales, ésta se realizó tres días después de la primera visita.

- **Dosificación.** El suministro de los fasciolicidas se llevó a cabo en primeras horas de la mañana. Se utilizaron jeringas calibradas en mililitros (Anexo Fig. 6) y cánulas para el suministro oral (Anexo Fig. 7) y agujas N° 16 x ½ pulgada para el suministro vía sub cutánea, el Triclabendazol se suministró vía oral y la Ivermectina via subcutánea.
- **Calcular la dosis terapéutica.** Para calcular la dosis de los fármacos a evaluar, se consideró: el peso vivo individual de los animales, dosis terapéutica (mg/kg) y la concentración de cada fármaco. La dosis obtenida a suministrar será en ml por animal.

Tercera visita: En la tercera visita se realizó la extracción de muestra de heces al día 28 post dosificación para evaluar la eficacia del fasciolicida (Anexo Fig. 8).

3.5.2. Actividades que se realizaron en Laboratorio

- Se realizó la Técnica de Sedimentación Natural Modificada por Rojas y Torrel (Rojas *et al.*, 2013).
- En un vaso de plástico de 400 ml de capacidad pesar 1 g de heces.
- Agregar aproximadamente 200 ml de agua de caño, homogenizar las heces con un agitador eléctrico (batidora eléctrica) por aproximadamente 10 segundos (Anexo Fig. 9).
- Pasar por un embudo con malla metálica de 80 hilos por pulgada hacia otro vaso de vidrio de forma cónica de 250 ml de capacidad agregar agua de caño hasta llenar a 1cm del borde del vaso (Anexo Fig. 10).
- Dejar reposar por 5 minutos (Anexo Fig. 11).
- Decantar el sobrenadante dejando aproximadamente 15 ml de sedimento en el vaso (Anexo Fig. 12).
- Colocar 3 gotas de Lugol parasitológico fuerte y esperar 5 minutos para colorear los huevos (Anexo Fig. 13).
- Vaciar el sedimento a una placa Petri rayada y observar al estereoscopio a 16 aumentos o al microscopio a menor aumento (Anexo Fig. 14).
- Lectura, la presencia de uno a más número de huevos en toda el área de la placa petri. El contaje se realizará con la ayuda de una aguja N° 22 x ½ pulgada.



CAPÍTULO IV

RESULTADOS

Cuadro 1. Eficacia del Triclabendazol y Triclabendazol más Ivermectina subcutánea frente a *Fasciola hepatica* en bovinos de la raza Holstein, del fundo Santa Rosa de Huacariz, 2016.

Grupos experimentales	Sumatoria de huevos 0 días pre dodificación	Sumatoria de huevos 28 días pos dodificación	Eficacia (%) IC
T ₁ Triclabendazol oral	264	262	0,76±1,05
T ₂ Triclabendazol + Ivermectina SC	268	113	57,84±5,92

Existe diferencia significativa entre tratamientos (prueba de Z). Nivel de confianza 95%.



CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en la presente investigación muestran que Triclabendazol tiene una eficacia contra *Fasciola hepatica* de 0,76%, este resultado bajo no es el único obtenido en el valle de Cajamarca, ya que Rodas y Rojas obtuvieron una eficacia de 2,8% en el fundo Tartar de la Universidad Nacional de Cajamarca en el año 2007; esto se debe posiblemente a que en estos predios Triclabendazol se usó con mayor frecuencia. En otros estudios realizados para determinar la eficacia de Triclabendazol, Terán y Rojas en el año 2010 encontraron una eficacia de 81% en el predio Quebrada Honda, distrito de Tumbadén, San Pablo, en 15 bovinos Holstein hembras de diferentes edades. En el predio Santa Elvira de la Sociedad Agrícola de Interés Social (SAIS) José Carlos Mariátegui, Palomino y Rojas en el año 2011 encontraron 77% de eficacia, en 15 bovinos Holstein hembras, entre 13 y 31 meses de edad, resultados que son mayores al 0,76% pero son insuficientemente activos.

Para Triclabendazol más Ivermectina subcutánea se obtuvo una eficacia de 57,84% (Cuadro 1; Fig. 1), datos similares a los encontrados por Bueno y Torrel en el 2013, quienes obtuvieron una eficacia del 69,93% al administrar ambos antihelmíntico en bovinos de la raza Holstein, del fundo San Francisco de Chumbil, provincia de San Pablo; Mottier y sus colaboradores en el año 2006 en la Universidad del Centro, Tandil Argentina mejoraron la eficacia de Triclabendazol en 60% en cepas resistentes de *Fasciola hepatica* al administrarlo conjuntamente con Ivermectina. Estos resultados se deben a la intervención de IVM, esta influye sobre la biodisponibilidad de TCBZ.



CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

- 6.1. La eficacia del Triclabendazol en el control de *Fasciola hepatica* en bovinos de la raza holstein del fundo Santa Rosa de Huacariz es $0,76 \pm 1,05\%$.
- 6.2. La eficacia de Triclabendazol más Ivermectina subcutánea en el control de *Fasciola hepatica* en bovinos de la raza Holstein del fundo Santa Rosa de Huacariz es $57,84 \pm 5,92\%$.
- 6.3. La administración de Triclabendazol oral más Ivermectina por vía subcutánea incrementa $57,08\%$ la eficacia de Triclabendazol sobre *Fasciola hepatica* en bovinos de la raza Holstein del fundo Santa Rosa de Huacariz.



CAPÍTULO VII

LISTA DE REFERENCIAS

Adams, H. 2003. Farmacología y terapéutica veterinaria, 2ª edición, editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. p1055-1060.

Álvarez, I., Mottier, L., Lanusse, C. 2007. Drug transfer into target helminth parasites. Trends Parasitol 3: 97-104.

Alvinerie, M., Dupuy, J., Eeckhoutte, C., Sutra, J.F. 1999. Enhanced absorption of pour-on ivermectin formulation in rats by co-administration of the multidrug-resistant-reversing agent verapamil. Parasitology. Res.85:920 - 922.

Ambudkar, S.V., Dey, S., Hrycyna, C.A., Ramanchadra, M., Pastan, I., Gottesman, M.M. 1999. Biochemical, cellular and pharmacological aspects of the multidrug transporter. Annu Rev Pharmacol Toxicol .39: 361-398

Bueno, R. y Torrel, S. 2016. Eficacia de triclabendazol más ivermectina sobre *Fasciola hepatica* en bovinos Holstein Friesian, Cajamarca – Perú.

Blood, D. y Radostits, O. M. 1992. Medicina Veterinaria. 7ª Edición. México.

Campbell, W.C. 1989. Ivermectin and Abamectin. Springer-Verlag, New York. U.S.A.



Cordero, M., Rojo, F., Martínez, A., Sánchez, M., Hernández, S., Hunter, J., Hirst, B.H. 1997. Intestinal secretion of drugs. The role of P-glycoprotein and related drug efflux systems in limiting oral drug absorption. *Adv Drug Deliv Rev.* 25: 129-157.

Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI). 2013.

Kassai, T. 2002. *Helminología Veterinaria.* Zaragoza- España: Acribia S.A. Glosario de términos, 4 – 10, 183 – 192.

Lanusse, C.E. y Prichard, R. 1993. Relationship between pharmacological properties and clinical efficacy of ruminant anthelmintics. *Vet Parasitol* 49:123-158.

Leguía, G. 1991. Distomatosis hepática en el Perú epidemiología y control. 2ª edición. Lima. Perú. p7-33.

Lespine, A.M., Alvinierie, J.F., Sutra, I. and Chartier, C. 2005. Influence of the route of administration on efficacy and tissue distribution of ivermectin in goat. *Vet. Parasitol.* 128(3-4): 251-260.

Lin, J.H. 2003. Drug-drug interaction mediated by inhibition and induction of P-glycoprotein. *Adv Drug Deliv Rev.* 55: 53-81.

Márquez, D. 2007. Resistencia a los Antihelmínticos. CORPOICA. Colombia: PRODUMEDIOS. 3 - 25.

McKellar, Q.H., Benchaoui. 1996. Avermectins y milbemycins. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 19(5): 331-351.

Merck. 2007. *El Manual Merck de veterinaria.* 6ª Edición. España: Océano. 2080 – 2095.

Mottier, L., Álvarez, L., Fairweather, L., Lanusse, C. 2006. Resistance induced changes in triclabendazole transport in *Fasciola hepatica*: ivermectin reversal effect. *Journal of Parasitology*, 92:1355 – 1360.



Mottier, L. y Lanusse, C. 2001. Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos. *Revista de Medicina Veterinaria*, 82(2): 74-85.

Nari, A. y Fiel, C. 2001. Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos. bases epidemiológicas para su prevención y control. Montevideo - Uruguay: Editorial Hemisferio Sur. 230 – 240.

Palomino, G. y Rojas, J. 2011. Eficacia de cinco grupos químicos en el control de fasciolosis en ganado bovino del S.A.I.S. José Carlos Mariátegui, Huacraruco, distrito san Juan Cajamarca. Tesis para optar el Título Profesional de Médico Veterinario, Facultad de Ciencias Veterinarias - Universidad Nacional de Cajamarca. – Perú.

Parra, A. 1996. Epidemiología y control de la *Fasciola hepatica*. Curso-taller internacional, CORPOICA-CEISA. Santafé de Bogotá, Colombia. 8.

Plumb, D. 2006. Manual de Farmacología Veterinaria. 5ª edición. Buenos Aires – Argentina: Interamericana. 433 – 436.

Quiroz, H. 1995. Impacto económico, epidemiología, control y prevención de *Fasciola hepatica* en la ganadería. XII Congreso Latino Americano de Parasitología, Santiago De Chile. 20.

Rodas, C., Rojas, J. 2007. Eficacia y resistencia antihelmíntica de nematodos gastroentéricos y *Fasciola hepatica* en vacunos *Holstein* en el fundo “Tartar-UNC”, campiña de Cajamarca, 2006. Tesis para optar el Título Profesional de Médico Veterinario, Facultad de Ciencias Veterinarias - Universidad Nacional de Cajamarca. Cajamarca- Perú.

Rojas, J. 2006. Efectividad de cuatro antiparasitarios y posible resistencia química de nematodos a los antinematodicos más comunes en el fundo la Argentina campiña de Cajamarca. Publicado en los resúmenes del XVIII Congreso Nacional de Ciencias Veterinarias, Cajamarca Perú.

Rojas, M. 1990. Parasitismo de los Rumiantes Domésticos. Lima –Perú: MAIJOSA. 112 – 116.



Rojas, J., Torrel, S. y Raico, M. 2013. Validación de la técnica Sedimentación Natural modificada por Rojas y Torrel en el diagnóstico de fasciolosis crónica en bovinos, Cajamarca. Perú. Memorias de la XXIII ALPA de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal. La Habana, Cuba. PB288, p2424-2427.

Schinkel, A.H. 1997. The physiological function of drugtransporting P-glycoproteins. *Semin Cancer Biol.* 8: 161-170.

Schinkel, A.H., Wagenaar, E., Van Deemter, L., Mol, C., Borst, P. 1995. Absence of the mdr-1a P-glycoprotein in mice affects tissue distribution and pharmacokinetics of dexamethasone, digoxin and cyclosporine A. *J Clin Invest.* 96: 1698-1705. Homozygous disruption of the murine mdr2 P-glycoprotein gene leads to a complete absence of phospholipid from bile and the liver disease. *Cell* 75: 451-462.

Stephens, R.H., Tanianis-Hughes, N., Higgs, N.B., Humphrey, M., Warhust, G. 2002. Region-dependent modulation of intestinal permeability by drug efflux transporters: in vitro studies in mdr1a (-/-) mouse intestine. *J Pharmacol Exp Ther.* 303:1095-1101.

Strong, L. 1993. Overview: the impact of avermectins on pastureland ecology. *Vet. Parasitol.* 48(1-4), pp 3-17.

Sumano, H. y Ocampo, L. 1997. *Farmacología Veterinaria.* 2ª edición. México: McGraw-Hill Interamericana. 495 – 498.

Terán, J. y Rojas, J. 2011. Determinación del grado de eficacia de Triclabendazol 12%, Closantel 10%, Nitroxinil 34% y Clorsulón 10%, en el control de fasciolosis hepática en bovinos del predio Quebrada Onda, distrito de Tumbadén. San Pablo, Cajamarca. Tesis para optar el Título Profesional, de Médico Veterinario, Facultad de Ciencias Veterinarias - Universidad Nacional de Cajamarca, Perú.



Torrel, S. 2008. "Paramphistomosis en Cajamarca". Revista Informativa Perú.

Ueno, H. y Gonçalves, P.C. 1998. Manual para diagnóstico de los helmintos de Rumiante. 4ª Edición. Tokio - Japan: Japan Internacional Cooperation Agency (JICA). 56: 130-131

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



ANEXO

Anexo 1. Formación de los Grupos Experimentales.

Tabla 2. T₁ Grupo Triclabendazol.

N° de Animales	Identificación	HPG Día 0	Edad (meses)
1	Vaneta	4	40
2	Génova	13	50
3	Almendra	16	97
4	Frontera	26	23
5	Pintura	18	30
6	Ranita	45	55
7	Mae	27	44
8	Amadea	8	68
9	Top	1	85
10	Valeria	57	53
11	Azucena	9	116
12	Tamika	11	37
13	Almeida	4	49
14	Bonanza	17	97
15	Arcadia	8	44
Total		264	



Tabla 3. T₂ Grupo Triclabendazol oral más Ivermectina Subcutánea.

N° de Animales	Identificación	HPG Día 0	Edad (meses)
1	Gales	6	36
2	Burbuja	37	48
3	Kai	7	46
4	Marrita	17	63
5	Brus	25	66
6	Gomita	4	24
7	Cleisa	55	58
8	Cupida	8	60
9	Argentina	17	80
10	Alaska	14	87
11	Micaela	1	57
12	Belén	41	87
13	Valentina	10	54
14	Goya	14	44
15	Julieta	12	44
Total		268	

Anexo 2. Registro de resultados de laboratorio pre y pos dosificación, peso vivo y dosis terapéutica de cada fármaco.

Tabla 4. T₁ Grupo triclabendazol.

N° de Animales	Identificación	HPG Día 0	HPG Día 28	Peso (kg)	Dosis (mL)	Edad (meses)
1	Vaneta	4	13	453	50	40
2	Génova	13	0	441	48	50
3	Almendra	16	0	532	58	97
4	Frontera	26	117	416	46	23
5	Pintura	18	15	396	43	30
6	Ranita	45	1	515	60	55
7	Mae	27	38	453	53	44
8	Amadea	8	1	579	63	68
9	Top	1	0	403	44	85
10	Valeria	57	46	466	51	53
11	Azucena	9	3	560	61	116
12	Tamika	11	5	428	47	37
13	Almeida	4	7	640	70	49
14	Bonanza	17	15	493	54	97
15	Arcadia	8	1	492	54	44
Total		264	262			

Tabla 5. T₂ Grupo Triclabendazol oral más Ivermectina Subcutánea.

N° de animales	Identificación	HPG Día 0	HPG Día 28	Peso (kg)	Dosis (mL)		Edad (meses)
					TCBZ	IVM	
1	Gales	6	0	435	47	10	36
2	Burbuja	37	0	492	54	11	48
3	Kai	7	5	421	46	10	46
4	Marrita	17	13	498	55	11	63
5	Brus	25	6	498	55	11	66
6	Gomita	4	11	329	36	8	24
7	Cleisa	55	5	396	44	9	58
8	Cupida	8	16	492	54	11	60
9	Argentina	17	3	498	55	11	80
10	Alaska	14	0	435	48	10	87
11	Micaela	1	1	598	66	13	57
12	Belén	41	0	492	54	11	87
13	Valentina	10	3	228	25	5	54
14	Goya	14	50	528	58	12	44
15	Julieta	12	0	553	60	12	44
Total		268	113				



Anexo 3. Cálculo de eficacia e intervalos de confianza.

a. Cálculo de eficacia para los tratamientos.

$$\text{Porcentaje de reducción} = \frac{C}{A} \times 100$$

$$C = A - B$$

Dónde:

A= Es la sumatoria del número de huevos encontrados antes de la aplicación del fasciolicida.

B= Es la sumatoria del número de huevos encontrados post dosificación.

C= Es la diferencia de huevos que resultan de la pre dosificación y post dosificación.

- Eficacia de T₁:

$$\text{Eficacia \%} = \left(\frac{264-262}{264} \right) \times 100 = 0.76\%$$

- Eficacia de T₂:

$$\text{Eficacia \%} = \left(\frac{268-113}{268} \right) \times 100 = 57.84\%$$



b. Cálculo del Intervalo de Confianza (IC) para la Eficacia:

Fórmula para el cálculo de IC para proporciones, con un nivel de confianza de 95%:

$$IC = p \pm 1,96 \sqrt{\frac{(p)(1 - p)}{n}}$$

P = eficacia

n = tamaño de muestra.

- IC para eficacia de T₁:

$$IC = 0.76 \pm 1.96 \sqrt{\frac{(0.76)(100 - 0.76)}{264}}$$

$$IC = 0.76 \pm 1.05$$

$$IC = -0.29 - 1.81$$

- IC para eficacia de T₂:

$$IC = 57.84 \pm 1.96 \sqrt{\frac{(57.84)(100 - 57.84)}{268}}$$

$$IC = 57.84 \pm 5.92$$

$$IC = 51.92 - 63.76$$

Anexo 4. Prueba de Hipótesis (Z)

PRUBA DE HIPOTESIS (Z)

$$H_0 \quad T_1 = T_2 \rightarrow 0.76 = 57.84$$

$$H_a \quad T_1 \neq T_2 \rightarrow 0.76 \neq 57.84$$

FÓRMULA

$$Z_c = \frac{P_1 - P_2}{\sqrt{P_0 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}}$$

$$P_1 = \frac{X_1}{n_1} = \frac{262}{264} = 0.99$$

DONDE

$$P_2 = \frac{X_2}{n_2} = \frac{113}{268} = 0.42$$

$$P = \frac{X_1 + X_2}{n_1 + n_2} = \frac{113 + 262}{268 + 262} = \frac{375}{532}$$

Reemplazando

$$z_e = \frac{0.99 - 0.42}{\sqrt{(0.70)(0.30) \left(\frac{1}{264} + \frac{1}{268} \right)}}$$

$$z_c = \frac{0.57}{\sqrt{(0.21)(0.007191)}}$$

$$z_c = \frac{0.57}{0.0397} = 14.36$$

$$Z_c = 14.36$$

Regla de decisión: Se rechaza la hipótesis nula si $Z_c > Z_\alpha$

$$14.36 > 1.96$$

$$(Z_\alpha = 1.96)$$

Se rechaza la hipótesis nula.

Anexo 5: Registro fotográfico del Trabajo de Campo y Laboratorio.

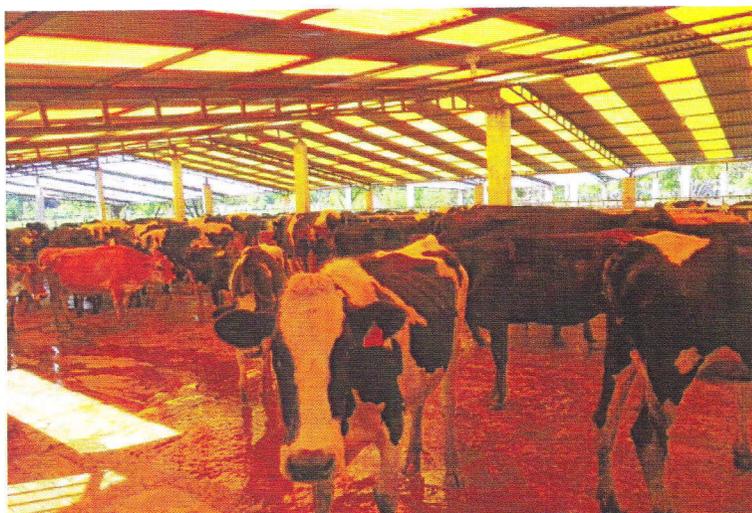


Fig. 1. Bovinos hembras de raza Holstein, del fundo Santa Rosa de Huacariz de Cajamarca.



Fig. 2. Identificación de los animales.



Fig. 3. Estimación del peso vivo de los bovinos hembras raza Holstein.



Fig. 4. Recolección de muestras de heces directamente del recto, aproximadamente 100 g en bolsas de polietileno.

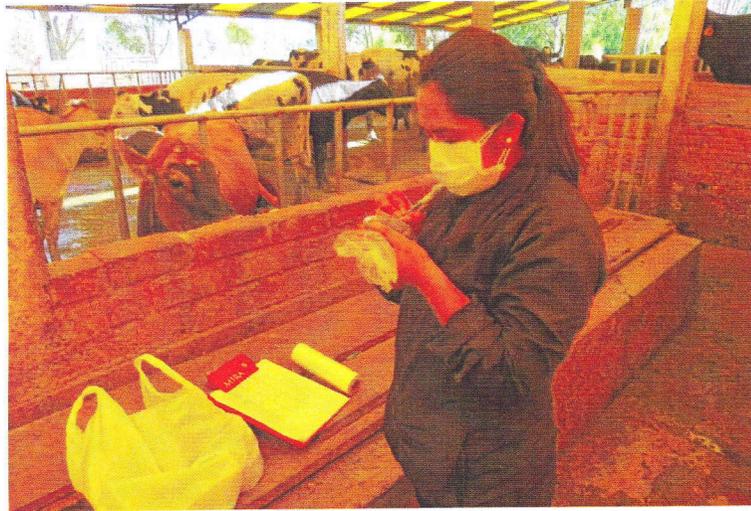


Fig. 5. Rotulación de las muestras con la identificación de los bovinos hembras de raza Holstein.

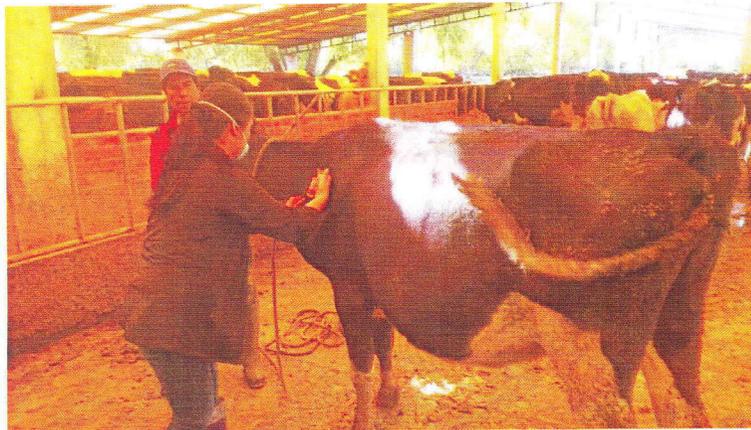


Fig. 6. Administración de Ivermectina sub cutánea con jeringa calibrada de 20 ml y aguja N° 16 x ½ pulgada.



Fig. 7. Administración de Triclabendazol oral.

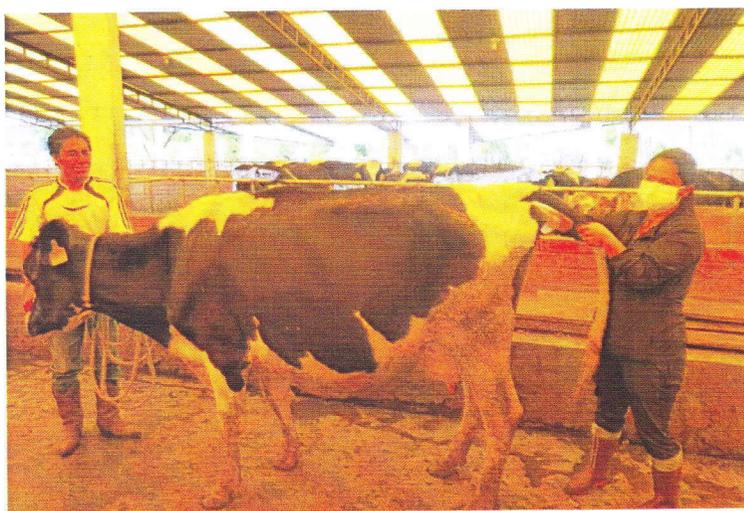


Fig. 8. Extracción de muestras de heces al día 28 pos dosificación.



Fig. 9. Homogenización de las heces con agitador eléctrico aproximadamente 10 segundos.



Fig. 10. Tamizado de la muestra homogenizada por un embudo con malla metálica de 89 hilos por pulgada hacia el vaso de vidrio de forma cónica.



Fig. 11. Reposo por cinco minutos.

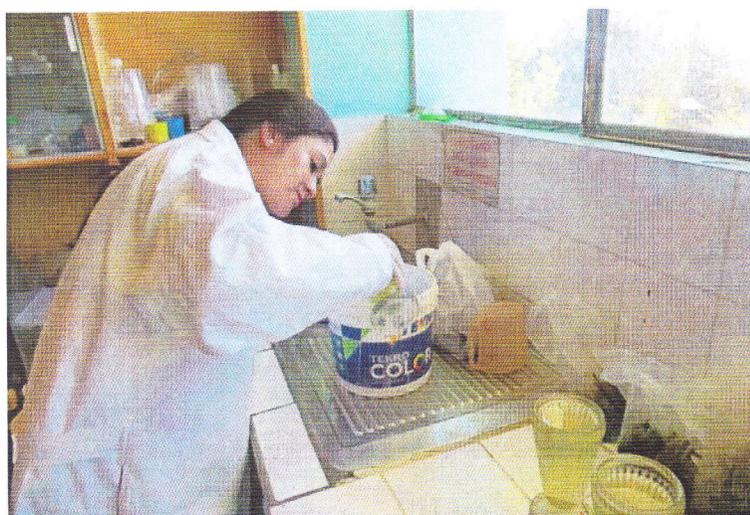


Fig. 12. Se decanta el sobrenadante dejando aproximadamente 15 ml de sedimento en el vaso.



Fig. 13. Aplicación de lugol parasitológico fuerte y espera cinco minutos.



Fig. 14. Observación del sedimento en una placa Petri a través del estéreoscopio a 16 aumentos o al microscopio a menor aumento.