

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



**EFICACIA DEL CLOSANTEL FRENTE A *Fasciola hepatica* EN CONEJOS
(*Oryctolagus cuniculus*) MEDIANTE PRUEBA COPROLÓGICA COMPARADO
A LA NECROPSIA**

TESIS

Para optar el Título Profesional de
MÉDICO VETERINARIO

Presentada por el Bachiller
WALTER OSÍAS TACULÍ SÁNCHEZ

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

CAJAMARCA - PERÚ
2017



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Cajamarca, siendo las diez horas del día veintisiete de diciembre del dos mil diecisiete, 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 DEL CLOSANTEL FRENTE A *Fasciola hepatica* EN CONEJOS (*Oryctolagus cuniculis*) MEDIANTE PRUEBA COPROLÓGICA COMPARADO A LA NECROPSIA**”, asesorada por el docente: **M.Cs. M.V. Juan de Dios Rojas Moncada**, y presentada por el Bachiller en Medicina Veterinaria: **WALTER OSÍAS TACULÍ SÁNCHEZ**.

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 once horas y cuarenta y cinco minutos del mismo día, el Presidente del Jurado Calificador dio por concluido el proceso de sustentación.

Dr. TEÓFILO SEVERINO TORREL PAJARES
PRESIDENTE

Dr. JOSÉ FERNANDO CORONADO LEÓN
SECRETARIO

M.Cs. M.V. WILDER QUISPE URTEAGA
VOCAL

M.Cs. M.V. JUAN DE DIOS ROJAS MONCADA
ASESOR

DEDICATORIA

A mis padres, en especial a mi madre Margarita que con amor y paciencia supo formarme humanamente y profesionalmente y a quien le debo la vida entera.

A mi hermano Juan Carlos por los consejos dados.

WALTER

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la vida, las bendiciones y las experiencias a lo largo de mi carrera académica.

A mis padres, en especial a mi madre Margarita quien gracias a su motivación, amor y apoyo incondicional pude realizar mis sueños.

A mi hermano Juan Carlos, por los consejos prestados.

A mi asesor, M.Cs. M.V. Juan de Dios Rojas Moncada por darme la oportunidad de culminar el último peldaño de mi carrera profesional y de igual manera por sus consejos que siempre llevaré presente.

A todos los Docentes, que siempre pusieron su experiencia y profesionalismo para formarme un Profesional Médico Veterinario.

A mi Alma Máter, Universidad Nacional de Cajamarca - Facultad de Ciencias Veterinarias, que año a año me acogió para ver realidad mis sueños.

WALTER

RESUMEN

La investigación se llevó a cabo en el galpón de cuyes de la Facultad de Ciencias Veterinarias y el Laboratorio de Parasitología Veterinaria, de la Universidad Nacional de Cajamarca, entre los meses de setiembre a noviembre del año dos mil diecisiete, con el objetivo de determinar la eficacia de Closantel 10% en el control de *Fasciola hepatica* en conejos mediante la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel comparada a la necropsia. Se utilizó 20 conejos criollos, entre cuatro a seis meses de edad, diferente sexo, positivos a *F. hepatica*, alimentados con concentrado más zanahoria y panca de choclo, crianza individual en cautiverio, sin medicación antiparasitaria por 60 días. Se formó dos grupos de animales homogéneos mediante el hpg, diez formaron el grupo control (no dosificados) y diez el grupo tratados con Closantel. La dosis terapéutica fue de 20 mg/kg pv vía oral. Las heces fueron obtenidas individualmente de cada conejo en aproximadamente 100 g, en el día cero (pre dosificación) y en el día 15 post dosificación; el peso vivo fue calculado con una balanza digital. En los resultados se determinó que la eficacia del Closantel 10% en dosis de 20 mg/kg pv mediante la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel fue de 99,83% y mediante la necropsia resultó el 100%. Se concluye que la eficacia del Closantel en el control de *F. hepatica* en conejos fue muy alta y que al ser comparadas ambas pruebas de diagnóstico en la eficacia del Closantel en conejos resultaron ser iguales estadísticamente.

Palabras clave: *Fasciola*, conejo, Closantel, eficacia.

ABSTRACT

The research was carried out in the shed of guinea pigs of the Faculty of Veterinary Sciences and the Laboratory of Veterinary Parasitology, of the National University of Cajamarca, between the months of September to November of the year two thousand and seventeen, in order to determine the efficacy of Closantel 10% in the control of *Fasciola hepatica* in rabbits using the natural sedimentation technique modified by Rojas and Torrel compared to necropsy. Twenty Creole rabbits were used, between four to six months of age, different sex, positive to *F. hepatica*, fed with concentrate plus carrot and corn husk, individual breeding in captivity, without antiparasitic medication for 60 days. Two groups of homogeneous animals were formed by the epg, ten formed the control group (not dosed) and ten the group treated with Closantel. The therapeutic dose was 20mg / kg pv orally. The faeces were obtained individually from each rabbit in approximately 100g, on day zero (pre-dosing) and on day 15 after dosing; the live weight was calculated with a digital scale. In the results it was determined that the efficacy of Closantel 10% in a dose of 20 mg / kgpv by means of the natural sedimentation technique modified by Rojas and Torrel was 99.83% and by necropsy it was 100%. It is concluded that the efficacy of Closantel in the control of *F. hepatica* in rabbits was very high and that when both diagnostic tests were compared in the efficacy of Closantel in rabbits, they were statistically equal.

Key words: *Fasciola*, rabbit, Closantel, efficacy.

ÍNDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

RESUMEN

ABSTRACT

	Pág.
CAPÍTULO I	
INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivo.....	3
CAPÍTULO II	
MARCO TEÓRICO	4
2.1. Antecedentes de la investigación	4
2.2. Base teórica	4
2.2.1. Fasciolosis	4
2.2.2. Closantel	11
2.2.3. Pruebas de diagnóstico para evaluar eficacia de un antihelmíntico fasciolicida u otros trematodes.....	12
Prueba coprológica.....	12
Prueba por necropsia	13

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1. Localización del trabajo de investigación.....	15
3.2. Materiales y equipos	16
3.2.1. Material biológico	16
3.2.2. Material farmacológico.....	16
3.2.3. Material de trabajo de campo	16
3.2.4. Material y equipo de laboratorio	17
3.3. Metodología	17
3.3.1. Trabajo de campo	19
3.3.2. Trabajo de laboratorio	21
3.3.3. Determinación de la eficacia del Closantel mediante la prueba coprológica	23
3.3.4. Determinación de la eficacia del Closantel mediante la prueba por necropsia.....	23
3.3.5. Registro de datos	24
3.3.6. Análisis estadístico	24

CAPÍTULO IV

RESULTADOS	25
-------------------------	-----------

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN	27
------------------------	-----------

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES	29
---------------------------	----

CAPÍTULO VII

LISTA DE REFERENCIAS	30
-----------------------------------	----

ANEXO	35
--------------------	----

Anexo 1. Figuras que registran la localización del trabajo de tesis y la metodología utilizada en campo.....	35
--	----

Figura 1. Localización: Galpón de cuyes de la Facultad de Ciencias Veterinarias.....	35
--	----

Figura 2. Material biológico: Conejos criados en cautiverio...	35
--	----

Figura 3. Pesando conejos con balanza digital	35
---	----

Figura 4. Obtención muestra de heces	35
--	----

Figura 5. Dosificando vía oral	35
--------------------------------------	----

Anexo 2.Trabajo de laboratorio: Protocolo de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel	36
--	----

Figura 6. Trituración de las heces	36
--	----

Figura 7. Pesando 1 g de heces	36
--------------------------------------	----

Figura 8. Batiendo la muestra de heces.....	36
---	----

Figura 9. Filtrando la muestra batida	36
---	----

Figura 10. Sedimentación de las muestras.....	36
---	----

Figura 11. Colocando lugol fuerte.....	36
--	----

Figura 12. Realizando el diagnóstico.....	37
---	----

Figura 13. Necropsia (apertura del abdomen).....	37
--	----

Figura14. Fasciolas adultas en conducto biliar en grupo Closantel.....	37
Figura15. Ausencia de fasciolas adultas en conducto biliar en grupo tratado con Closantel.....	37
Anexo 3. Registro de datos obtenidos en el día cero y día 15 post dosificación.....	38
Cuadro 3. Registro de datos obtenidos en el día cero y día 15 post dosificación del Grupo Control.....	38
Cuadro 4. Registro de datos obtenidos en el día cero y día 15 post dosificación con Closantel 10% en dosis de 20 mg/kg pv. Grupo Closantel.....	39
Anexo 4. Análisis estadístico:	40
Prueba de T Student de muestras independientes para la homogenización de huevos por gramo de heces (hpg) pre dosificación en el grupo Control y grupo Closantel (día cero).....	40
Prueba de Z para los resultados de la eficacia del Closantel 10% en dosis de 20 mg/kg pv frente a <i>F. hepatica</i> en conejos, mediante la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel (prueba coprológica)	42
Prueba de Z para los resultados de la eficacia del Closantel 10% en dosis de 20 mg/kg pv frente a <i>F. hepatica</i> en conejos, mediante la prueba por necropsia.....	44

Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon para comparar el recuento de huevos por gramo de heces mediante la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel (prueba coprológica) versus conteo de fasciolas adultas obtenidas mediante la necropsia..... 46

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El conejo es un herbívoro capaz de aprovechar los forrajes, se distingue de los demás mamíferos domésticos por su gran capacidad de transformación alimentaria. Su carne comparada con la de otras especies animales, es más rica en proteínas, en determinadas vitaminas y minerales y de un bajo contenido graso, pero de una alta proporción de ácidos grasos esenciales poliinsaturados (linoléico y linolénico). Sin embargo, las enfermedades parasitarias entre las que puede ser mortal destaca la fasciolosis (Lebas *et al.*, 1996).

La Fasciolosis afecta a gran cantidad de animales herbívoros y omnívoros y ocasionalmente al hombre (Olaechea, 2004).

En el valle de Cajamarca, la prevalencia de fasciolosis bovina en el ganado de producción lechera, oscila entre 43% \pm 5%, determinada mediante diagnóstico coproparasitológico (Torrel *et al.*, 2015), y mediante necropsia en bovinos beneficiados en el Camal Municipal Provincial de Cajamarca, se determinó una frecuencia de 77,5% (Rojas *et al.*, 2016). En conejos en la campiña de Cajamarca, se estimó una incidencia de 46,89% mediante la técnica de sedimentación (Cusma, 1982).

Frente a este problema de la fasciolosis, los ganaderos en el valle de Cajamarca dosifican con fasciolicidas como única alternativa de control, pero sin conocer su eficacia.

De los métodos in vivo para determinar la eficacia antihelmíntica, la prueba de elección es la prueba coprológica utilizando la técnica de sedimentación, por ser económica, práctica y no necesitar de un equipamiento sofisticado

(Coles *et al.*, 1992). Sin embargo, muestra como punto débil la falta de fortaleza estadística para contrarrestar ciertos desbalances debidos, fundamentalmente, al número de la muestra, la variabilidad de la infección estimada a través huevos por gramo de heces (Suárez, 1997). En tanto que el método in vivo más confiable es la prueba de eficacia controlada o prueba por necropsia, pero presenta dificultades por su alto costo al sacrificar animales (Suárez, 1997; Cristel y Suárez, 2005).

En una investigación se evaluó la eficacia del Triclabendazol 10% mediante la prueba coprológica (sedimentación) en bovinos positivos a *Fasciola hepatica* con infección natural y mediante la prueba por necropsia en ovinos positivos a *F. hepatica* con infección experimental con metacercarias provenientes de los bovinos positivos con infección natural antes indicados. En sus resultados obtuvieron una eficacia de 31,05% en la prueba coprológica en bovinos y 25,2% mediante necropsia en ovinos; ambos experimentos se evaluaron en el día 14 post dosificación, la dosis utilizada fue de 12 mg/kg pv en bovinos y de 10 mg/kg pv en ovinos (Ortiz, *et al.*, 2013). Como se puede apreciar en esta investigación, existe una diferencia numérica en la eficacia entre ambas pruebas, pero, esta comparación no se demostró en la misma especie animal.

En la presente investigación, se evaluó la prueba coprológica haciendo uso de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel y mediante la prueba por necropsia, respectivamente; para determinar la eficacia del Closantel 10% en conejos a dosis de 20 mg/kg pv.

1.1 OBJETIVO

Determinar la eficacia del Closantel 10% en dosis de 20 mg/kg pv en conejos, frente a *Fasciola hepatica* mediante la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel (prueba coprológica), comparado a la necropsia.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

En Perú, Cajamarca, (Ortiz *et al.*, 2013) evaluaron la eficacia del Triclabendazol 10% mediante la prueba coprológica (sedimentación) en bovinos positivos a *Fasciola hepatica* con infección natural y mediante la prueba por necropsia en ovinos positivos a *F. hepatica* con infección experimental con metacercarias provenientes de los bovinos positivos con infección natural antes indicados. Obtuvieron una eficacia de 31,05% en la prueba coprológica en bovinos y una eficacia de 25,2% mediante necropsia en ovinos; ambos experimentos se evaluaron en el día 14 post dosificación, la dosis utilizada fue de 12mg/kg pv en bovinos y de 10 mg/kg pv en ovinos.

Respecto a evaluación del Closantel frente a *F. hepatica* en conejos, no se cuenta con la información.

2.2 BASE TEÓRICA

2.2.1 FASCIOSIS

Definición

La Fasciolosis es una enfermedad parasitaria que causa un proceso crónico produciendo trastornos digestivos y de la nutrición. El trematodo se localiza en el parénquima y conductos biliares de bovinos, ovinos, caprinos, cerdos, equinos, conejos,

venados, hombre y otros animales silvestres (Cordero *et al.*, 1999; Adams, 2003 ; Quiroz, 2003).

Etiología

La fasciolosis es causada por *Fasciola hepatica*, trematodo de cuerpo ancho y aplanado dorsoventralmente, mide 18-51mm x 4-13mm. Tiene dos ventosas muy cercanas, la ventral es más grande que la oral. El tegumento está cubierto por numerosas espinas dirigidas hacia atrás (Soulsby, 1987; Quiroz, 2003; Cordero *et al.*,1999).

La resistencia natural de los hospedadores definitivos frente a la infección es variable, éstos se clasifican en tres grupos: En el primer grupo se encuentran los más resistentes como el cerdo, jabalí, perro, gato; estos reaccionan rápidamente frente al parásito, evitando su desarrollo; en el segundo grupo están los bovinos, los équidos y el hombre que reaccionan con retraso ante el proceso ya implantado en el hígado; y en el tercer grupo se encuentran los mamíferos más débiles como los ovinos, caprinos y logomorfos (conejos), en los que existe alta productividad parasitaria y una marcada patogenicidad (Cordero *et al.*,1999).

Clasificación Taxonómica

Referido por (Soulsby, 1987):

Phylum: Platyhelminthes,

Clase: Trematoda,

Sub clase: Digenea,

Familia: Fasciolidae,

Género: *Fasciola*,

Especie: *hepatica*

Ciclo biológico

Los huevos producidos por las fasciolas adultas localizadas en los conductos biliares pasan al duodeno con la bilis y salen del huésped con las heces. Los huevos son elipsoidales, operculados, amarillos y grandes, lleno de gránulos finos y su núcleo descentralizado; miden de 130 a 150 por 63 a 90 micras; su cáscara es relativamente delgada (Ueno y Gonçalves, 1998; Cordero *et al.*, 1999; Urquhart *et al.*, 2001; Quiroz, 2003).

Para que los huevos desarrollen es necesario un medio hídrico como charcos, potreros inundables, canales de curso lento; etc. y preferentemente estar fuera de las heces (Cordero *et al.*, 1999; Urquhart *et al.*, 2001). El tiempo de desarrollo y nacimiento del miracidio depende en gran parte de la temperatura, a 26°C eclosionan en nueve días, abandona el huevo por el opérculo, para su posterior desarrollo es necesario un huésped intermediario debido a que no puede sobrevivir más de 24 horas en vida libre. La acción fototrópica pasiva de la mancha ocular atrae al miracidio a la superficie del agua; nada hasta que llega a un caracol *Lymnaea* (Quiroz, 2003).

Los miracidios pierden los cilios cuando se introducen en el caracol *Lymnaea* y se transforman en esporocistos. A los 15 días ya existe una generación de redias, éstas se alimentan de los tejidos del hepatopáncreas. Las redias dan lugar a las cercarias generalmente entre 8 a 10 semanas. Las cercarias se enquistan sobre hierbas y plantas acuáticas o también en el agua, pierden la cola y se rodean de una cubierta resistente. Esta fase, se denomina metacercaria, que es la forma infectiva para los hospedadores definitivos (Cordero *et al.*, 1999).

Los vacunos se infectan durante el pastoreo, incluso en estabulación, mediante el agua de bebida o por la ingesta de

henos o ensilados mal realizados. El desenquistamiento de la metacercaria ocurre en dos fases: La primera fase o de activación se da en el rumen y es activada por una alta concentración de dióxido de carbono, ambiente reductor y temperatura de 39°C. La segunda fase o emergencia se desarrolla en el intestino delgado, por debajo de la desembocadura del conducto colédoco y es desencadenada por la bilis y el propio parásito. Tras el desenquistamiento las fasciolas jóvenes atraviesan la pared intestinal, pasan a la cavidad peritoneal y desde allí alcanzan el hígado. A las 90 horas comienzan la penetración de la cápsula de Glisson, en este momento, miden de 1 a 2 mm. Luego emigra por el parénquima hepático asentándose finalmente en los conductos biliares a partir de los 40 días, donde alcanzan la madurez sexual (Cordero *et al.*, 1999).

Algunas fasciolas se fecundan a sí mismas, transfiriendo el cirro los espermatozoides del vaso deferente a la abertura genital de los órganos femeninos del mismo individuo (autofecundación). Otras practican la fecundación cruzada, insertándose el cirro de un individuo dentro de la abertura genital del otro (Lapage, 1971). Los primeros huevos aparecen en las heces del hospedador a partir de 55 días post infección (Cordero *et al.*, 1999). En conejos, 56 días post infección experimental con metacercarias (Quispe, 2000).

Epidemiología

La fasciolosis es una enfermedad ampliamente distribuida en el mundo. Su frecuencia varía de una región a otra y entre los animales de un mismo rebaño según la edad (Quiroz, 2003). Sin embargo, los huevos inhiben su desarrollo por debajo de 10°C y por encima de 30°C y mueren cuando su humedad superficial desaparece (Nari y Fiel, 1995).

En un área determinada, para que se establezca la enfermedad, es necesaria la coincidencia del huésped intermediario y del definitivo, con temperaturas (mayores de 10°C) y humedad adecuadas para el desarrollo del miracidio y de los estadios larvales en el caracol. En manejos extensivos, debido a las características topográficas, se pueden identificar los ambientes en los potreros donde se dan las condiciones favorables para el desarrollo del caracol y donde puede haber gran disponibilidad de metacercarias (Fiel, 2005).

Patogenia y síntomas clínicos

La Fasciolosis hepática aguda y crónica está producida por diferentes estadios de *Fasciola hepatica* en el hígado. La forma aguda se puede presentar de 5-6 semanas post infección por la ingesta de gran cantidad de metacercarias ocurriendo una invasión rápida de fasciolas jóvenes en el hígado; lo cual ocasiona una destrucción del parénquima hepático que da lugar a una insuficiencia hepática aguda, hepatitis traumática hemorrágica aguda, hemorragia de la cavidad peritoneal, presencia de exudado serofibrinoso 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 anemia durante las 4 a 5 semanas de infestación (Quiroz, 2003).

La fasciolosis crónica se desarrolla lentamente debida a la actividad de las fasciolas adultas en los conductos biliares, estas producen colangitis hiperplástica, obstrucción biliar, destrucción del tejido hepático, fibrosis hepática y anemia (Quiroz, 2003). La presencia de pocas fasciolas exclusivamente en los conductos biliares, no provoca una manifestación importante, pero las infestaciones masivas causan enfermedades que son particularmente graves en los animales jóvenes, pudiendo morir

repentinamente por daño hepático o por invasión secundaria clostridial. Si el animal sobrevive a las lesiones, la regeneración de hígado se produce con producción de tejido fibroso nuevo, con distorsión del órgano por las múltiples cicatrices. En este estado puede aparecer anemia, debilidad, emaciación y edemas (submandibular, cuello, pecho y abdomen) (Fiel, 2005).

A la necropsia, los hallazgos son dependientes del número de parásitos y del tiempo de infección. Se pueden apreciar las marcas de perforación hepática, inflamación y focos hemorrágicos que muestran un cuadro de hepatitis aguda en infestaciones recientes. En casos crónicos, los animales están anémicos o caquéuticos, hay colecciones serosas en peritoneo y marcado engrosamiento de los conductos biliares del hígado con alteraciones cirróticas (Fiel, 2005).

Diagnóstico

El diagnóstico se puede realizar por observación de la sintomatología, la utilización de técnicas específicas (biopatológicas, parasitológicas e inmunológicas) y los hallazgos de necropsia (Cordero *et al.*, 1999). La técnica más utilizada es la parasitológica, utilizando el método de sedimentación, haciendo el recuento de huevos en la materia fecal (Nari y Fiel, 1995; Kassai, 2002). Los métodos de sedimentación se basan en la mayor densidad de los huevos de los trematodos que los detritus que se hallan en las heces, lo que permite concentrarlos en el sedimento tras repetidos lavados. La adición de un colorante de contraste al sedimento permite destacar el color amarillo dorado de los huevos (Cordero *et al.*, 1999). La técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel en bovinos tiene una sensibilidad de 93%, especificidad de 91% (Rojas *et al.*, 2013).

Control

La erradicación de *F. hepatica* de un establecimiento es inalcanzable. Pero sí es posible lograr un control de las poblaciones de parásitos. Los programas de control además de la utilización de drogas antihelmínticas, está basado en el manejo como medidas complementarias, destinadas a prever o limitar el contacto entre el parásito y su huésped definitivo o intermediario. Una estrategia integral de control debe tender a reducir el número de *F. hepatica* en el huésped definitivo, para disminuir la contaminación de los caracoles y evitar la coincidencia huésped-parásito utilizando medidas de manejo (Nari y Fiel, 1995).

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. El drenaje de las zonas encharcadas donde existen caracoles *Lymnea* puede ser el método más eficaz a largo plazo. La construcción de bebederos adecuados alejaría a los animales de las zonas húmedas. La rotación de pastos o de hospedadores con el fin de reducir el riesgo de infección (Cordero *et al.*, 1999).

Tratamiento

El tratamiento para la fasciolosis hepática tiene el objetivo de destruir a las fasciolas inmaduras en migración y a las fasciolas adultas que se localizan en los conductos biliares. Para este fin hay distintos productos como Clorsulón, Closantel, Nitroxinil, Triclabendazol, Rafoxanide entre otros (Merck *et al.*, 1988).

2.2.2 CLOSANTEL

Descripción

Su fórmula química es: N-[5-cloro-4-[(4-clorofenil)cianometil]-2-metilfenil]-2-hidroxi-3,5-diyodobenzamida (Adams, 2003).

Farmacocinética

El Closantel, se une en gran proporción al 99% a las proteínas del plasma, principalmente a la albumina, y tiene una prolongada vida media terminal de 14,5 días. Este perfil de persistencia se cree que aumenta la eficacia contra *Fasciola hepatica* cuando las formas recién maduras entran en el conducto biliar. El fármaco es excretado principalmente 80% en las heces y menos del 0,5% en la orina (Adams, 2003).

Farmacodinámica

El fármaco daña el tegumento del parásito, causando erosiones en las fasciolas adultas (Sumano y Ocampo, 2006). Bloquea las rutas energéticas, en especial por desacoplar la fosforilación oxidativa por aumentar la permeabilidad de las mitocondrias de los parásitos (Adams, 2003), causando graves trastornos en el metabolismo del parásito, que muere en uno o dos días. En las fasciolas sobrevivientes maduras o inmaduras produce un efecto atrófico que imposibilita sus funciones de crecimiento y reproducción (Sumano y Ocampo, 2006).

Indicaciones y eficacia

El Closantel, es principalmente un trematocida para las ovejas y el ganado vacuno. Su eficacia es de 100% contra las fasciolas adultas con un sola dosis de 10 mg/kg pv por vía oral y contra las

inmaduras el 85% de eficacia (Sumano y Ocampo, 2006; Adams, 2003).

Dosificación

En bovinos: 10 mg/kg pv por vía oral (Sumano y Ocampo, 2006).
En conejos es de 20 mg/kg pv, vía oral (Sumano y Ocampo, 2006; Basso *et al.*, 1987; Adams, 2003).

Toxicidad

En dosis cinco veces mayor que la terapéutica se observan signos de toxicosis (Sumano y Ocampo, 2006). No afecta los parámetros reproductivos, puede administrarse a hembras en cualquier etapa de gestación y en animales muy debilitados (Sumano, 1996; Adams, 2003; Sumano y Ocampo, 2006).

Periodo de retiro

El periodo mínimo de retiro es de 30 días entre la última administración, tanto para el consumo de leche y carne (Sumano, 1996).

2.2.3. PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO PARA EVALUAR EFICACIA DE *Fasciola hepatica* EN BOVINOS, referido por (Ueno y Gonçalves, 1998):

Prueba coprológica

Para realizar esta prueba en *Fasciola hepatica* en bovinos se recomienda usar entre 15-20 animales de un área contaminada para la aplicación del antihelmíntico y el mismo número como grupo control. La selección de los animales debe ser aquellos

que tienen mayor número de huevos por gramo de heces (hpg), determinados por los métodos de sedimentación.

Siete días antes o el mismo día de la administración del antihelmíntico, hacer un hpg, tanto del grupo a tratar como al grupo control. Cuatro o cinco semanas post dosificación, realizar un nuevo hpg.

La evaluación de la prueba coprológica es determinada por la comparación del número de huevos encontrados en las heces de los animales tratados, antes de la aplicación antihelmíntica y después de cuatro semanas de la dosificación.

Prueba de necropsia

Para la comprobación de eficacia de un antihelmíntico contra la fasciolosis se usa la técnica de necropsia, ya que sus resultados son más seguros, pero siempre debe tenerse en cuenta una alta infección artificial a los animales con metacercarias de *Fasciola* en igual número y los animales deben tener edades semejantes.

En el caso de fasciolosis bovina se necesita como mínimo un grupo de 6 animales tratados con antihelmíntico y un grupo de 6 animales grupo no tratado (control), todos los animales sometidos a las mismas condiciones de manejo y alimentación. Los animales deben colocarse en un lugar que garantice la no contaminación con el trematodo.

Después de aproximadamente 60 días post infección con metacercarias de *F. hepática*, comienzan aparecer los huevos de adultos. Siete a diez días después, se aplica el antihelmíntico a los animales del grupo a tratar, previamente debe de registrarse el hpg pre dosificación.

Entre 5-7 días pos dosificación, realizar el hpg diariamente hasta un día de la necropsia. Este control coprológico tiene la finalidad de observar la fluctuación de la producción de huevos.

Luego, hacer la necropsia para detectar los parásitos que pueden encontrarse en el hígado. Esto se hace para comprobar la acción antihelmíntica sobre las formas adultas y ver su acción letal de los parásitos.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización del trabajo de investigación

El presente trabajo de investigación se realizó en las instalaciones de animales menores (galpón de cuyes) de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Ciudad Universitaria (Anexo 1, Fig. 1) y en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca. Presenta las siguientes características geográficas y climatológicas (*):

Altitud	: 2 536 msnm
Latitud sur	: 7° 10'
Longitud Oeste	: 78°30'
Clima	: Templado seco
Temperatura promedio anual	: 15,6°C
Temperatura mínima promedio anual	: 8,3°C
Temperatura máxima promedio anual	: 22,6° C
Precipitación pluvial anual	: 522,8 mm
Humedad relativa promedio anual	: 63,9 %
Presión barométrica	: 740,5 milibares.

(*) Fuente: Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología SENAEMI, Cajamarca. 2016.

3.2. Materiales y equipos

3.2.1. Material biológico

Se utilizó 20 conejos positivos a *Fasciola hepatica*, mediante infección artificial, crianza en jaulas, condiciones similares de manejo y alimentación. Homogenizados con hpg entre grupos (Anexo 1, Fig. 2).

3.2.2. Material Farmacológico

Closantel al 10 %, Suspensión, vía oral.

3.2.3. Material de campo

- ✓ Mandil.
- ✓ Bolsas de polietileno.
- ✓ Jabón.
- ✓ Planilla para registro de datos.
- ✓ Bolígrafos.
- ✓ Cámara fotográfica.
- ✓ Lapiceros de tinta indeleble.
- ✓ Jaulas de fierro con malla metálica 2m de longitud x 0,70 m ancho x 0,50 m altura, dividido en cuatro divisiones con similar medida.
- ✓ Comederos de arcilla.
- ✓ Bebederos de polietileno.
- ✓ Alimento (concentrado, zanahoria y panca de choclo).
- ✓ Balde plástico de 20 litros de capacidad.
- ✓ Mantas de rafia para coleccionar muestra de heces.
- ✓ Balanza digital.
- ✓ Mascarillas.
- ✓ Bolsa de malla de pescador.

3.2.4. Material y equipo de laboratorio

- ✓ Mortero de madera.
- ✓ Balanza de precisión.
- ✓ Vasos plásticos de 400 mL de capacidad.
- ✓ Vasos de vidrio cónico de 250 mL de capacidad.
- ✓ Embudo con malla metálica de 80 hilos /pul.
- ✓ Placas Petri de 10 centímetros de diámetro, marcadas con líneas paralelas de 1 centímetro de separación.
- ✓ Estereoscopio con luz incorporada.
- ✓ Batidora eléctrica de uso doméstico.
- ✓ Estilete (aguja N° 22 x ½ pulg.).
- ✓ Lápiz de tinta indeleble.
- ✓ Baguetas y cucharitas.
- ✓ Guantes quirúrgicos.
- ✓ Mandil.
- ✓ Papel toalla.
- ✓ Lugol parasitológico fuerte (5 g yodo metálico + 10 g yoduro de potasio; en 100 mL de agua).
- ✓ Estuche de disección (tijera recta, mango y navaja de bisturí, pinzas diente ratón y de punta roma).
- ✓ Bandeja de porcelana color blanco.
- ✓ Tápers con tapa rosca circulares de 50 mL de capacidad.
- ✓ Placas Petri.
- ✓ Cuchillo.
- ✓ Frasco de boca ancha.
- ✓ Alcohol de 96°.

3.3. Metodología

La investigación tiene un diseño experimental, comparativo y analítico.

Pruebas de diagnóstico para la evaluación de la eficacia del Closantel frente a *Fasciola hepatica* en conejos:

La eficacia del Closantel frente a *F. hepatica* fue evaluada mediante la prueba de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel y la prueba por necropsia, en el día 15 post dosificación con Closantel 10% en dosis de 20 mg/kg de peso vivo. Estas pruebas fueron adaptadas del protocolo para bovinos que reporta (Ueno y Gonçalves, 1998); que a continuación se indica:

Prueba coprológica

Para llevar a cabo esta técnica, se utilizó la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel (Rojas *et al.*, 2013), que se fundamenta en la sedimentación de huevos en 1 g de heces. Para lo cual se obtuvo muestra de heces de cada conejo para determinar el número de huevos por gramo de heces (hpg).

Prueba por necropsia

Esta técnica se realizó sacrificando a los 10 conejos que conforman el grupo control y los 10 del grupo tratados. De cada animal se obtuvo el hígado para determinar cuantas fasciolas adultas se encontraron en los animales no dosificados (grupo control) y cuantas fasciolas en los hígados de los animales tratados con Closantel.

La investigación se desarrolló haciendo trabajo de campo y de laboratorio, de la siguiente manera:

3.3.1. Trabajo de campo

- ✓ Cada animal fue identificado por el color y código de jaula donde fueron alojados individualmente.
- ✓ La alimentación diaria fue a base de 125 g de concentrado para conejos más una zanahoria mediana y pancas de choclo, para asegurar la no reinfección parasitaria por *Fasciola hepatica*.
- ✓ En el día cero pre dosificación se obtuvo muestra de heces de cada animal (Anexo 1, Fig. 4) y después de obtener el hpg de cada animal se formó dos grupos homogéneos mediante hpg y sometida al análisis estadístico (Anexo 4, prueba T Student) donde no hubo diferencia significativa ($p>0,05$). Diez conejos formaron el grupo control (no dosificado), y diez el grupo dosificado con Closantel :

Tabla 01. Homogenización de carga parasitaria (hpg) en el día cero.

GRUPO CLOSANTEL			GRUPO CONTROL		
Animales (N°)	Código de jaula (N°)	hpg Día 0	Animales (N°)	Código de jaula (N°)	hpg Día 0
1	01	80	1	06	131
2	02	131	2	07	103
3	03	131	3	08	16
4	05	8	4	11	65
5	09	36	5	12	210
6	10	179	6	13	7
7	14	77	7	16	44
8	17	10	8	21	12
9	18	139	9	22	133
10	23	6	10	24	76
Total h.p.g.		797			797

$P > 0,05$

- ✓ En el día cero, se dosificó a los 10 animales que conformaron el grupo tratado con Closantel 10% en dosis de 20 mg/kg pv vía oral. Previamente los animales fueron pesados individualmente (Anexo 1, Figs. 3 y 5).
- ✓ Al día 15 post dosificación, se obtuvo muestra de heces de cada animal y se realizó la cuantificación de huevos por gramo de heces mediante la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel que en vacunos tiene una sensibilidad de 93% y una especificidad de 92% (Anexo 2, Figs. 6-12).

- ✓ El recojo de la muestra de heces fue por la mañana en aproximadamente 100 g, para esto, en la tarde del día anterior se colocó una manta debajo del piso de la jaula con malla metálica. Cada muestra fue almacenada en una bolsa de polietileno e identificada con su código de jaula de cada conejo con lapicero de tinta indeleble (Anexo 1, Fig.4).

Inmediatamente después, en este mismo día, se realizó la necropsia a todos los animales con la finalidad de obtener el hígado para coleccionar y contar el número de fasciolas adultas tanto del grupo control como del grupo tratado con Closantel (Anexo 2, Figs. 13 a 15).

3.3.2. Trabajo de laboratorio

En el laboratorio se realizó la prueba coprológica para determinar la eficacia de Closantel mediante la técnica de Sedimentación Natural modificada por Rojas y Torrel (Rojas *et al.*, 2013) y la prueba por necropsia mediante el conteo de fasciolas adultas.

Prueba coprológica

Técnica de Sedimentación Natural modificada por Rojas y Torrel (Rojas *et al.*, 2013).

Protocolo:

- ✓ A toda la muestra de heces (aproximadamente 100 g), en un mortero de madera desmenuzar unos 50 g y luego en un vaso de plástico de 400 mL de capacidad, pesar 1 g de heces.

- ✓ Agregar aproximadamente 200 mL de agua de caño, homogenizar la muestra con un agitador eléctrico (batidora de mano), por un tiempo aproximado de 10 segundos.
- ✓ Pasar por un embudo con malla metálica de 80 hilos por pulgada hacia otro vaso de vidrio de forma cónica de 250 mL de capacidad, agregar más agua de caño hasta llenar a 1 cm del borde del vaso.
- ✓ Dejar reposar por 5 minutos.
- ✓ Decantar el sobrenadante dejando aproximadamente 15 mL de sedimento en el vaso.
- ✓ Trasladar el sedimento a una placa petri con rayas paralelas a 10 mm de distancia entre ellas.
- ✓ Colocar 3 gotas de lugol fuerte, esperar 5 minutos para colorear los huevos.
- ✓ Observar el sedimento en el estereoscopio a 16 aumentos. Es necesario separar las fibras vegetales con un estilete (aguja N° 22 x ½ pulgada) para mejor observación.

Cálculo del hpg

Para la determinación del número de huevos por gramo de heces (hpg), se contó el número total de huevos encontrados en toda el área de la placa Petri.

Necropsia

Protocolo:

En el día 15 post dosificación, los 20 conejos fueron sacrificados, eviscerados con la finalidad de obtener el hígado, en este órgano se practicó cortes longitudinales en los conductos biliares para obtener las fasciolas adultas. Éstas, fueron colectadas, contadas y almacenadas en un tápers pequeño con tapa rosca conteniendo alcohol comercial de 96°.

3.3.3. Determinación de la eficacia del Closantel mediante la prueba coprológica (Técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel).

Los datos obtenidos de hpg grupo control y grupo dosificado con Closantel fueron sometidos al análisis mediante la aplicación de la fórmula que a continuación indica (Ueno y Gonçalves, 1998):

$$E = \frac{A - B}{A} \times 100$$

Donde:

E: Porcentaje de eficacia.

A: Número de huevos encontrados en el grupo control.

B: Número de huevos encontrados en el grupo tratado al día 15 post dosificación (p.d.).

3.3.4. Determinación de la eficacia del Closantel mediante la prueba por necropsia

La eficacia obtenida por necropsia fue calculada mediante la siguiente fórmula:

$$E = \frac{C - T}{C} \times 100$$

Donde:

E= Porcentaje de eficacia.

C= Promedio de fasciolas adultas en el grupo control.

T= Promedio de fasciolas adultas en el grupo tratado.

Fuente: (Kassai, 2002).

3.3.5. Registro de datos

Todos los datos obtenidos fueron registrados en un formato (Anexo 3, Cuadros 3 y 4).

3.3.6 Análisis estadístico (Anexo 4)

Se aplicó:

- ✓ Prueba de T Student de muestras independientes, para la homogenización de carga parasitaria medida en hpg en dos grupos de conejos positivos a *F. hepatica* (grupo Control y grupo Closantel), en el día cero de la dosificación con Closantel.
- ✓ Prueba Z de proporciones, para el resultado de eficacia del Closantel en el control de *F. hepatica* mediante prueba coprológica y prueba por necropsia.
- ✓ Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon, para comparar el resultado de eficacia del Closantel frente a *F. hepatica* mediante prueba coprológica y prueba por necropsia.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

Cuadro 1. Eficacia de Closantel 10% a dosis de 20 mg/kg pv en el control de *Fasciola hepatica* en conejos evaluada mediante la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel en el día 15 post dosificación (p.d.) Cajamarca, 2017

Nº Animales	Grupo control hpg día 15 p.d.	Grupo Closantel hpg día 15 p.d.
1	168	0
2	286	1
3	68	1
4	184	0
5	206	0
6	14	0
7	85	0
8	7	0
9	99	0
10	89	0
Total:	1206	2
Eficacia:		99,83%

Cuadro 2. Eficacia de Closantel 10% a dosis de 20 mg/kg pv en el control de *Fasciola hepatica* en conejos evaluada mediante la prueba por necropsia, día 15 post dosificación. Cajamarca, 2017

Animales (N°)	Grupo control Fasciolas adultas (N°)	Grupo Closantel Fasciolas adultas (N°)
1	6	0
2	10	0
3	3	0
4	4	0
5	3	0
6	1	0
7	2	0
8	1	0
9	3	0
10	3	0
Total:	36	0
Promedio:	3,6	0
Eficacia:		100%

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en la presente investigación muestran que la eficacia del Closantel en el control de *Fasciola hepatica* en conejos obtenida mediante la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel fue de 99,83% y mediante la necropsia fue de 100% (Cuadros 1 y 2), estadísticamente no hay diferencia significativa ($p > 0,05$), lo cual indica que ambas pruebas de evaluación de eficacia de un fasciolicida en conejos son similares y probablemente también ocurra en otras especies animales. Esto se debe a que la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel tiene una alta sensibilidad (93%) y una alta especificidad (92%) en bovinos (Rojas *et al*, 2013). En los conejos evaluados en esta investigación, todos los que dieron positivos a la presencia de huevos también salieron positivos a la presencia de fasciolas adultas en el grupo control (no dosificados), sin embargo, de los 10 conejos que formaron el grupo tratado con Closantel, dos conejos salieron positivos a la presencia de huevos en heces (1 hpg), pero, en la necropsia resultó con ausencia de fasciolas adultas en conductos biliares y al evaluar la bilis en la vesícula biliar aún habían huevos de *F. hepatica*, pero infértiles a la incubación *in vitro*, esto nos hace pensar que para evaluar un fasciolicida post dosificación debería transcurrir entre cuatro a cinco semanas como lo indica (Ueno y Gonçalves, 1998).

Nuestro resultado concuerda con (Coles *et al.*, 1992), quienes indican que de los métodos *in vivo* para determinar la eficacia antihelmíntica, la prueba de elección es la prueba coprológica por sedimentación por ser económica, práctica y no necesitar de un equipamiento sofisticado y también concuerda con (Suárez, 1997; Cristel y Suárez, 2005), quienes mencionan que la

prueba por necropsia es el método in vivo más confiable para determinar la eficacia de un fasciolicida, pero presenta dificultades por su alto costo al sacrificar animales.

En cuanto a la eficacia del Closantel en el control de *F. hepatica* en conejos, no se tiene información; tampoco se tiene reportes acerca de la comparación de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel comparada a la necropsia. Por tanto, no es posible continuar analizando nuestros resultados debido a que este tema investigación aún es escasa.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

Se concluye que:

La eficacia del Closantel en el control de *Fasciola hepatica* en conejos fue muy alta, 99,83% obtenida mediante técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel y de 100% obtenida mediante necropsia, y que al ser comparadas ambas pruebas de diagnóstico en la eficacia del Closantel en conejos resultaron ser iguales estadísticamente ($p>0,05$).

CAPÍTULO VII

LISTA DE REFERENCIAS

- Adams, H. 2003. Farmacología y terapéutica veterinaria, 2ªedición, editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. pp1012-1055.
- Cabaret, J., Berrag, V. 2004. Faecal egg count reduction test for assessing antihelmintic efficacy: average versus individually based estimations. Vet. Parasitol. 121, 105-113.
- Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15110408>. Consultado el 10 de abril de 2017.
- Coles, G., Bauer, C., Borgsteede, B., Geerts, S., Klei, T., Taylor, M., Waller, P. 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. Vet. Parasitol. 44: 35-44. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1441190>. Consultado el 10 abril 2017.
- Cordero, M., Rojo, F., Martínez, A., Sánchez, M., Hernández, S., Navarrete, I., Diez, P., Quiroz, H., Carvalho, M. 1999. Parasitología Veterinaria, 1a Edición, Editorial Mcgraw-Hill-Inteamericana. Madrid, España. pp113-271.
- Cristel, S., Suárez, V. 2006. Resistencia antihelmíntica: Evaluación de la prueba de reducción del conteo de huevos INTA, Argentina. Disponible: <http://www.biblioteca.org.ar/libros/210567.pdf>. Consultado el 20 de abril 2017.

- Cusma, A. 1982. Estudio preliminar de la incidencia de distomatosis hepática en conejos (*Oryctolagus cuniculus*) en la campiña de Cajamarca. Tesis para optar el título profesional de Médico Veterinario, Universidad Nacional de Cajamarca, Cajamarca. Perú. 65pp.
- Fiel, C. 2005. Manual técnico: Antiparasitarios internos y endectocidas de bovinos y ovinos. Argentina. Disponible en http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/parasitarias/parasitarias_bovinos/65-manual_tecnico.pdf. Consultado el 15 abril 2017.
- Kassai, T. 2002. Helmintología Veterinaria, 1ª Edición. Editorial Acribia S.A., Zaragoza-España. pp51, 147-159.
- Lapage, G. 1971. Parasitología Veterinaria, 1ª Edición. Editorial Compañía Editorial Continental, S.A. México. pp235-245.
- Lebas, F., Coudert, P., De Rochambeau, H., Thébault, R. 1996. El conejo, cría y patología. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), Roma. Italia. 269pp. Disponible: <http://www.fao.org/docrep/014/t1690s/t1690s.pdf>.
- Merck, C., Amstutz, H., Archibald, J., Armour, J., Blood, D., Newberne, P., Snoeyenbos, G. 1988. El Manual Merck de Veterinaria: Un manual de diagnóstico, tratamiento, prevención y control de las enfermedades, para el veterinario. 3ª Edición. Editorial Centrum. Madrid-España. pp245-246.
- Nari, A. y Fiel, C. 1995. Enfermedades Parasitarias de importancia económica en Bovinos: Bases epidemiológicas para su prevención y control. Edit. Hemisferio Sur, Montevideo – Uruguay. pp233-252. Consultado 15 de abril 2017.

Olaechea, F. 2004. Comunicación Técnica N° 449 Área producción animal - *Fasciola hepatica*; Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, argentina 2004. Disponible:

<http://helminto.inta.gob.ar/Fasciola/FASCIOLA%20HEPATICA%20Fermi%20Olaechea.pdf>. Consultado el 28 abril 2017.

Ortiz, P., Scarcella, S., Cerna, C., Rosales, C., Cabrera, M., Guzmán, M., Lamenza, P., Solana, H. 2013. Resistencia de *Fasciola hepatica* contra Triclabendazol en bovinos en Cajamarca (Perú): Ensayo clínico y prueba de eficacia in vivo en ovinos. *Veterinary Parasitology* 195 (2013) 118–12. Buenos Aires, Argentina.

Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23352107>. Consultado el 12 de abril del 2017.

Quiroz, H. 2003. Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos. Editorial Limusa S.A., México. pp232-251.

Quispe, W. 2000. Inmunogenicidad de antígenos de excreción-secreción de *Fasciola hepatica* en conejos. Tesis para optar el Grado Académico de Maestro en Ciencias. Escuela de Post Grado de la Universidad Nacional de Cajamarca. Cajamarca, Perú. 102pp.

Rojas, J., Ruiz, J., Bazauri, J. 2016. Magnitud de comisos y pérdidas económicas por casos de helmintosis en vísceras y carcasas de animales de abasto en el matadero municipal de Cajamarca. Perú, 2014. Resúmenes del XXII Congreso Nacional de Ciencias Veterinarias. Huánuco. Perú.

- Rojas, J., Torrel, S. y Raico, M. 2013. Validación de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel en el diagnóstico de fasciolosis crónica en bovinos, Cajamarca. Perú". (Resúmenes de la XXIII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal (ALPA) y IV Congreso Internacional de Producción Animal. La Habana- Cuba, 2013).
- Soulsby, E. 1987. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos, 7ª edición, editorial Interamericana, México. pp37-48, 185-254.
- Suárez, V. 1997. Diagnóstico de las parasitosis internas de los rumiantes en la región de invernada. Interpretación y técnicas. Boletín de divulgación técnica N° 56. URISA INTA Anguil. Argentina. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/864/86435303.pdf>. Consultado el 8 de abril del 2017.
- Sumano, H. 1996. Farmacología Clínica en Bovinos. Primera edición. Editorial Trillas, México. pp139-140.
- Sumano, H. y Ocampo, L. 2006. Farmacología Veterinaria. 3ª edición, Edit. MC Graw-Hill Interamericana. México. pp452,497.
- Torrel, T., Rojas, J., Vera, Y., Huamán, O., Plasencia, O., Oblitas, I. 2015. Prevalencia de paranfistomidosis y fasciolosis en ganado bovino lechero del valle de Cajamarca-Perú. Resúmenes del XXIV Congreso de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal (ALPA) y XL Congreso de la Sociedad Chilena de Producción Animal Sochipa. A.G. Puerto Varas - Chile. p993.
- Ueno, H. y Gonçalves, P. 1998. Manual para el diagnóstico de los helmintos de Rumintes, 4ª Edición, Edit. Japan Internacional Cooperation Agency (JICA), Tokio, Japan. 143p.

Urquhart, G., Armour, J., Duncan, J., Dunn, A., Jennings, F. 2001. Parasitología Veterinaria, 2ª edición, Edit. Acribia, S.A. Zaragoza, España. pp117-128.

ANEXO

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



Fig. 1. Galpón de cuyes- Facultad de CC. Vet.



Fig. 2. Material biológico: 20 conejos criados en jaulas



Fig. 3. Pesando conejos con balanza digital



Fig. 4. Obtención muestra de heces



Fig. 5. Dosificación

Anexo 2. Metodología en laboratorio: Prueba coprológica y necropsia

Fig. 6. Triturando las heces



Fig. 7. Pesando 1 g de heces



Fig. 8. Batiendo las heces en el agua



Fig. 9. Filtrando la muestra batida



Fig. 10. Sedimentación de las muestras



Fig. 11. Colocando lugol fuerte



Fig. 12. Realizando el diagnóstico



Fig. 13. Apertura del abdomen

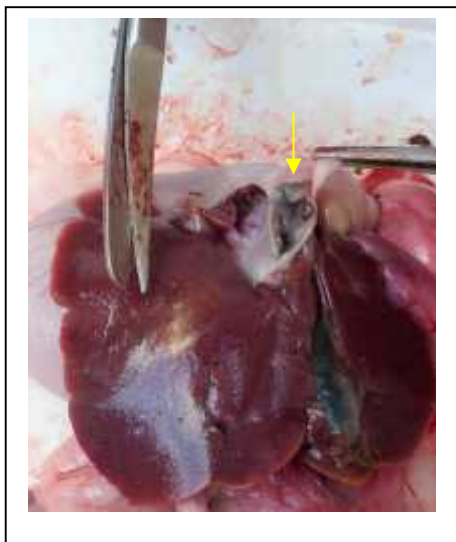


Fig. 14. Fasciolas adultas en conducto biliar en grupo control



Fig. 15. Ausencia de Fasc. adultas en conducto biliar en grupo tratado con Closantel

Anexo 3. Registro de datos obtenidos

Cuadro 3. Datos obtenidos del grupo Control

Muestra (N°)	Código de jaula (N°)	Día 0 Pre dosif. (hpg)	Día 15 post dosif. (hpg)	Fasciolas adultas obtenidas en necropsia (N°)	Peso Vivo (kg)	Dosis (mL)
1	06	131	168	6	3.06	No
2	07	103	286	10	3.02	No
3	08	16	68	3	3.15	No
4	11	65	184	4	3.48	No
5	12	210	206	3	3.33	No
6	13	7	14	1	3.43	No
7	16	44	85	2	3.68	No
8	21	12	7	1	3.93	No
9	22	133	99	3	3.46	No
10	24	76	89	3	3.46	No
	Total HPG	797	1206	36		

Cuadro 4. Datos obtenidos del grupo tratados con Closantel 10% en dosis de 20 mg/kgpv. Grupo Closantel

Muestra (N°)	Código de jaula (N°)	Día 0 Pre dosif. (hpg)	Día 15 post dosif. (hpg)	Fasciolas adultas obtenidas en necropsia (N°)	Peso (kg)	Dosis (mL)
1	01	80	0	0	3.56	0.7
2	02	131	1	0	3.00	0.6
3	03	131	1	0	3.17	0.7
4	04	8	0	0	2.76	0.6
5	05	36	0	0	3.37	0.7
6	09	179	0	0	3.52	0.7
7	10	77	0	0	3.82	0.8
8	17	10	0	0	2.74	0.6
9	18	139	0	0	3.24	0.7
10	23	6	0	0	2.72	0.6
		797	2	0		

Anexo 4. Análisis estadístico

- ❖ Prueba de T Student de muestras independientes para la homogenización de huevos por gramo de heces (hpg) pre dosificación en el grupo Control y grupo tratado con Closantel (día cero).

Formulación de hipótesis:

Ho: El número de hpg en el día cero en conejos infestados con metacercaria de *F. hepatica* son similares en ambos grupos (Grupo Control y grupo Closantel).

Ha: El número de hpg en el día cero en conejos infestados con metacercaria de *F. hepatica* no son similares en ambos grupos (Grupo Control y grupo Closantel).

Nivel de significancia 5% = 0,05

	Grupos	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
h.p.g.	Grupo Control	10	79,70	65,34022	20,66239
	Grupo Closantel	10	79,70	63,23510	19,99669

Prueba de muestras independientes

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias							
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia		
								Inferior	Superior	
hpg	0,00	0,966	0,000	18,00	1,000	0,000	28,754	-60,410	60,410	
	2			0						
			0,000	17,98	1,000	0,000	28,754	-60,415	60,415	
				1						

Interpretación: El nivel de significancia (1,0) es mayor a 0,05 entonces nos quedamos con la hipótesis nula es decir que el número de huevos por gramo de heces (hpg) en el día cero en conejos infectados experimentalmente con metacercarias de *Fasciola hepatica* son similares en ambos grupos (Control y tratados con Closantel).

- ❖ Prueba de Z para los resultados de la eficacia del Closantel 10% en dosis de 20 mg/kg pv frente a *F. hepatica* en conejos, mediante la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel.

Hipótesis

Ho: La Eficacia del Closantel al 10% en dosis de 20 mg/kg de peso corporal en conejos afectados con *F. hepatica*, es igual o mayor al 95% expresada a través de la prueba Coprológica (técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel).

Ha: La Eficacia del Closantel al 10% en dosis de 20 mg/kg de peso corporal en conejos afectados con *F. hepatica*, es menor al 95% expresada a través de la prueba Coprológica (técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel).

Ho 0.95

Ha<0.95

$$Z = \frac{\frac{x}{n} - p_0}{\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}}$$

Donde

X = Ocurrencias

n = observaciones

$\frac{x}{n}$ = proporción de la muestra

p_0 = proporción propuesta

$\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}$ = desviación estándar de la proporción

Reemplazando:

$$Z = \frac{0.9983 - 0.95}{\sqrt{\frac{0.95(0.05)}{1206}}} = 7,70$$

Interpretación: El valor de Z (7,70) es mayor a -1,96 entonces aceptamos la hipótesis nula en lo concluimos que la eficacia del Closantel al 10% en dosis de 20 mg/kg de peso corporal en conejos afectados con *Fasciola hepatica*, es igual o mayor al 95% expresada a través de la prueba Coprológica (Técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel).

- ❖ Prueba de Z para los resultados de la eficacia del Closantel 10% en dosis de 20 mg/kg pv frente a *F. hepatica* en conejos, mediante la prueba por necropsia.

Hipótesis:

Ho: La Eficacia del Closantel al 10% en dosis de 20 mg/kg de peso corporal en conejos afectados con *F. hepatica*, es igual o mayor al 95% expresada a través de la Necropsia.

Ha: La Eficacia del Closantel al 10% en dosis de 20 mg/kg de peso corporal en conejos afectados con *F. hepatica*, es menor al 95% expresada a través de la necropsia.

Ho 0.95

Ha<0.95

$$Z = \frac{\frac{x}{n} - p_0}{\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}}$$

Donde

X = Ocurrencias

n = observaciones

$\frac{x}{n}$ = proporción de la muestra

p_0 = proporción propuesta

$\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}$ = desviación estándar de la proporción

Reemplazando

$$Z = \frac{1-0.95}{\sqrt{\frac{0.95(0.05)}{36}}} = 1,370$$

Interpretación: El valor de Z (1,37) es mayor a -1,96 entonces aceptamos la hipótesis nula en lo concluimos que la eficacia del Closantel al 10% en dosis de 20 mg/kg de peso corporal en conejos infectados con *Fasciola hepatica* experimentalmente, es igual o mayor al 95% expresada a través de la necropsia.

- ❖ Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon para comparar el recuento de huevos por gramo de heces mediante la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel (Prueba coprológica) versus conteo de fasciolas adultas obtenidas mediante la necropsia.

Hipótesis:

Hipótesis planteada. La eficacia del Closantel 10% en dosis de 20 mg/kg pv en conejos, obtenida mediante la prueba coprológica, es igual a la eficacia obtenida mediante necropsia.

Hipótesis alternativa. La eficacia del Closantel 10% en dosis de 20 mg/kg pv en conejos, obtenida mediante la prueba coprológica, es diferente a la eficacia obtenida mediante necropsia.

Nivel de significancia: 5% = 0,05

Elección de la prueba Wilcoxon

Toma de decisión: $p > 0,05$ entonces rechazamos la hipótesis nula y nos quedamos con la hipótesis del investigador.

		Rangos		
		N	Rango promedio	Suma de rangos
Necropsia - Conteo de Huevos	Rangos negativos	0 ^a	0,00	0,00
	Rangos positivos	2 ^b	1,50	3,00
	Empates	58 ^c		
	Total	60		

a. Necropsia < Conteo de Huevos

b. Necropsia > Conteo de Huevos

c. Necropsia = Conteo de Huevos

Estadísticos de contraste

	Necropsia - Conteo de Huevos
Z	-1,342 ^a
Sig. asintót. (bilateral)	0,180

- a. Basado en los rangos negativos.
- b. Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon

Interpretación: El nivel de significancia (0,18) es mayor a 0,05 entonces nos quedamos con la hipótesis nula es decir que el método para el diagnóstico de la eficacia del Closantel al 10% mediante el conteo de huevos es la misma que el método de la necropsia.