

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



**SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD Y VALORES
PREDICTIVOS DE LA TÉCNICA DE SEDIMENTACIÓN
NATURAL MODIFICADA POR ROJAS Y TORREL, EN EL
DIAGNÓSTICO DE FASCIOSIS CRÓNICA EN OVINOS
(*Ovis aries*) CAJAMARCA, 2014**

T E S I S

Para optar el Título Profesional de:

MÉDICO VETERINARIO

Presentada por el Bachiller

ROBER NAVARRO CARDOZO

Asesor

M.C.s. M.V. Juan de Dios Rojas Moncada

CAJAMARCA – PERÚ

2014

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



**SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD Y VALORES
PREDICTIVOS DE LA TÉCNICA DE SEDIMENTACIÓN
NATURAL MODIFICADA POR ROJAS Y TORREL, EN EL
DIAGNÓSTICO DE FASCIOSIS CRÓNICA EN OVINOS (*Ovis
aries*) CAJAMARCA, 2014**

TESIS

Para optar el Título Profesional de
MÉDICO VETERINARIO

Presentada por el Bachiller
ROBER NAVARRO CARDOZO

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

CAJAMARCA - PERÚ
2014



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Cajamarca, siendo las diez de la mañana del día doce de diciembre del dos mil catorce, 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 “**SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD Y VALORES PREDICTIVOS DE LA TÉCNICA DE SEDIMENTACIÓN NATURAL MODIFICADA POR ROJAS Y TORREL, EN EL DIAGNÓSTICO DE FASCIOSIS CRÓNICA EN OVINOS (*Ovis aries*), CAJAMARCA 2014**”, presentada por el Bachiller en Medicina Veterinaria: **Rober Navarro Cardozo**.

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 veinte minutos del mismo día, el Presidente del Jurado Calificador dio por concluido el proceso de sustentación.


Dr. TEÓFILO SEVERINO TORREL PAJARES
PRESIDENTE


M.Sc. M.V. MARÍA MANUELA CABRERA NÚÑEZ
SECRETARIO


M.Sc. M.V. JAIME MEGO SILVA
VOCAL

DEDICATORIA

A Dios, por guiarme en mi proyecto de vida tanto personal como profesional.

A mis padres: Liborio y Felícita, por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional.

A mis hermanos: Mérida, Josué, Álex, que hicieron todo lo posible para que yo culmine mi carrera profesional.

EL AUTOR

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de Cajamarca, Facultad de Ciencias Veterinarias, por brindarme facilidades de estudio, en el objetivo de un ideal de superación y alcanzar un Título Profesional.

Al M.Cs. M.V. Juan de Dios Rojas Moncada, por su orientación como asesor y amigo, por su entusiasmo y dedicación en este trabajo de investigación.

A los trabajadores del Camal Municipal Provincial de Cajamarca, por facilitarnos realizar la presente investigación.

A los Médicos Veterinarios Jorge Bazauri Condori y Karina Sánchez Iglesias, por su apoyo permanente y su noble amistad.

A mis profesores y compañeros de estudio, porque al compartir las aulas hicieron sentirme importante.

A todos mis amigos que de una u otra manera contribuyeron en el trabajo de tesis.

EL AUTOR

RESUMEN

Con la finalidad de validar la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel en el diagnóstico de fasciolosis crónica en ovinos, se realizó la investigación en el Camal Municipal Provincial de Cajamarca y en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Cajamarca, entre agosto y setiembre del 2014. Se utilizaron 362 ovinos de diferente edad y sexo, de cada animal al momento de la evisceración se extrajo muestra de heces del recto en aproximadamente 20 g e hígado para examinarlo y confirmar la presencia o ausencia de *Fasciola hepatica* adulta en canalículos biliares. La necropsia fue la prueba confirmatoria. Los resultados de diagnóstico coproparasitológico y necropsia fueron analizados mediante una tabla de contingencia 2 x 2, la sensibilidad, especificidad y valores predictivos se calcularon aplicando sus respectivas fórmulas. En los resultados se determinó una sensibilidad de 79%, especificidad 83%, valor predictivo positivo 90% y valor predictivo negativo 66%. Se concluye que la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel es una técnica eficiente en el diagnóstico de fasciolosis crónica en ovinos causada por *Fasciola hepatica*.

Palabras clave: Especificidad, fasciolosis, sedimentación, sensibilidad.

ABSTRACT

In order to validate the technique of natural sedimentation modified by Rojas and Torrel in the diagnosis of chronic fasciolosis in sheep, the research was undertaken in the Provincial Municipal slaughter house of Cajamarca and in the parasitology laboratory of the Faculty of veterinary science, Universidad Nacional de Cajamarca, between August and September of 2014. Used 362 sheep of different age and sex of each animal at the time of evisceration was extracted sample of stool from the rectum in approximately 20 g and liver for examination and confirm the presence or absence of *Fasciola hepatica* in bile canaliculi. The necropsy was the confirmatory test. Diagnostic stool and necropsy results were analyzed using a sensitivity 2 x 2 contingency table, specificity and predictive values were calculated by applying their respective formulas. The results determined a sensitivity of 79%, specificity of 83%, positive predictive value 90% and 66% negative predictive value. It is concluded that the technique of natural sedimentation by Rojas and Torrel located is an efficient technique in the diagnosis of chronic fasciolosis in sheep caused by *Fasciola hepatica*.

Key words: Sedimentation, sensitivity, specificity, fasciolosis.

ÍNDICE

Pág.

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

RESUMEN

ABSTRACT

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivos.....	3
CAPÍTULO II	4
MARCO TEÓRICO	4
2.1. Antecedentes de la investigación	4
2.2. Base teórica	5
2.2.1. Fasciolosis	5
2.2.2. Detección de huevos de trematodos en heces	12

2.2.2.1. Técnica de Denis, Stone e Swanson	12
2.2.2.2. Técnica de sedimentación natural	14
2.2.2.3. Técnica de sedimentación modificada.....	15
2.2.2.4. Técnica de sedimentación rápida modificada por Lumbreras	16
2.2.2.5. Técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel	17
2.2.3. Indicadores de validación	18
CAPÍTULO III	20
MATERIALES Y MÉTODOS	20
3.1. Localización del trabajo de investigación.....	20
3.2. Material y equipo	21
3.2.1. Material biológico.....	21
3.2.2. Material de campo.....	21
3.2.3. Material y equipo de laboratorio.....	21
3.3. Metodología	22
3.3.1. Determinación del número muestral	22
3.3.2. Trabajo de campo	23
3.3.4. Trabajo de laboratorio	23
3.4. Análisis estadístico.....	24
CAPÍTULO IV	27
RESULTADOS	27
CAPÍTULO V	29
DISCUSIÓN	29

CAPÍTULO VI	32
CONCLUSIONES	32
CAPÍTULO VII	33
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	33
ANEXO	36
Anexo 1. Figuras que registran la ubicación del trabajo de tesis y la metodología utilizada en campo.....	37
Figura 1. Localización del trabajo de tesis (instalaciones del camal municipal provincial de Cajamarca).....	37
Figura 2. Material biológico (sacrificando ovinos)	37
Anexo 2. Material y equipo de laboratorio	38
Figura 3. Mostrando los materiales equipos de la técnica en evaluación.....	38
Anexo 3. Trabajo de campo (camal)	39
Figura 4. Extrayendo muestra de heces del recto.....	39
Figura 5. Marcando con bisturí el código de la muestra del hígado para su revisión.....	39
Figura 6. Mostrando una <i>Fasciola</i> adulta en conducto biliar de hígado de ovino	40
Anexo 4. Figuras que registran el equipo y protocolo de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel en trabajo de laboratorio	41
Figura 7. Codificando las muestras para trabajo de laboratorio	41
Figura 8. Triturando las heces en mortero.....	41
Figura 9. Pesando 1 g de heces	42
Figura 10. Homogenizando 1g de heces en agua con batidora eléctrica.....	42

Figura 11. Filtrando la mezcla en el embudo tamiz de 80 hilos/pul	43
Figura 12. Sedimentación y decantación.....	43
Figura 13. Teñido con lugol fuerte y vaciando el sedimento en placa Petri	44
Figura 14. Realizando el diagnóstico coproparasitológico de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel	44
Anexo 5. Análisis estadístico: Análisis de resultados en la tabla de contingencia 2x2, cálculo de indicadores de validación y aplicación de la prueba "Z" para contrastar la hipótesis.....	45
Tabla de contingencia 2x2	45
Cuadro 1. Análisis de los resultados de diagnóstico coproparasitológico y necropsia en la tabla de contingencia 2x2.....	46
Cálculo de la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo., y prueba de "Z" para contrastar la hipótesis.....	59

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La Fasciolosis es una de las parasitosis más difundidas e importantes del ganado en el mundo. Es una inflamación del hígado y de los conductos biliares, con frecuencia de carácter crónico y acompañada de trastornos nutritivos; siendo el agente causal *Fasciola hepatica*, que afecta a numerosos mamíferos, tanto domésticos como silvestres; los animales afectados son las ovejas, cabras, vacas, asnos, caballos, cerdos, conejos, liebres, etc. y aun el hombre (Cordero y col., 1999).

En Cajamarca, la fasciolosis es considerada como un gran problema sanitario para el desarrollo de la actividad ganadera; estimándose en los centros de beneficio una prevalencia en ovinos de 45,20 % a nivel regional y de 46,30 % en la provincia Cajamarca. Su mayor importancia radica en el impacto económico directo, que está vinculado al decomiso del hígado en los animales que se benefician en los camales, sobre todo en lugares alto andinas del Perú y Cajamarca es uno de ellos; y entre otras pérdidas difíciles de cuantificarlas, está relacionado a la disminución de parámetros productivos como leche, carne y lana y además los costos que se producen en la compra de fasciolicidas (Rojas y Palacios, 2009).

En el Perú, *Fasciola hepatica* ocasiona pérdidas económicas que se ubica como la segunda en importancia desde el punto de vista parasitario, con una pérdida relativa de 10,5 millones de dólares anuales, de los cuales 3,5 corresponden a mortalidad, 2,8 a carne, 2,2 a leche y 0,3 a lana; y 1,7 millones a decomiso de hígados infectados (Zaldivar, 1990). En Cajamarca, por decomisos de hígados anualmente se pierde alrededor de 231 mil

dólares en la Región, de los cuales el 16% corresponde a ovinos (Rojas y Palacios, 2009).

El diagnóstico de la fasciolosis puede realizarse mediante la observación de la sintomatología, la utilización de técnicas específicas (biopatológicas, parasitológicas e inmunológicas) y los hallazgos de necropsia (Cordero y col., 1999); siendo el método más difundido el recuento de huevos en la materia fecal mediante la prueba de sedimentación (Nari y Fiel, 2001; Kassai, 2002). El diagnóstico se confirma por el hallazgo de huevos en las heces (Soulsby, 1987).

Los métodos de sedimentación son los que más se utilizan por su sencillez en el diagnóstico de la fasciolosis crónica. Sin embargo, a pesar de existir varias técnicas de sedimentación, escasamente reportan su validación como sensibilidad, especificidad y valores predictivos. Entre escasos reportes encontramos a Quiroz (2011) quien menciona que en ovinos la efectividad de la técnica de sedimentación alcanza el 62% en un solo examen, con una serie de tres, aumenta a 97%. En Cajamarca y otros lugares alto andinos de Perú habiendo zonas endémicas de la fasciolosis no se cuenta con una técnica de sedimentación validada para el diagnóstico en ovinos; por tal motivo, con el presente trabajo de investigación proponemos validar mediante la determinación de la sensibilidad, especificidad y valores predictivos de la técnica de sedimentación natural modificad por Rojas y Torrel que se utiliza en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Cajamarca.

- **OBJETIVOS**

Objetivo general

Evaluar la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel, en el diagnóstico de fasciolosis crónica en ovinos comparada a la necropsia.

Objetivo específico

Determinar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel en el diagnóstico de la fasciolosis crónica en ovinos.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

El método de sedimentación para el diagnóstico de fasciolosis crónica en 5 g de heces, en un solo examen, en bovinos tiene una efectividad del orden del 70%, en ovinos es de 62%; con una serie de tres, aumenta a 93% en bovinos y 97% en ovinos. La forma directa para la identificación y cuantificación de huevos de *F. hepatica* no es posible hasta tres meses post infección, es decir, estén en periodo patente, también debe considerarse que hay una variación entre las diferentes horas del día entre 5% y 10%; dando lugar a falsos negativos; finalmente. Además, se ha observado que al examinar una sola muestra de heces de un rebaño con 100% de fasciolosis, únicamente del 60% al 70% dan resultados positivos, pero si se repiten los negativos, con tres se tiene del 93% - 95% y al cabo de 7 a 8 exámenes, el 100% (Quiroz, 2011).

El método de sedimentación de Dennis, Stone, Swanson modificado por Bazán tiene una sensibilidad de 38,61% en caprinos y 88,63% en porcinos y una especificidad de 100% para ambas especies (Pacheco, 1995). Del mismo modo, en otra investigación se evaluó el método de sedimentación de Dennis, Stone, Swanson modificado por Bazán, en bovinos, confirmando a la necropsia a la presencia de fasciolas adultas en canalículos biliares, se utilizó 3 g de heces, tres decantaciones. Se determinó una sensibilidad de 79.80% y una especificidad 100% (Paredes, 1997). Sin embargo, en una reciente investigación se determinó que la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas

y Torrel, utilizando 1 g de heces, una sola decantación, empleo de batidora eléctrica para homogenizar la muestra; tuvo una sensibilidad de 93%, especificidad de 91%, valor predictivo positivo 96% y valor predictivo negativo de 86% (Rojas, Torrel y Raico, 2013).

2.2 BASE TEÓRICA

2.2.1. FASCIOSIS

- **Definición.** La fasciolosis es una inflamación del hígado y de los conductos biliares, con frecuencia de carácter crónico y acompañado de trastornos nutritivos (Cordero y col.,1999). Es la enfermedad más común y de mayor importancia en el mundo en los animales domésticos, causada por un tremátodo llamado *Fasciola hepatica*. Los bovinos y ovinos son los más afectados. Este parásito, existe en casi todas las regiones tropicales y subtropicales del mundo. La forma de contaminación se inicia cuando los animales lo ingieren durante el pastoreo dado que el pasto contiene metacercaria enquistada, la cual rompe su quiste, penetra en la pared del intestino delgado del animal y emigra a través de la cavidad peritoneal hasta penetrar en la cápsula hepática, en los primeros cuatro días posteriores a la infección tanto las formas maduras como las inmaduras dañan el hígado del huésped. Durante las siguientes semanas, la metacercaria atraviesa el hígado, se alimenta y crece rápidamente. Su presencia es evidente por el daño causado al huésped al producir hemorragias por la rotura de tejidos, que son de leves hasta graves, y puede generar signos clínicos de fasciolosis aguda entre seis y ocho semanas después de la infección las fasciolas empiezan a invadir los principales conductos biliares, en donde alcanzan su maduración sexual que se da en

aproximadamente 10 a 12 semanas luego de la infección (Sumano y Ocampo, 1997).

- **Sinonimia.** Distomatosis hepática, Palomilla o Conchuela del hígado picado, hígado podrido, mal de botella, Fasciolosis (Quiroz, 2011); también se lo conoce como alicuya, gusano del hígado, duela del hígado, jallo jallo, ccallutaca, distoma, saguaype, babosa y lenguasa (Leguía, 1991).
- **Etiología.** La *Fasciola hepatica*, es un helminto hermafrodita de cuerpo ancho y aplanado dorsoventralmente (Cordero y col., 1999).
- **Taxonomía.** Pertenece al Phylum Platyhelminthes, Clase Trematoda, Sub clase Digenea, Familia Fasciolidae, Género *Fasciola*, especie *hepatica* (Soulsby, 1987).
- **Morfología.** El parásito adulto tiene una longitud de 18–50 mm x 4-14 mm de ancho, el cuerpo es aplanado dorsoventralmente de forma foliácea, ancha anteriormente formando un cono posterior (Quiroz, 2011). El tegumento está cubierto por espinas proyectadas hacia atrás (Urquhart y col., 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 y col., 1999). Los huevos son ovalados, operculados, amarillos y grandes; miden de 130 a 150 por 63 a 90 micras; su cáscara

es relativamente delgada (Urquhart, y col., 2001). Su núcleo descentralizado (Ueno y Gonçalves, 1998).

- **Ciclo de vida.** En su ciclo biológico pueden reconocerse por lo menos cuatro subpoblaciones, con la intervención de dos tipos de huéspedes, capaces de aumentar las poblaciones parasitarias a través de la producción de huevos (huésped definitivo) y cercarias (huésped intermediario). En el huésped definitivo, se extiende desde que el huésped ingiere la metacercaria hasta la producción de huevos por el parásito adulto. En el bovino dura de 8 a 14 semanas y está afectado por el estado inmunitario y por el número de metacercarias que ingiere. Los huevos (vida libre I) salen con las materias fecales al medio ambiente donde se desarrolla a miracidio, esta etapa es regulada por la temperatura y humedad. En el huésped intermediario el miracidio penetra en un caracol del género *Lymnaea* y evoluciona a esporocisto, redia y cercaria en 4 a 10 semanas. Esta evolución depende del caracol, el grado de infección, humedad y temperatura. Las cercarias (vida libre II), se produce luego de la expulsión de las cercarias por el caracol y su enquistamiento en forma infestantes denominadas metacercarias (Nari y Fiel, 2001).

La infección en los rumiantes tiene lugar durante el pastoreo, aunque también es posible que ocurra en estabulación, mediante el agua de bebida o al administrar henos y ensilados mal realizados. El desenquistamiento de las metacercarias tiene lugar en dos fases. La primera o de activación acontece en el rumen y es iniciada 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 por el propio parásito. Tras el desenquistamiento, las jóvenes duelas atraviesan la pared intestinal, pasan a la cavidad peritoneal y desde allí alcanzan el hígado. A las 90 horas post infección comienza la penetración de la cápsula de Glisson; en este momento, las fasciolas tienen forma lanceolada y miden 1-2 mm. Durante algo menos de dos meses, el parásito emigra por el parénquima hepático asentándose definitivamente en los conductos biliares a partir de los 40 días post infección aproximadamente, donde alcanzan la madurez sexual. Los primeros huevos aparecen en las heces del hospedador a partir de 55-56 días desde la ingestión de las metacercarias (Cordero y col., 1999).

- **Epidemiología.** En un área determinada, lo esencial para que se establezca la enfermedad es la presencia del huésped definitivo e intermediario, humedad y temperatura (más de 10°C) suficientes para que evolucionen los huevos, las poblaciones de caracoles y las formas parasitarias que alberga. La compleja interdependencia de cada una de ellas va a determinar en última instancia el nivel de infección y la prevalencia de la enfermedad. La epidemiología de la fasciolosis depende además de una serie de factores secundarios de tipo biológicos, topográficos y de manejo que determinan si ésta se presenta en forma clínica o subclínica (Nari y Fiel, 2001).

En manejos extensivos, debido a las características topográficas, en los potreros se pueden identificar los ambientes húmedos donde se dan las condiciones para el desarrollo del caracol donde puede haber gran disponibilidad de metacercarias. En este caso, de grandes potreros y bajas cargas, la coincidencia huésped-parásito depende en gran

medida del hábito de pastoreo de los animales, que podrá elegir de acuerdo a la oferta de forraje. En zonas de riego, donde la humedad no es limitante, la temperatura y el manejo del pastoreo serán la condicionante de la presentación de la enfermedad. Se debe tener en cuenta que *Fasciola hepatica* puede infectar a muchos mamíferos, incluyendo caballos, ciervos, cerdos, conejos, etc., y es posible que actúen como reservorios de la enfermedad (Olaechea, 2004).

En nuestro país, la situación es muy compleja debido a la gran variación de las condiciones climáticas y ambientales en las diferentes regiones; así en la sierra, zona enzootica de la enfermedad, se han descrito hasta 4 pisos altitudinales entre las cuales, en la *Región Quechua*, localizada entre 2,500 a 3,500 msnm de clima templado, con temperaturas medias anuales de 12 – 15° C, lluvias intensas durante el verano y donde se explota mayormente ganado vacuno, en esta región se encuentran los valles de Cajamarca, Mantaro, Urubamba, Vilcanota, Callejón de Huaylas, Huanta, Huamanga, etc. Que constituyen zonas enzoóticas de la distomatosis (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 de 5-6 semanas de haberse producido una ingesta de gran cantidad de metacercarias desencadenando una invasión rápida de fasciolas jóvenes en el hígado; esto causa una destrucción del parénquima hepático dando lugar a una insuficiencia hepática aguda, hepatitis traumática hemorrágica aguda, a los que hay que añadir los efectos de la 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 discreta anemia durante las 4 a 5 semanas de infestación. 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, 2011). Mediante el marcado de glóbulos rojos, con radioisótopos, se ha calculado la pérdida hepática diaria por cada verme en aproximadamente en 0.5–1 ml de sangre (Cordero y col., 1999). La destrucción de los tejidos en los trematodos en movimiento puede crear un microambiente favorable para la activación de esporas de clostridios (Merck y CO., inc. 1988).

- **Síntomas y lesiones.** La presencia de unos pocos ejemplares de *Fasciola* exclusivamente en los conductos biliares, no provoca ninguna 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). 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 caquéticos, hay colecciones serosas en peritoneo y engrosamiento de los conductos biliares del hígado con alteraciones cirróticas. (Olaechea. 2004).

- **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 en necropsia.
- **Control y tratamiento.** El control de la Fasciolosis en un área endémica debe estar orientado a prevenir o limitar el contacto entre el parásito y su huésped definitivo, tratando en principio, de ofrecer pasturas “seguras” para las categorías de animales más susceptibles. Debido a que las recomendaciones de control pueden variar aún entre establecimientos vecinos, pues los niveles de infección, como la topografía de los potreros, o el manejo de la hacienda pueden ser distintos, es que se tratará de dar orientaciones generales para ser utilizadas a criterio del profesional actuante. Las medidas básicas para el control de *F. hepatica*, se focalizan en tres puntos: 1) Contra el parásito en el huésped definitivo. 2) Contra los estadios libres del parásito 3) Contra los caracoles intermediarios.

Control de *Fasciola hepatica* en el huésped definitivo, el uso de antihelmínticos es la práctica más común empleada por el productor para la lucha contra los parásitos. El objetivo del tratamiento es el de eliminar el agente causal de la enfermedad e interrumpir la excreción de los huevos con la materia fecal, para así prevenir la infección de los caracoles y la contaminación de las pasturas. La dosificación con fasciolicidas es inevitable en los casos clínicos de fasciolosis (aguda ó crónica), pero lo ideal es poner en práctica un plan estratégico

de control con un mínimo de dosificaciones y armonizado con el manejo y movimientos de los animales. El movimiento de los animales a pasturas libres de contaminación, es lo más recomendable después de tratarlos con fasciolidas (Olaechea, 2004).

El tratamiento debe ir dirigida, tanto contra las fasciolas adultas localizadas en los conductos biliares como contra formas inmaduras en migración por el parénquima hepático, con el fin de restaura la función hepática. (Cordero y col., 1999). Para tal fin existen productos como clorsulón, closantel, nitroxinil, triclabendazol, rafoxanide entre otros (Merck y Co., inc., 1988).

La forma más importante y generalizada de profilaxis en todo el mundo es la aplicación estratégica de fasciolisidas (programas quimioprofilácticos), drenaje de las zonas encharcadas donde existen caracoles intermediarios quizá sea el método más eficaz a largo plazo. La rotación de pastos u hospedadores con el fin de reducir el riesgo de infestación, también puede ser eficaz aunque difícilmente aplicable. el control se complica a causa de los reservorios infecciosos en los animales salvajes, como ciervos y conejos (Merck y Co., inc., 1988).

2.2.2. DETECCIÓN DE HUEVOS DE TREMATODOS EN HECES.

2.2.2.1. Técnica de Dennis, Stone e Swanson (Ueno y Gonçalves 1998).

Esta técnica se utiliza como diagnóstico cuantitativo (hpg) y cualitativo de huevos de *Fasciola* y *Paramphistomum* en heces.

Técnica:

1. Colectar del recto 300 a 500 g de heces, mezclar bien y si éstas estuvieran muy secas, adicionar agua hasta tomar la consistencia normal.
2. Tomar 1 g de heces, colocar en una copa de sedimentación, agregar 15 mL de solución detergente y con un bastón mezclar lentamente, evitando formación de burbujas.
3. Filtrar a través de un tamiz con 80 mallas por pulgada en un tubo de centrifuga de 50 mL.
4. Adicionar solución detergente hasta llenar el tubo a fin de lavar fibras brutas en el tamiz. Dejar sedimentar por 5 a 10 minutos.
5. Sifonear tres cuartas partes del líquido. Después agitar el tubo de centrifuga, agregar solución detergente a través del tamiz hasta 50 mL, para recuperar algún huevo que se haya fijado en la tela metálica; descartar el material fecal dejado en el embudo. Dejar sedimentar nuevamente por 5 a 10 minutos.
6. Sifonear el sobrenadante tomando el cuidado para no agitarlo, dejando 2 a 3 mL del sedimento.
7. Adicionar 1 a 3 gotas de lugol al sedimento. Agitar y esperar 2 a 5 minutos.
8. Transferir el sedimento a una placa Petri rayada con diamante, lavando el tubo de centrifuga con 15 a 20

mL de agua. Contar los huevos con el uso de un estereomicroscopio. El número total de huevos en la placa equivale al número de huevos por gramo de heces (hpg). Los huevos de los trematodes se colorean de rojizo a marrón oscuro.

2.2.2.2. Técnica de Sedimentación natural (Ueno y Gonçalves 1998). La técnica exige un mínimo de equipamiento y tiene una ventaja de recuperar huevos y larvas en las heces, sobretodo huevos de trematodes que tienen opérculo y de algunos cestodos.

Esta técnica es esencialmente, un proceso de lavado de heces, no siendo tan complejo como las demás.

Técnica:

1. Colocar 5-10 g de heces en un Beaker. Adicionar 60-70 mL de agua y homogenizar con un bastón. Agregar agua hasta obtener el volumen de 300 mL aproximadamente.
2. Filtrar la solución fecal a una copa de sedimentación, a través de un tamiz y espera por 10-20 minutos. Decantar o sifonear 2/3 del sobrenadante sin agitar el sedimento.
3. Adicionar agua fresca hasta la boca de la copa de sedimentación, agitar y esperar por 10-20 minutos.
4. Repetir este proceso de lavado fecal hasta clarificar la suspensión, si es necesario.
5. Decantar o sifonear el sobrenadante, dejando el sedimento en el fondo.

6. Retirar el sedimento con pipeta y colocar en lámina porta objeto, cubrir con laminilla. Después, observar al microscopio.

2.2.2.3. Técnica de Sedimentación modificada (Ueno y Gonçalves 1998). Esta técnica cualitativa es empleada para verificar la existencia de huevos de *Fasciola* y *Paramphistomum* en las heces de rumiantes.

Técnica:

1. Colocar 5 g de heces frescas en un Beaker.
2. Adicionar 250 mL de agua que contenga 2 gotas de detergente líquido (10%) y homogenizar bien.
3. Tamizar la mezcla, agregando más 250 mL de agua a través del tamiz, para retirar los huevos que pudieran permanecer retenidos en el tamiz.
4. Dejar en reposo durante 8 a 10 minutos.
5. Sifonear el sobrenadante, dejando más o menos 50 mL de sedimento en el Beaker. Colocar nuevamente agua de caño hasta completar 500 mL. Manteniendo en reposo durante 8 a 10 minutos. Sifonear cuidadosamente y dejar 10 a 15 mL de sedimento.
6. Agitar bien, transferir el sedimento a una placa Petri, homogenizar y dejar en reposo por 1 minuto.
7. Inclinar gradualmente la placa Petri, hasta que el nivel del agua divida a la placa en dos porciones iguales.

8. Pipetear lentamente 0,3 a 0,5 mL de la línea blanca que aparece en la división del fondo de la placa Petri.
9. Colocar en lámina el sedimento pipeteando y adicionando una gota de verde de metilo, mezclar bien. Cubrir con una laminilla y examinar todo el campo (objetivo 5-8x y ocular 10x). Los huevos de *Fasciola* y *Paramphistomum*, por sus coloraciones características, son nítidamente distinguibles. Las demás impureza son coloreadas de verde. El examen es considerado negativo, cuando no se encuentran huevos en tres láminas examinas.

2.2.2.4. Técnica de Sedimentación Rápida modificada por Lumbreras (Maco y col, 2002). Esta técnica se utiliza como diagnóstico cualitativo de huevos de *Fasciola* en heces de humano.

Técnica:

1. Homogenizar con una bagueta 4-8 g de la muestra de heces con agua corriente filtrada en un tubo cónico de 50 ml de capacidad.
2. La mezcla trasvasar a un recipiente de vidrio de boca ancha, de 200 a 300 ml de capacidad tamizándola con un colador de plástico.
3. Completar el volumen con agua corriente filtrada y dejar reposar por 30 minutos.
4. Decantar 2/3 del sobrenadante y volver a completar el mismo volumen inicial con agua filtrada.

5. Repetir los mismos pasos 3-5 veces con un intervalo de 30 minutos, hasta que el sobrenadante quede limpio.
6. Finalmente, el último sedimento verter en una placa Petri de vidrio.
7. Observar al microscopio a 10x, 100x.

2.2.2.5. Técnica de Sedimentación Natural modificada por Rojas y Torrel (Rojas, Torrel y Raico, 2013). Esta técnica se utiliza como diagnóstico cuantitativo (hpg) y cualitativo de huevos de *Fasciola* en heces de bovino. Es sencilla y práctica.

Técnica:

1. Homogenizar la muestra total de heces obtenida directamente del recto (aproximado 100 g).
2. En un vaso de plástico de 400 ml de capacidad, pesar 1 g de heces.
3. Agregar aproximadamente 200 ml de agua de caño, homogenizar la muestra con una batidora eléctrica (batidora doméstica de mano) por aproximadamente 10 segundos.
4. Pasar por un embudo con malla metálica de 80 hilos por pulgada hacia otro vaso de vidrio de forma cónica de 250 mL de capacidad, agregar más agua de caño hasta llenar a 1 cm del borde del vaso.
5. Dejar reposar por 5 minutos.

6. Decantar el sobrenadante dejando aproximadamente 15 mL de sedimento en el vaso.
7. Colocar 3 gotas de lugol fuerte y esperar 5 minutos para colorear los huevos.
8. Vaciar el sedimento a una placa petri rayada y observar al estereoscopio a 16 aumentos (10x ocular por 1,6x de objetivo).

2.2.3. INDICADORES DE VALIDACIÓN

Sensibilidad (S): Es la proporción de verdaderos positivos que son detectados por un método diagnóstico (Thrusfield, 1990).

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

Leyenda:

S: Sensibilidad

PV: Positivos verdaderos

FN: Falsos negativos

Especificidad (E). Es la proporción de los verdaderos negativos que son detectados (Thrusfield, 1990).

$$E = \frac{VN}{FP+VN} \times 100$$

Leyenda:

E: Especificidad

NV: Negativos verdaderos

FP: Falsos positivos

Valor predictivo positivo. Es la probabilidad de que un individuo con resultado positivo esté realmente enfermo.

$$VPP = \frac{VP}{VP+FP} \times 100$$

Leyenda:

VPP: Valor predictivo positivo

VP: Positivos verdaderos

FP: Falsos positivos

Valor predictivo negativo. Es la probabilidad de que un individuo con resultado negativo esté realmente sano.

$$VPN = \frac{VN}{FN+VN} \times 100$$

Leyenda:

VPN: Valor predictivo negativo

VN: negativos verdaderos

FN: Falsos negativos

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización del trabajo de investigación

El presente trabajo de investigación se realizó en el Camal Municipal Provincial de Cajamarca (Anexo 1. Fig.1) y en el Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, la cual 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	: 14,8° C
Temperatura mínima promedio anual	: 7,8° C
Temperatura máxima promedio anual	: 21,3° C
Precipitación pluvial anual	: 878,5 mm
Humedad relativa promedio anual	: 64,1%
Presión barométrica	: 740,5 milibares.

3.2. Material y equipo

3.2.1. Material biológico

362 ovinos de diferente sexo y edad (Anexo 1. Fig. 2)

3.2.2. Material de Campo

- ✓ Botas de jebe
- ✓ Mameluco
- ✓ Bolsas de polietileno
- ✓ Jabón
- ✓ Libreta de apuntes
- ✓ Bolígrafos
- ✓ Caja tecnoport
- ✓ Tablero de campo
- ✓ Cámara fotográfica
- ✓ Lapiceros de tinta indeleble

3.2.3. Material y equipo de laboratorio. Este equipo y materiales corresponden a la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel (Anexo 2. Fig. 3).

- ✓ Balanza de precisión de medición en gramos y hasta centigramos.
- ✓ Vasos plásticos de 400 mL de capacidad, 8 cm de diámetro superior, 6 cm de diámetro inferior, 10,5 cm de altura.
- ✓ Vasos de vidrio cónico de 260 mL de capacidad, 7 cm de diámetro superior, 2 cm de diámetro inferior, 12 cm de altura.
- ✓ Embudo de 8 cm de diámetro de apertura, con malla metálica de 5,5 cm de diámetro, 80 hilos /pul, 213 micras de diámetro de los orificios de la malla metálica.

- ✓ Placas Petri de 10 centímetros de diámetro, 1 cm de altura, marcadas con líneas paralelas de 1 centímetro de separación.
- ✓ Baguetas.
- ✓ Morteros de madera.
- ✓ Estereoscopio con luz incorporada.
- ✓ Agitador eléctrico (batidora eléctrica de utilización manual).
- ✓ Estilete.
- ✓ Lapicero de tinta indeleble.
- ✓ Detergente.
- ✓ Lugol parasitológico fuerte (10 g de yoduro de potasio + 5 g de iodo metálico diluido en 100 mL de agua).

3.3. Metodología. La investigación tiene un diseño cuantitativo y explicativo.

3.3.1. Determinación del número muestral. El tamaño muestral se determinó teniendo en cuenta que la prueba tiene una efectividad del 62 %, reportado por (Quiroz, 2011), con un margen de error máximo aceptado de 5% y un nivel de confianza del 95%. Aplicando la siguiente fórmula:

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

Leyenda:

z = nivel de confianza o seguridad (1.96)

p = proporción esperada o a favor (0.62)

q = 1 – p, proporción en contra (0.38)

e = precisión o margen de error máximo (5%)

$$n = \frac{(1.96)^2 \times (0.62) \times (0.38)}{(0.05)^2} = 362$$

3.3.2. Trabajo de Campo (Camal Municipal Provincial Cajamarca).

Se realizó las siguientes actividades:

- **Obtención e identificación de la muestra de heces.** En el momento de la evisceración, en una bolsa de polietileno se obtuvo la muestra de heces haciendo presión del recto aproximadamente 20 g, se la identificó con un código numerado del 001 al 362 (Anexo 3. Fig. 4). Todas las muestras de heces fueron almacenadas en una caja teknoport y trasladadas al laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias, para su inmediato procesamiento y obtención del respectivo diagnóstico.
- **Obtención e identificación del hígado.** En el momento de la evisceración después de la obtención de la muestra de heces, se procedió a la identificación del hígado, marcándolo con el mismo código que fue identificado la muestra de heces. Esta marcación se realizó con el bisturí, en la superficie diafragmática del hígado y llevado a la mesa de inspección para su revisión y dictamen del diagnóstico (Anexo 3. Fig. 5).
- **Examen macroscópico del hígado para dar el dictamen del diagnóstico.** En la mesa de inspección sanitaria del camal, el hígado fue colocado con la superficie visceral a la vista para realizar cortes longitudinales de los canalículos biliares, para así determinar la presencia o ausencia de fasciolas adultas; es decir, dar como resultado positivo o negativo (Anexo 3. Fig. 6).

3.3.4. Trabajo de Laboratorio:

Protocolo de la técnica de sedimentación natural modificado por Rojas y Torrel (Anexo 4. Figs.7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14).

1. Homogenizar la muestra de heces en un mortero de madera.
2. En un vaso de plástico de 400 mL de capacidad, pesar 1 g de heces.
3. Agregar aproximadamente 200 mL de agua de caño, homogenizar la muestra con un agitador eléctrico (batidora eléctrica) por aproximadamente 10 segundos.
4. Pasar por un embudo con malla metálica de 80 hilos por pulgada hacia otro vaso de vidrio de forma cónica de 250 mL de capacidad, agregar más agua de caño hasta llenar a 1 cm del borde del vaso.
5. Dejar reposar por 5 minutos.
6. Decantar el sobrenadante dejando aproximadamente 15 mL de sedimento en el vaso.
7. Colocar 3 gotas de lugol fuerte y esperar 5 minutos para colorear los huevos.
8. Vaciar el sedimento a una placa petri rayada y observar al esteroscopio a 16 aumentos.
9. Lectura. La presencia de uno o más huevos de *Fasciola hepatica*, dio como resultado diagnóstico "positivo", y la ausencia como "negativo".

3.4. Análisis estadístico.

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó una tabla de contingencia 2x2 (Anexo 5). Se compararon los resultados obtenidos de la necropsia y de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel; considerándose positivo a todo resultado en el que se

observó *Fasciola* adulta en conductos biliares del hígado (necropsia) y huevos de *Fasciola* a la observación en la placa petri (Técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel), y negativo a todo resultado en el que no se observó tanto al parásito adulto y huevos; en las técnicas anteriormente mencionadas.

El diagnóstico definitivo a la presencia de *Fasciola hepatica* o prueba de oro, se consideró "la necropsia" donde se confirmó la presencia o ausencia del trematodo en conductos biliares.

Se utilizaron las siguientes fórmulas probabilísticas:

Sensibilidad (S)

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

Especificidad (E)

$$E = \frac{VN}{VN+FP} \times 100$$

Valor Predictivo Positivo (VPP)

$$VPP = \frac{VP}{VP+FP} \times 100$$

Valor Predictivo Negativo (VPN)

$$VPN = \frac{VN}{VN+FN} \times 100$$

Leyenda:

VP: Verdadero positivo

VN: Verdadero negativo

FP: Falso positivo

FN: Falso negativo

Verdaderos positivos (VP). Se consideró a aquellos ovinos infectados con la presencia de *F. hepatica* en conductos biliares y dieron positivos a la prueba de sedimentación natural (presencia de huevos a la observación en placa Petri).

Falsos negativos (FN). Se consideró a aquellos ovinos infectados con la presencia de *F. hepatica* en conductos biliares, pero que dieron como resultados negativos a la prueba de sedimentación natural (ausencia de huevos a la observación en placa Petri).

Falsos positivos (FP). Se consideró a aquellos ovinos no infectados, es decir, hubo ausencia de *F. hepatica* en conductos biliares, pero dieron positivos a la prueba de sedimentación natural (presencia de huevos a la observación en placa Petri).

Verdaderos negativos (VN). Se consideró a aquellos ovinos no infectados, es decir, con ausencia de *F. hepatica* en conductos biliares, y dieron negativo a la prueba de sedimentación natural (ausencia de huevos a la observación en placa Petri).

Para contrastar la hipótesis se realizó la prueba de "Z" (Anexo 5).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

Tabla 1. Análisis de los resultados entre la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel y la presencia o ausencia de *Fasciola hepatica* en conductos biliares en ovinos observados a la necropsia.

Resultado de la Técnica de Sedimentación Natural Modificada por Rojas y Torrel	Verdadero diagnóstico (necropsia)		
	POSITIVO Presencia de <i>F. hepatica</i> adulta en conductos biliares	NEGATIVO Ausencia de <i>F. hepatica</i> adulta en conductos biliares	TOTAL
POSITIVO (Presencia de huevos)	Verdaderos positivos (191)	Falsos positivos (21)	212
NEGATIVO (Ausencia de huevos)	Falsos negativos (51)	Verdaderos negativos (99)	150
TOTAL	242	120	362

Tabla 2. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de la técnica sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel en el diagnóstico de *Fasciola hepatica* en ovinos.

Parámetros	Nº	TOTAL	Probabilidad (%)
Sensibilidad	191	/ 242	79
Especificidad	99	/ 120	83
Valor predictivo positivo	191	/ 212	90
Valor predictivo negativo	99	/ 150	66

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

Analizado los resultados obtenidos entre la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel y la necropsia, podemos observar que de los 362 ovinos evaluados, resultaron 191 verdaderos positivos, 21 falsos positivos, 99 verdaderos negativos y 51 falsos negativos (Tabla 1).

De la evaluación de la técnica en el diagnóstico de fasciolosis crónica en ovinos, se determinó una sensibilidad de 79%, especificidad 83%, valor predictivo positivo 90% y un valor predictivo negativo de 66 % (Tabla 2).

Nuestro resultado en relación a la sensibilidad de la técnica utilizando 1g de heces, consideramos una prueba eficiente debido a que es capaz de detectar el 79% de probabilidad de verdaderos positivos a la presencia del trematodo adulto en conductos biliares, siendo superior a lo reportado por Quiroz (2011) quien indica que la prueba de sedimentación en ovinos realizada en una sola vez, utilizando 5 g de heces alcanza una efectividad de 62%. Esta diferencia, podría deberse a que en el protocolo de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel distinta a otras técnicas de sedimentación, se utiliza batidora eléctrica para la homogenización de las heces con el agua; lo cual hace suponer que los movimientos a alta velocidad realizado por este artefacto los huevos sean desprendidos en su totalidad de las fibras vegetales, probablemente no logrado cuando se utiliza bagueta. Por otro lado, el empleo de estilete para la separación de fibras vegetales en el sedimento en la placa Petri en el transcurso de la observación es muy importante, esto nos da una alta probabilidad de omitir la presencia de un huevo que esté tapado con alguna fibra y el diagnóstico

sea un falso negativo. También es importante en el protocolo realizar una sola decantación para obtener el sedimento motivo del diagnóstico, esto es conseguir la menor probabilidad de que los huevos sean eliminados a diferencia que en otros protocolos emplean de tres a cinco decantaciones; finalmente, la utilización de la placa Petri rayada paralelamente a distancia de 10 mm hace que a 16x (1,6x de ocular y 10x de objetivo) del estereoscopio cubra la observación exactamente todo el ancho de cada columna formada por las líneas paralelas, es decir, no existe un área sin observar en toda la placa.

En cuanto a la especificidad obtenida, consideramos aceptable debido a que es capaz de detectar el 83% de verdaderos negativos. Sin embargo, es menor al 100%, motivo de profundizar la investigación en este indicador epidemiológico dado a que resultaron 21 falsos positivos. No es posible comparar nuestro resultado debido a que no contamos con información al respecto, en esta especie animal.

Los falsos negativos, probablemente se deba a que las fasciolas hayan estado en periodo prepatente conforme lo manifiesta Quiroz (2011), éste indica que la forma directa para la identificación y cuantificación de huevos de *F. hepatica* no es posible hasta tres meses post infección, es decir, estén en periodo patente; agrega también que debe considerarse que hay una variación entre las diferentes horas del día entre 5% y 10% pueden ser falsos negativos; finalmente, añade que se ha observado que al examinar una sola muestra de heces de un rebaño con 100% de fasciolosis, únicamente del 60% al 70% dan resultados positivos, pero si se repiten los negativos, con tres se tiene del 93% a 95% y al cabo de 7 a 8 exámenes, el 100%. También podría deberse a otros factores como por ejemplo la poca cantidad de heces presentes en el recto, la distribución de huevos de fasciolas en heces en forma de "pelet" característico de ovinos, la reducida carga parasitaria en estadio reproductivo del trematodo en conductos

biliares, la poca cantidad de muestra de heces utilizada en la técnica (1 g); entre otras.

En lo que respecta a los veintiuno (21) falsos positivos, podría deberse a que los ovinos hayan sido dosificados con fasciolicidas pocos días antes del beneficio en el camal y que los huevos aún no hayan sido totalmente evacuados de la vesícula biliar a través de la bilis, lo cual es motivo de investigar este fenómeno.

Finalmente el valor predictivo positivo de la técnica, es una cifra confiable, dado a que un individuo con resultado positivo a la prueba tiene el 90% de probabilidad de estar realmente con *Fasciola hepatica* adulta; en tanto que el valor predictivo negativo, podríamos considerarla aceptable, debido a que un individuo con resultado negativo a la prueba tiene el 66% de probabilidad de estar realmente libre de fasciolas adultas. Al respecto, no es posible discutir debido a que no se cuenta con información.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

De la evaluación de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel en el diagnóstico de fasciolosis crónica en ovinos; se concluye que:

1. Queda demostrada, que la sensibilidad de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel en el diagnóstico de fasciolosis crónica en ovinos es 79%.
2. Queda demostrada, que la especificidad de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel en el diagnóstico de fasciolosis crónica en ovinos es 83%.
3. Queda demostrada, que el valor predictivo positivo es 90%.
4. Queda demostrado que valor predictivo negativo es 66%.

CAPÍTULO VII

REFERENCIA BIBLIOGRAFÍA

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. p 260-271.

Kassai, T. 2002. Helmintología Veterinaria, 1ª Edición. Editorial Acribia S.A., Zaragoza-España. p4-12.

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

Maco, V., Marcos, L., Terashima, A., Samalvides, F., Miranda, E., Espinoza, J., Gotuzzo, E. 2002. Fas2-ELISA y la técnica de sedimentación rápida modificada por Lumbreras en el diagnóstico de la infección por *Fasciola hepatica*. Rev Med Hered 13 (2), 2002 57. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rmh/v13n2/v13n2ao3.pdf> . Consultado el 10 de octubre de 2014.

Merck y Co., inc. 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. p244-246

Nari, A. y Fiel, C. 2001. Enfermedades Parasitarias de importancia económica en Bovinos: Bases epidemiológicas para su prevención y control. Edit. Hemisferio Sur, Montevideo – Uruguay. p233.

Olaechea, F. 2004. Comunicación Técnica N° 449 Área producción animal - *Fasciola hepatica*; Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, argentina 2004. www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/parasitarias/parasitarias_bovinos/81-hidatidosis.pdf

Pacheco, C. 1995. Determinación de la efectividad del análisis coproscópico en el diagnóstico de la fasciolosis en caprinos (*Capra hircus*) y porcinos (*Sus scrofa*) sacrificados en el camal municipal de Cajamarca 1995. Tesis para optar título profesional de Médico Veterinario, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Cajamarca. Cajamarca- Perú. p 39.

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

Quiroz, H. 2011. Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos. Editorial Limusa S.A., México. p232-251

Rojas, J., Palacios, S. 2009., Impacto económico por decomiso de hígados infectados con *Fasciola hepatica* en camales de la Región Cajamarca, 2008. Informe final de trabajo de investigación, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Cajamarca, Perú. p13-17.

Rojas, J., Torrel, S., 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.

Soulsby, E., 1987. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos, 7ª edición, editorial Interamericana, México. p37-48.

Sumano, H. y Ocampo. 1997. Farmacología Veterinaria. 2ª edición, Edit. MC Graw-Hill Interamericana. México. p290

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

Ueno, H. y Goncalves, P.C. 1998. Manual para el diagnóstico de los helmintos de Rumintes, 4ª Edición, Edit. Japan Internacional Cooperation Agency (JICA), Tokio, Japan.. p6,52-56.

Urquhart, G.; Armour, J.; Duncan, J.; Dunn, A.; Jennings, F. 2001. Parasitología Veterinaria, 2ª edición, Edit. Acribia, S.A. Zaragoza, España. p117-126.

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

ANEXO

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

Localización del trabajo de investigación



Figura 1. Instalaciones del camal municipal provincial de Cajamarca

Material biológico



Figura 2. Ovinos utilizados

Anexo 2. Material y equipo de laboratorio: Técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel, evaluado en la investigación.

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

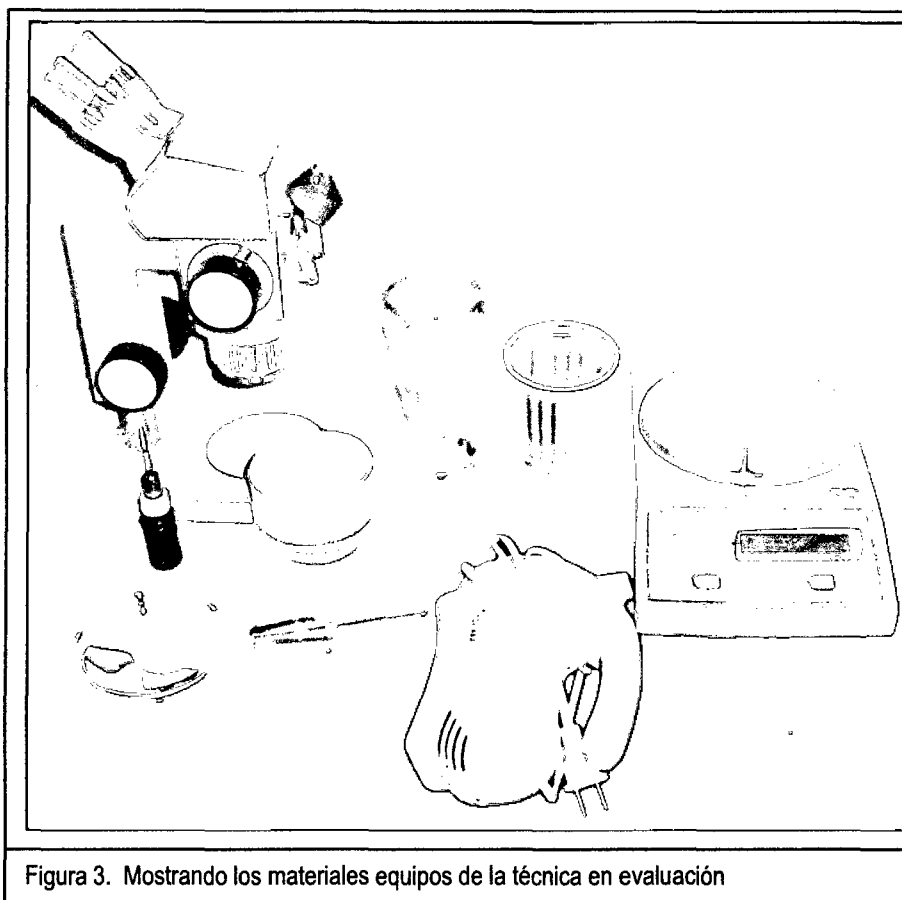


Figura 3. Mostrando los materiales equipos de la técnica en evaluación

Anexo 3. Trabajo de campo (en el camal).

- Obtención e identificación de la muestra de heces



Figura 4. Extrayendo muestra de heces del recto.

- Identificación del hígado para su revisión



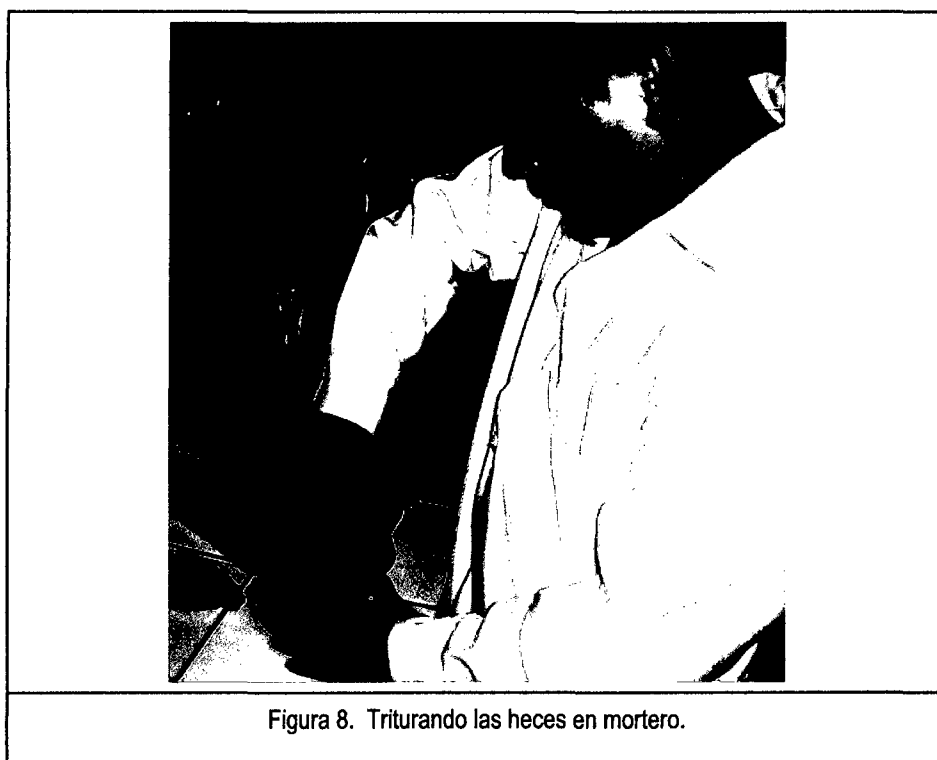
Figura 5. Marcando con bisturí el código de la muestra del hígado para su revisión.

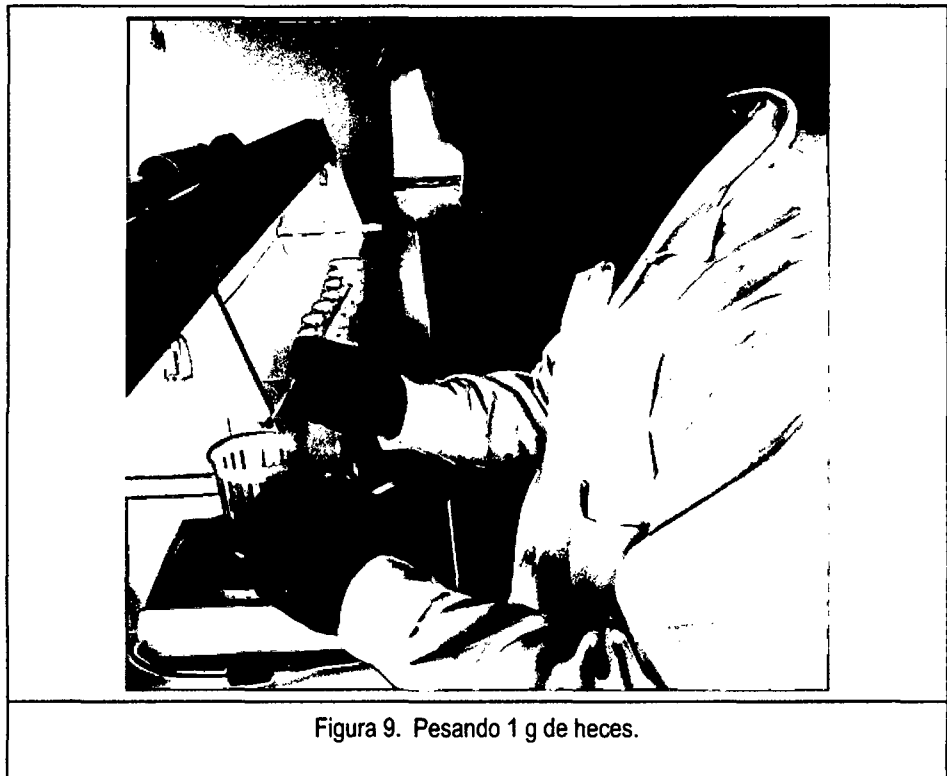
- Examen macroscópico del hígado para dar el dictamen del diagnóstico



Figura 6. Mostrando una *Fasciola* adulta en conducto biliar hepático.

Anexo 4. Figuras que registran el protocolo de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel en trabajo de laboratorio.





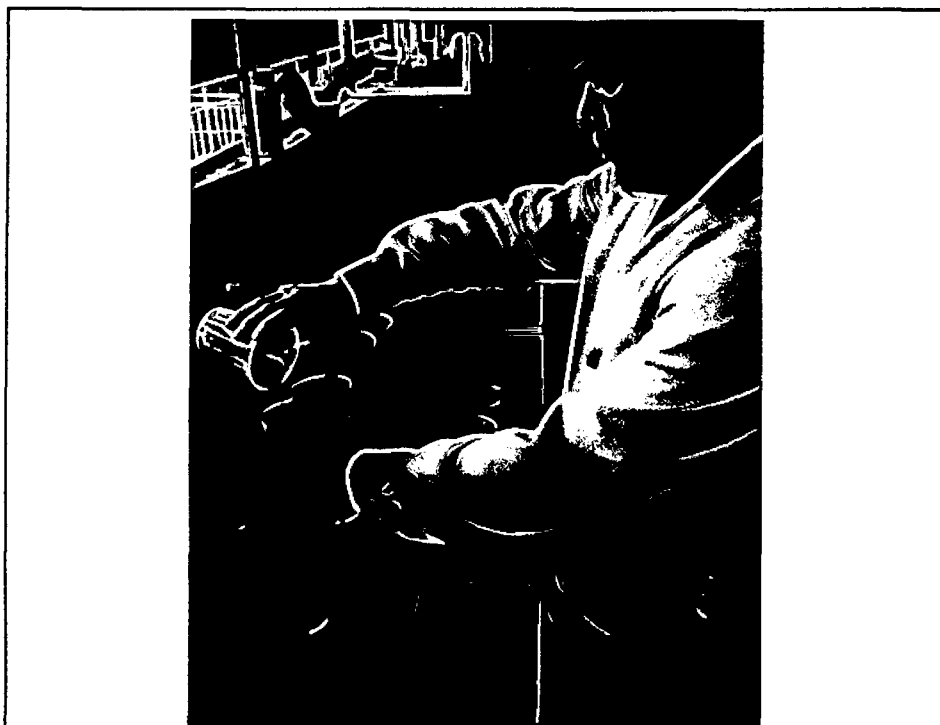
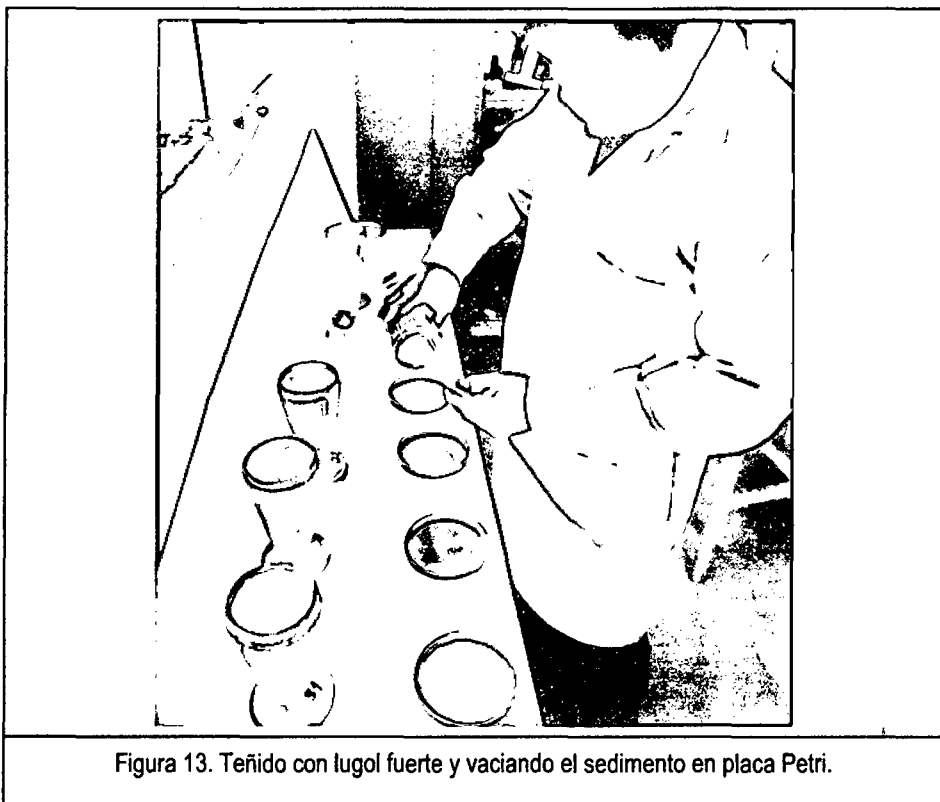


Figura 11. Filtrando la mezcla en el embudo tamiz de 80 hilos/pul.



Figura 12. Sedimentación y decantación.



Anexo 5. Estadística y análisis de datos

Tabla de contingencia 2 x 2 para el análisis estadístico de los resultados.

Resultado de la Técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel	Resultado de la necropsia "prueba de oro"	
	POSITIVO Presencia de <i>F.hepatica</i> adulta en conductos biliares	NEGATIVO Ausencia de <i>F.hepatica</i> adulta en conductos biliares
POSITIVO (Presencia de huevos)	Verdaderos positivos	Falsos positivos
NEGATIVO (Ausencia de huevos)	Falsos negativos	Verdaderos negativos

Cuadro 1. Análisis de los resultados de las técnicas de diagnóstico:
Sedimentación en relación a la necropsia.

Muestra estudiada (Nº)	Resultado de la necropsia (Presencia o ausencia de fasciolas en conductos biliares)	Resultado de la técnica sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel (Presencia o ausencia de huevos de <i>Fasciola hepatica</i> en un 1 g de heces)	Análisis de los resultados obtenidos de la técnica parasitológica y la necropsia
001	+	-	FN
002	+	+	VP
003	-	-	VN
004	-	-	VN
005	+	+	VP
006	+	-	FN
007	+	-	FN
008	+	+	VP
009	+	-	FN
010	+	-	FN
011	+	+	VP
012	-	-	VN
013	-	-	VN
014	-	-	VN
015	+	+	VP
016	-	-	VN
017	+	-	FN
018	+	-	FN
019	+	-	FN
020	+	+	VP
021	-	-	VN

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

052	+	+	VP
053	+	-	FN
054	+	+	VP
055	+	+	VP
056	+	-	FN
057	+	+	VP
058	+	+	VP
059	+	+	VP
060	+	+	VP
061	+	+	VP
062	-	-	VN
063	-	-	VN
064	-	-	VN
065	-	+	FP
066	+	+	VP
067	+	+	VP
068	+	+	VP
069	+	+	VP
070	-	-	VN
071	+	+	VP
072	+	+	VP
073	+	+	VP
074	+	-	FN
075	-	+	FP
076	-	-	VN
077	+	+	VP
078	+	+	VP
079	+	+	VP
080	+	+	VP
081	+	+	VP

082	-	+	FP
083	+	+	VP
084	-	-	VN
085	+	+	VP
086	+	+	VP
087	+	+	VP
088	+	-	FN
089	+	-	FN
090	+	+	VP
091	+	+	VP
092	+	+	VP
093	+	+	VP
094	+	-	FN
095	-	-	VN
096	-	-	VN
097	-	-	VN
098	-	-	VN
099	-	-	VN
100	+	+	VP
101	+	-	FN
102	-	+	FP
103	-	-	VN
104	-	-	VN
105	+	+	VP
106	+	-	FN
107	+	+	VP
108	-	-	VN
109	-	-	VN
110	+	-	FN
111	+	+	VP

112	-	+	FP
113	+	+	VP
114	+	-	FN
115	+	+	VP
116	+	+	VP
117	-	-	VN
118	+	-	FN
119	+	+	VP
120	-	-	VN
121	-	+	FP
122	-	-	VN
123	+	+	VP
124	-	-	VN
125	-	-	VN
126	+	-	FN
127	+	-	FN
128	+	-	FN
129	+	-	FN
130	+	-	FN
131	+	+	VP
132	-	+	FP
133	-	-	VN
134	-	-	VN
135	+	-	FN
136	+	-	FN
137	+	+	VP
138	+	+	VP
139	-	-	VN
140	-	-	VN
141	-	+	FP

142	+	+	VP
143	-	-	VN
144	+	+	VP
145	+	+	VP
146	+	+	VP
147	+	+	VP
148	+	+	VP
149	+	+	VP
150	+	+	VP
151	+	+	VP
152	-	+	FP
153	+	+	VP
154	+	+	VP
155	+	+	VP
156	-	+	FP
157	+	-	FN
158	-	-	VN
159	-	-	VN
160	+	-	FN
161	+	+	VP
162	-	-	VN
163	-	-	VN
164	+	+	VP
165	-	-	VN
166	+	+	VP
167	+	-	FN
168	+	+	VP
169	-	-	VN
170	-	+	FP
171	+	+	VP

172	+	+	VP
173	+	-	FN
174	+	+	VP
175	+	+	VP
176	-	-	VN
177	+	+	VP
178	+	+	VP
179	-	-	VN
180	-	-	VN
181	+	-	FN
182	+	+	VP
183	-	-	VN
184	-	+	FP
185	-	-	VN
186	+	-	FN
187	+	-	FN
188	+	-	FN
189	+	+	VP
190	+	-	FN
191	+	+	VP
192	+	+	VP
193	+	-	FN
194	-	-	VN
195	-	-	VN
196	+	+	VP
197	+	+	VP
198	-	-	VN
199	-	-	VN
200	-	-	VN
201	+	-	FN

202	+	+	VP
203	-	-	VN
204	-	-	VN
205	-	-	VN
206	+	+	VP
207	+	+	VP
208	+	+	VP
209	+	-	FN
210	-	-	VN
211	+	+	VP
212	+	+	VP
213	+	+	VP
214	+	+	VP
215	+	+	VP
216	-	-	VN
217	-	-	VN
218	-	-	VN
219	-	-	VN
220	+	+	VP
221	+	+	VP
222	+	+	VP
223	+	+	VP
224	+	+	VP
225	+	-	FN
226	+	+	VP
227	+	+	VP
228	-	-	VN
229	+	+	VP
230	+	+	VP
231	-	-	VN

232	+	+	VP
233	+	+	VP
234	+	+	VP
235	+	+	VP
236	+	+	VP
237	+	+	VP
238	+	+	VP
239	+	+	VP
240	+	+	VP
241	-	+	FP
242	-	-	VN
243	-	-	VN
244	-	-	VN
245	-	+	FP
246	+	+	VP
247	-	+	FP
248	+	+	VP
249	+	+	VP
250	+	+	VP
251	-	-	VN
252	-	-	VN
253	+	+	VP
254	-	-	VN
255	+	+	VP
256	-	-	VN
257	-	+	FP
258	-	+	FP
259	+	+	VP
260	+	+	VP
261	-	-	VN

262	+	+	VP
263	-	-	VN
264	-	-	VN
265	+	+	VP
266	-	-	VN
267	-	-	VN
268	+	-	FN
269	-	-	VN
270	+	-	FN
271	+	+	VP
272	+	+	VP
273	+	+	VP
274	+	+	VP
275	-	-	VN
276	+	+	VP
277	+	+	VP
278	-	-	VN
279	+	+	VP
280	-	-	VN
281	-	-	VN
282	+	-	FN
283	+	-	FN
284	-	-	VN
285	-	+	FP
286	-	-	VN
287	+	-	FN
288	-	+	FP
289	-	-	VN
290	+	+	VP
291	+	+	VP

292	+	+	VP
293	+	+	VP
294	+	+	VP
295	+	+	VP
296	-	-	VN
297	-	+	FP
298	-	-	VN
299	-	-	VN
300	-	-	VN
301	+	+	VP
302	+	+	VP
303	-	-	VN
304	+	+	VP
305	+	+	VP
306	-	-	VN
307	-	-	VN
308	+	+	VP
309	-	-	VN
310	+	+	VP
311	+	+	VP
312	+	+	VP
313	-	-	VN
314	-	-	VN
315	-	-	VN
316	-	-	VN
317	+	-	FN
318	+	+	VP
319	+	+	VP
320	+	+	VP
321	+	+	VP
322	+	+	VP

323	+	+	VP
324	+	+	VP
325	+	+	VP
326	+	+	VP
327	+	+	VP
328	+	+	VP
329	+	+	VP
330	+	+	VP
331	+	+	VP
332	+	+	VP
333	+	+	VP
334	+	+	VP
335	+	+	VP
336	+	+	VP
337	+	+	VP
338	+	+	VP
339	+	+	VP
340	+	+	VP
341	+	+	VP
342	+	+	VP
343	+	+	VP
344	+	+	VP
345	+	-	FN
346	+	-	FN
347	+	+	VP
348	+	+	VP
349	+	+	VP
350	+	+	VP
351	+	+	VP
352	+	+	VP

353	+	+	VP
354	+	+	VP
355	+	-	FN
356	+	+	VP
357	+	+	VP
358	+	+	VP
359	+	+	VP
360	+	-	FN
361	+	+	VP
362	+	+	VP

Leyenda:

VP : Verdadero Positivo (191)
 VN : Verdadero Negativo (99)
 FP : Falso positivo (21)
 FN : Falso negativo (51)
 (+) : Positivo
 (-) : Negativo

Cálculo de la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo., y prueba de “Z” para la contrastación de hipótesis.

Hipótesis planteada. La sensibilidad de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel en el diagnóstico de la fasciolosis crónica en ovinos; en un solo examen, es mayor al 62%, la especificidad es igual al 100%, el valor predictivo positivo y negativo mayores al 90%.

Sensibilidad (S)

$$S = \frac{VP}{VP+FN} \times 100 \quad S = \frac{191}{191+51} \times 100 = 79 \%$$

Prueba de hipótesis para el resultado de sensibilidad de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel es el diagnóstico de fasciolosis crónica en ovinos es mayor al 62%.

Valor obtenido 0.79 o 79%

Se realiza la prueba de hipótesis a una significancia de 0.05

Solución:

Hipótesis nula: $p \leq 0.62$

Hipótesis alternativa $p > 0.62$

$$Z = \frac{\hat{p} - p}{\sqrt{\frac{\hat{p}\hat{q}}{n}}} = \frac{0.79 - 0.62}{\sqrt{\frac{0.79 * 0.21}{362}}} = 7.94$$

7.94 es mayor que 1.65 entonces rechazamos la hipótesis nula y concluimos que la sensibilidad es mayor a la de la bibliografía.

Especificidad (E)

$$E = \frac{VN}{VN+FP} \times 100 \qquad E = \frac{99}{99+21} \times 100 = 83\%$$

Prueba de hipótesis para el resultado de especificidad de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel es el diagnóstico de fasciolosis crónica en ovinos es igual al 100%

Valor obtenido; 83% o 0.83

Se realiza la prueba de hipótesis a una significancia de 0.05

Solución:

Hipótesis nula: $p < 1$

Hipótesis alternativa $p=1$

$$Z = \frac{\hat{p} - p}{\sqrt{\frac{\hat{p}\hat{q}}{n}}} = \frac{1 - 0.83}{\sqrt{\frac{0.83 * 0.17}{362}}} = -8.6$$

-8.6 es menor que 1.65 entonces aceptamos la hipótesis nula y concluimos que la especificidad es menor al 100%.

Valor Predictivo Positivo (VPP)

$$\text{VPP} = \frac{\text{VP}}{\text{VP}+\text{FP}} \times 100 \qquad \text{VPP} = \frac{191}{191+21} \times 100 = 90\%$$

Prueba de hipótesis para el resultado del valor predictivo positivo de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel es el diagnóstico de fasciolosis crónica en ovinos es mayor al 90%.

Valor obtenido 0.90 o 90%

Se realiza la prueba de hipótesis a una significancia de 0.05

Solución:

Hipótesis nula: $p \leq 0.90$

Hipótesis alternativa $p > 0.90$

$$Z = \frac{\hat{p} - p}{\sqrt{\frac{\hat{p}\hat{q}}{n}}} = \frac{0.9 - 0.9}{\sqrt{\frac{0.9 * 0.1}{362}}} = 0$$

0 es menor a 1.65 entonces aceptamos la hipótesis nula y concluimos que el valor predictivo positivo es igual o menor al 90%.

Valor Predictivo Negativo (VPN)

$$\text{VPN} = \frac{\text{VN}}{\text{VN}+\text{FN}} \times 100 \qquad \text{VPN} = \frac{99}{99+51} \times 100 = 66\%$$

Prueba de hipótesis para el resultado del valor predictivo negativo de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel es el diagnóstico de fasciolosis crónica en ovinos es mayor al 90%.

Valor obtenido 0.66 o 66%

Se realiza la prueba de hipótesis a una significancia de 0.05

Solución:

Hipótesis nula: $p \leq 0.90$

Hipótesis alternativa $p > 0.90$

$$Z = \frac{\hat{p} - p}{\sqrt{\frac{\hat{p}\hat{q}}{n}}} = \frac{0.66 - 0.9}{\sqrt{\frac{0.66 * 0.34}{362}}} = -9.64$$

-9.64 es menor a 1.65 entonces aceptamos la hipótesis nula y concluimos que el valor predictivo negativo es igual o menor al 90%.