

# **UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**

## **ESCUELA DE POSTGRADO**



## **MAESTRIA EN CIENCIAS**

### **SECCIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS**

### **MENCIÓN: SALUD ANIMAL**

## **TESIS**

**Niveles sérico bioquímicos en bovinos infectados con *Fasciola hepatica* con hiperplasia y/o calcificación de los conductos biliares**

**Para optar el Grado Académico de  
MAESTRO EN CIENCIAS**

**Presentado por:  
DÉBORA JAZMÍN LÓPEZ BRINGAS**

**Asesor:  
Dr. SEVERINO TORREL PAJARES**

**CAJAMARCA – PERÚ**

**2016**

COPYRIGHT © 2016 by  
**DÉBORA JAZMÍN LÓPEZ BRINGAS**  
Todos los derechos reservados

# UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

## ESCUELA DE POSTGRADO



### **MAESTRIA EN CIENCIAS SECCIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS MENCIÓN: SALUD ANIMAL**

#### **TESIS APROBADA:**

**Niveles sérico bioquímicos en bovinos infectados con *Fasciola hepatica* con hiperplasia y/o calcificación de los conductos biliares**

Para optar el Grado Académico de  
**MAESTRO EN CIENCIAS**

Presentado por:

**DÉBORA JAZMÍN LÓPEZ BRINGAS**

#### **Comité científico**

Dr. Severino Torrel Pajares  
Asesor

Mg. José Coronado León  
Miembro de Comité Científico

Mg. María Cabrera Nuñez  
Miembro de Comité Científico

M.Cs. Juan De Dios Rojas Moncada  
Miembro de Comité Científico

**Cajamarca – Perú**

**2016**

## **DEDICATORIA**

Principalmente a Dios:

Por ser mi creador, el amigo que nunca falla y la luz que guía mi camino, mi padre y confidente, gracias por regalarme cada maravilloso día para cumplir con cada una de mis metas quien me enseñó que a veces hay que caer para luego levantarse con firmeza.

A mí querido esposo e hijos, quienes con su confianza y apoyo me incentivaron para cumplir con este sueño profesional.

**Débora Jazmín López Bringas.**

## **AGRADECIMIENTO**

A mi Asesor, Dr. Severino Torrel Pajares que me guio en la ejecución de la presente Investigación.

A los Integrantes del Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Mayor de San Marcos.

A los Integrantes del Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca.

## CONTENIDO

Ítem	Pág.
<b>DEDICATORIA</b> .....	iv
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	v
<b>CONTENIDO</b> .....	vi
<b>LISTA DE GRÁFICOS</b> .....	viii
<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	ix
<b>LISTA DE CUADROS</b> .....	x
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	xi
<b>LISTA DE ANEXOS</b> .....	xii
<b>RESUMEN</b> .....	xiv
<b>ABSTRACT</b> .....	xv

## CAPÍTULO I

1.1	Introducción.....	16
1.2	Planteamiento del problema .....	17
1.3	Formulación del problema.....	18
1.4	Justificación.....	18
1.5	Hipótesis.....	19

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

2.1	Antecedentes del estudio .....	21
2.2	Base teórica.....	22

## **CAPÍTULO III**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

3.1 Localización.....	36
3.2 Población y muestra.....	37
3.3 Materiales.....	39
3.4 Metodología.....	40

## **CAPÍTULO IV**

<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>48</b>
------------------------------------	-----------

## **CAPÍTULO V**

<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>57</b>
--	-----------

<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>58</b>
--------------------------	-----------

<b>ANEXOS.....</b>	<b>62</b>
--------------------	-----------

<b>FOTOS.....</b>	<b>76</b>
-------------------	-----------

## LISTA DE GRÁFICOS

	<b>Pág.</b>
<b>Gráfico 1:</b> Niveles de Calcio .....	64
<b>Gráfico 2:</b> Niveles de Fósforo .....	64
<b>Gráfico 3:</b> Niveles de Bilirrubina Total.....	65
<b>Gráfico 4:</b> Niveles de Gamma Glutamil Transpeptidasa.....	65
<b>Gráfico 5:</b> Niveles de Fosfatasa Alcalina .....	66
<b>Gráfico 6:</b> Niveles de Proteínas Totales .....	66

## LISTA DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 1:</b> Niveles de Calcio .....	48
<b>Tabla 2:</b> Promedio de Niveles de Fósforo .....	49
<b>Tabla 3:</b> Promedio de Niveles de Bilirrubina total.....	51
<b>Tabla 4:</b> Promedio de Niveles de Gamma Glutamil Transpeptidasa .....	52
<b>Tabla 5:</b> Promedio de Niveles de Fosfatasa Alcalina.....	54
<b>Tabla 6:</b> Promedio de Niveles de Proteínas Totales.....	55

## LISTA DE CUADROS

	<b>Pág.</b>
<b>Cuadro 1:</b> Diseño Procedimental .....	38
<b>Cuadro 2:</b> Reactivos usados para determinación de calcio .....	41
<b>Cuadro 3:</b> Reactivos usados para determinación de Fósforo .....	42
<b>Cuadro 4:</b> Reactivos usados para determinación de Bilirrubina Total.....	44
<b>Cuadro 5:</b> Reactivos usados para determinación de Proteína Total.....	47

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1:</b> Promedio de Niveles de Calcio.....	48
<b>Figura 2:</b> Promedio de Niveles de Fósforo.....	50
<b>Figura 3:</b> Promedio de Niveles de Bilirrubina Total .....	51
<b>Figura 4:</b> Promedio de Niveles de Gamma Glutamil Transpeptidasa.....	53
<b>Figura 5:</b> Promedio de Niveles de Fosfatasa Alcalina .....	54
<b>Figura 6:</b> Promedio de Niveles de Proteínas Totales .....	56

## LISTA DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
<b>Anexo 1:</b> Análisis de Varianza entre grupos evaluados del nivel de calcio.....	62
<b>Anexo 2:</b> Análisis de Varianza entre grupos evaluados del nivel de Fósforo .....	62
<b>Anexo 3:</b> Análisis de Varianza entre grupos evaluados del nivel de Bilirrubina	
Total .....	63
<b>Anexo 4:</b> Análisis de Varianza entre grupos evaluados del nivel de Gamma Glutamil	
Transpeptidasa .....	63
<b>Anexo 5:</b> Análisis de Varianza entre grupos evaluados del nivel de Fosfatasa	
Alcalina .....	63
<b>Anexo 6:</b> Análisis de Varianza entre grupos evaluados del nivel de Proteína Total ..	63
<b>Anexo 7:</b> Informe de Resultados del Laboratorio de Patología Clínica de la Universidad	
Nacional de San Marcos – Grupo con Hiperplasia.....	67
<b>Anexo 8:</b> Informe de Resultados del Laboratorio de Patología Clínica de la	
Universidad Nacional de San Marcos – Grupo con Calcificación.....	68
<b>Anexo 9:</b> Informe de Resultados del Laboratorio de Patología Clínica de la	
Universidad Nacional de San Marcos – Grupo con Hiperplasia y	
Calcificación .....	69
<b>Anexo 10:</b> Fundamentos del Método para determinación de Calcio .....	70
<b>Anexo 11:</b> Fundamentos del Método para determinación de Fósforo .....	71

<b>Anexo 12:</b> Fundamentos del Método para determinación de Bilirrubina Total.....	72
<b>Anexo 13:</b> Fundamentos del Método para determinación de Gamma Glutamil Transpeptidasa .....	73
<b>Anexo 14:</b> Fundamentos del Método para determinación de Fosfatasa Alcalina.....	74
<b>Anexo 15:</b> Fundamentos del Método para determinación de Proteína Total.....	75

## RESUMEN

La distomatosis hepática producida por *Fasciola hepatica* es un factor negativo para el desarrollo de la producción ganadera en Cajamarca, afecta al ganado vacuno, ovino, porcino, equino y otros, causando pérdidas anuales en la producción láctea y cárnica de hasta 12 millones de dólares. El objetivo de la presente investigación fue evaluar los niveles sérico bioquímicos de Calcio, Fosforo, Gamma Glutamil Transpeptidasa (GGT), Fosfatasa Alcalina, Bilirrubina Total y Proteínas Totales en bovinos con hígados infectados con *Fasciola hepatica* y que presentaron hiperplasia y calcificación de los conductos biliares. Cuarenta muestras sanguíneas que fueron procesadas y analizadas en los Laboratorios de Parasitología de la Universidad Nacional de Cajamarca y en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos con un total de 10 vacunos positivos a hiperplasia, 10 vacunos positivos a calcificación, 10 vacunos positivos a hiperplasia y calcificación, los cuales fueron comparados con los exámenes macropatológicos que se realizaron en los hígados de los mismos posterior al sacrificio en el Camal Municipal de Cajamarca. Los resultados promedio obtenidos son; para el grupo con Calcificación: Calcio - 8,9 mg/dl; Fósforo - 9,49 mg/dl; Bilirrubina Total - 0,96mg/dl; Gamma Glutamil Transpeptidasa - 26,8UI/l; Fosfatasa Alcalina - 138,8 UI/l; Proteína Total - 6,28 UI/l. para el grupo de Hiperplasia y Calcificación: Calcio - 8,4 mg/dl; Fósforo - 8,16 mg/dl; Bilirrubina Total - 1,1mg/dl; Gamma Glutamil Transpeptidasa - 41,6UI/l; Fosfatasa Alcalina - 112,8 UI/l; Proteína Total - 6,97 UI/l. Concluyendo que los valores de los niveles sérico bioquímicos se encontraron significativamente incrementados, en el grupo con hiperplasia y calcificación.

**Palabras Clave:** *Fasciola hepatica*, hiperplasia, calcificación, niveles sérico bioquímicos, macropatológicos.

## ABSTRACT

Liver fluke infection caused by *Fasciola hepatica* is a negative for the development of livestock production in Cajamarca factor affects cattle, sheep, pigs, horses and other, causing annual losses in milk and meat production up to 12 million. The aim of this research was to evaluate the biochemical serum levels of calcium, phosphorus, Gamma glutamyl transpeptidase (GGT), Alkaline phosphatase, Total bilirubin and Total protein in cattle infected with *Fasciola hepatica* and showed hyperplasia livers and calcification of bile ducts. Forty blood samples were processed and analyzed in the Laboratory of Parasitology of the National University of Cajamarca and the National University of San Marcos with a total of 10 positive hyperplasia cattle, 10 positive calcification cattle, 10 positive hyperplasia cattle and calcification, which were compared with macrophatology tests were performed in the livers of these post-slaughter in the Municipal Camal of Cajamarca. The average results are; for the group with calcification: Calcium - 8.9 mg / dl; Phosphorus - 9.49 mg / dl; Total Bilirubin - 0,96mg / dl; Gamma glutamyl transpeptidase - 26,8UI / l; Alkaline Phosphatase - 138.8 IU / l; Total Protein - 6.28 IU / l. Hyperplasia for and Calcification group: Calcium - 8.4 mg / dl; Phosphorus - 8.16 mg / dl; Total Bilirubin - 1.1mg / dl; Gamma glutamyl transpeptidase - 41,6UI / l; Alkaline Phosphatase - 112.8 IU / l; Total Protein - 6.97 IU / l. Concluding that the values of biochemical serum levels were significantly increased in the group with hyperplasia and calcification.

**Keywords:** *Fasciola hepatica*, hyperplasia, calcification, serum biochemical levels, macropatológicos.

# CAPÍTULO I

## 1.1 Introducción

La ganadería bovina en el Perú, es un sector importante en la producción agropecuaria, de un total de 1 764 660 hogares rurales, 486 829 crían bovinos, el 80% del ganado se encuentra mayormente en propiedad de pequeños ganaderos y comunidades campesinas donde predomina el bovino criollo y sus cruza. La población bovina es de 5 101 895 cabezas, de los cuales el 90% son criollos y cruzados (INIA, 2012).

Varios autores comentan que dentro de las enfermedades parasitarias del ganado la fasciolosis es una de las de mayor impacto económico (Theodoropoulos et al. 2002) ya que disminuyen la producción láctea, cárnica y lanar (Acha et al. 19986, Blood et al. 1992, Delgado, 1985) además de problemas reproductivos y/o decomiso de vísceras (Díaz, 2004).

Constituye una de las enfermedades de mayor relevancia en el panorama ganadero mundial y nacional ya que el parásito afecta el hígado de numerosas especies animales, tanto poligástricos como monogástricos, sean bovinos, ovinos, equinos, caninos, cuyes, e inclusive al hombre es por eso que se han estimado grandes pérdidas económicas (Andrews, 1998).

Se calculan pérdidas de 10,5 millones de dólares al año, cifra que representa el 39,5% de las pérdidas por parasitismo y el 15% del total de pérdidas por todo concepto; con prevalencia en bovinos de 50,3 % (Leguía, 1991).

Estudios realizados en camales de Cajamarca reportan prevalencias de Fasciolosis en vacunos de 50,3% (Ramírez, 2005); de 35% (Moreno, 2011) y de 77% (Huamán, 2011).

La inmunidad contra un parásito se desarrolla después de sufrir una infección, es así que, animales jóvenes que no han sido expuestos suelen ser más susceptibles, mientras que animales adultos son más resistentes a una infección parasitaria (Philip, 1981).

La respuesta inmune en bovinos contra fasciolas adultas ocurre a nivel del hígado, específicamente a nivel de conductos biliares los cuales ocasionalmente se encuentran hiperplásicos y/o calcificados, hasta un 85% de la población de los parásitos adultos son expulsados entre las 16 y 30 semanas post-infección reduciendo el promedio de parásitos que se establecen en el hospedador retardando o inhibiendo el desarrollo de las fasciolas adultas. A la expulsión (autocura) le precede un periodo de 4 a 6 semanas de actividad biológica reducida de los parásitos suprimiendo la producción de huevos, que se manifiesta por disminución en el número de huevos eliminados en las heces (Quiroz, 2012).

## **1.2 Planteamiento del problema.**

En el Perú se han estimado grandes pérdidas económicas a causa de la fasciolosis, ya sea por mortalidad, disminución de la producción de leche, carne, lana, abortos y el decomiso de vísceras infectadas; lo que permite catalogarla, como la segunda enfermedad parasitaria económicamente más importante en la ganadería nacional.

Por lo tanto, hoy en día no existen estudios de investigación, que a través de un examen sérico plasmático bioquímico, indique que el bovino infectado con *Fasciola hepatica* presente hiperplasia y/o calcificación de los conductos biliares.

### **1.3 Formulación del problema.**

¿Están incrementados los niveles sérico bioquímicos de calcio, fósforo, Gamma Glutamyl Transpeptidasa (GGT), Fosfatasa Alcalina, Bilirrubina y Proteínas Totales, en hígados de bovinos con calcificación, hiperplasia y/o hiperplasia y calcificación de los conductos biliares?.

### **1.4 Justificación.**

En la región Cajamarca, la presencia de *Fasciola hepatica* es endémica, por lo tanto es de gran importancia determinar si hay incremento en los niveles sérico plasmáticos bioquímicos, en relación a las lesiones de la pared de los conductos biliares, afectados con hiperplasia y/o calcificación, en estos casos la *Fasciola hepatica* no podría entrar en contacto con los antiparasitarios evitando así el uso innecesario de estos productos, mejorando el ingreso económico de los ganaderos y la calidad de vida de los vacunos. Además, se reduce el riesgo de infectar a los seres humanos. El estudio generará nuevos conocimientos, que serán utilizados por ganaderos, técnicos de campo y profesionales afines. Por lo tanto, el presente trabajo tiene como finalidad evaluar los cambios en los niveles sérico plasmáticos bioquímicos, de calcio, fósforo, Gamma Glutamyl Transpeptidasa (GGT), Fosfatasa Alcalina, Bilirrubina, Proteínas Totales, en hígados de bovinos infectados con *Fasciola hepatica* con hiperplasia y/o calcificación de los conductos biliares, las muestras sanguíneas fueron

comparados con los exámenes macropatológicos que se realizaron en los hígados de los mismos bovinos, examinados posterior al sacrificio. Es así que vemos justificado el trabajo de investigación habiendo determinado hiperplasia y/o calcificación con exámenes sérico plasmáticos bioquímicos.

## **1.8 Hipótesis**

Los niveles séricos bioquímicos, en bovinos infectados con *Fasciola hepatica* se encuentran incrementados en hiperplasia, clasificación e hiperplasia y calcificación de conductos biliares.

### **Objetivos**

- Determinar los niveles séricos de Fósforo en bovinos infectados con *Fasciola hepatica* que presentan hiperplasia, clasificación e hiperplasia y calcificación de conductos biliares.
- Determinar los niveles séricos de Calcio en bovinos infectados con *Fasciola hepatica* que presentan hiperplasia, clasificación e hiperplasia y calcificación de conductos biliares.
- Determinar los niveles séricos de Bilirrubina en bovinos infectados con *Fasciola hepatica* que presentan hiperplasia, clasificación e hiperplasia y calcificación de conductos biliares.
- Determinar los niveles séricos de Gamma Glutamil Transpeptidasa en bovinos infectados con *Fasciola hepatica* que presentan hiperplasia, clasificación e hiperplasia y calcificación de conductos biliares.

- Determinar los niveles séricos de Fosfatasa Alcalina en bovinos infectados con *Fasciola hepatica* que presentan hiperplasia, clasificación e hiperplasia y calcificación de conductos biliares.
- Determinar los niveles séricos de Proteínas Totales en bovinos infectados con *Fasciola hepatica* que presentan hiperplasia, clasificación e hiperplasia y calcificación de conductos biliares.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Antecedentes del estudio.

En el Camal Municipal de Cajamarca, Quiróz (2012) determinó que en conductos biliares hiperplásicos de bovinos beneficiados, a mayor rango de edad el número de fasciolas adultas y el número de huevos por gramo de heces es mayor, pero el tamaño de las fasciolas es menor, ya que los conductos biliares de los bovinos están calcificados, es así que el número, tamaño de las fasciolas adultas y huevos por gramo de heces es menor que en conductos biliares hiperplásicos (Quiroz, 2012).

La hiperplasia, el período crónico de la Fasciolosis se manifiesta con hiperplasia e hipertrofia de los conductos biliares con fibrosis y esclerosis periductal, con o sin obstrucción; así mismo puede observarse áreas de necrosis, cambios adenomatosos, hepatomegalia, atrofia parenquimatosa y cirrosis periportal (Leguía, 1991).

En una investigación realizada en el Fundo Santa María de Sendamal – Cajamarca, se obtuvieron muestras de sangre de 100 animales de raza Holstein y se realizaron análisis para determinar las concentraciones de calcio y fósforo del suero sanguíneo siguiendo el método del fotómetro de llama y el Método de azul de Diagman y Bray respectivamente. Los resultados mostraron que no existe variación de concentraciones de calcio y fósforo en las vacas en producción, siendo los niveles séricos promedios encontrados los siguientes: 10,54; 10,39;

10,27 y 10,29 mg de calcio/100 ml de suero sanguíneo y 4,66; 4,57; 4,46 y 4,63 mg de fósforo /100 ml de suero sanguíneo (Cabanillas, 1982).

## **2.2 Base teórica.**

### **2.2.1 Fasciolosis**

Es una enfermedad parasitaria ocasionada por la *Fasciola hepatica*; tremátodo más común del hígado, prevalente en áreas templadas y en regiones de gran altitud (Kassai, 2002). La *Fasciola hepatica* es el agente etiológico de la fasciolosis, una de las parasitosis más importantes y difundidas del ganado bovino en todo el mundo, se caracteriza por una inflamación del hígado y de los conductos biliares, con frecuencia de carácter crónico y acompañada de trastornos nutritivos (Cordero y Rojo, 1999). También afecta a ovinos, caprinos, camélidos, cerdos, equinos, y aún al hombre (Rojas, 1990) y muchas especies de animales salvajes (Blood y Radostis, 1992).

### **2.2.2 Clasificación taxonómica**

La clasificación de la *Fasciola hepatica* es la siguiente (Espino y col, 2000.

Citado por Huamán 2011):

Phylum	: Platyhelminthes
Subphym	: Cercomeria
Superclase	: Cercomeridea
Clase	: Trematoda
Subclase	: Digenea

Orden	: Fascioliformes
Superfamilia	: Fasciloidea
Familia	: Fasciolidae
Subfamilia	: Fasciolinae
Género	: <i>Fasciola</i>
Especie	: <i>hepatica</i>

La *Fasciola hepatica* adulta es aplanada, no segmentada, tiene la forma de una hoja de coca y mide de 2.5 a 3 cm de largo y 1.3 cm de ancho. Es de color pardusco grisáceo, aplanada en forma de hoja, la parte anterior es más ancha que la posterior. En la parte anterior existe una proyección cónica seguida de un par de hombros sigue el cuerpo revestido profusamente de espinas dirigidas hacia atrás, en la cara dorsal aproximadamente hasta la mitad y en la ventral hasta el último tercio. La ventosa bucal es terminal y la ventral situada a la altura de los hombros, las asas uterinas están rodeadas en forma de rosetas. A la faringe musculosa le sigue el esófago; el tubo digestivo se bifurca a poca distancia de la ventosa oral formando ramas que se extienden hasta la parte posterior del cuerpo. Entre la bifurcación intestinal, por detrás de la cual se abre el poro genital, se encuentra la ventosa ventral. En la zona media anterior entre la ventosa ventral y los testículos están situadas las circunvoluciones uterinas y el ovario; y en la zona media los testículos muy ramificados. Los campos laterales están ocupados por el par de glándulas vitelógenas. El sistema nervioso consiste de un collar de tejido nervioso que rodea el extremo anterior del tubo alimenticio con tres ganglios sobre él y de largos cordones nerviosos que rodean el cuerpo hacia atrás. No existe ningún órgano de los sentidos. Los

huevos son ovales que miden 130 a 150 micras por 63 a 90 micras, de membrana fina, de color verdoso amarillento, amarillo pardo y un polo ligeramente estrechado con un casquete apenas perceptible y los mismos no están embrionados cuando son eliminados (Acha, 1986; Lapage, 1974; Soulsby, 1988. Citado por Góngora, 2005).

### **2.2.3 Ciclo de vida**

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

El miracidio mediante su espolón cefálico y sustancias líticas originan un agujero en la superficie de la cabeza o del pie del caracol, a través del cual inyecta un conjunto de células blásticas que se encuentran en el interior del miracidio; éstas se organizan en los tejidos del caracol, originando una cavidad que constituye la segunda forma larvaria, el esporocisto, en cuya pared interior se efectúa una primera reproducción asexual, dando lugar de cinco a ocho redias. Éstas, desarrollan, y a su vez en su interior, se realiza una segunda reproducción asexual llegando a formar 15 a 20 cercarias. Las cercarias rompen la redia, abandonan el caracol y mediante un flagelo nadan en búsqueda de una superficie de adherencia, que generalmente son las

hojas de las hierbas del lugar, dando origen a la forma quística llamada metacercaria. El desarrollo en el caracol se demora alrededor de seis a siete semanas (Rojas, 1990).

El desenquistamiento de las metacercarias tiene lugar en dos fases: de activación, la primera acontece en el rumen y es activada por una alta concentración de dióxido de carbono, ambiente reductor y temperatura de 39°C; la segunda o emergencia ocurre en el intestino delgado, por debajo de la desembocadura del conducto colédoco y es desencadenada por la bilis y el propio parásito. Tras el desenquistamiento, las jóvenes duelas atraviesan la pared intestinal, el parásito emigra por el parénquima hepático asentándose definitivamente en los conductos biliares a partir de los 40 días aproximadamente, donde alcanzan la madurez sexual. Los primeros huevos aparecen en las heces a partir de 55-56 días desde la ingestión de las metacercarias (Cordero y Rojo, 1999).

#### **2.2.4 Epizootiología de la *Fasciola hepatica***

Desde que se supo de la existencia de la *F. hepatica* en 1379, hasta que se conoció el ciclo completo, tuvieron que pasar más de 500 años. En los últimos 30 - 40 años cuando nos referimos a *F. hepatica* estamos ante una de las especies de vida parásita más estudiadas y mejor conocidas. La primera noticia realmente basada en hechos concretos se debe a Jean de Brie (1349-1380), quien escribió un tratado titulado “Bergerie”, que se publicó en 1379 (Dalton, 1999), este tratado que se refería al manejo de las ovejas incluye la alusión de una enfermedad que afectaba al hígado de los ovinos y se relacionaba con el consumo de una planta ranunculácea, seguida de la

aparición de “gusanos grandes y planos”, conocidos como “duelas” (Taylor, 1965). Pero hay razones para pensar que el primero que verdaderamente determinó que las fasciolas se hallaban en los conductos biliares de los animales afectados fue John Faber en 1670 (Reinhard, 1957).

### **2.2.5 Prevalencia**

El impacto de las infecciones por *Fasciola hepatica* se ha subestimado en relación a su prevalencia en el humano y a las pérdidas económicas en la ganadería. En muchos países se han reportado índices variables de infección por *Fasciola hepatica* en ganado, que oscilan entre 5 – 40% (Cordero et al. 1999).

### **2.2.6 Importancia económica**

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

### **2.2.7 Patogenia de la *Fasciola hepatica***

El desarrollo de la infección en el huésped definitivo puede dividirse en dos fases: la fase parénquimal (o migratoria) y la fase biliar. La fase

parenquimal comienza los gusanos jóvenes recién desenquistados penetran la pared del intestino, tras lo cual migran por la cavidad abdominal y penetran en el hígado u otros órganos; la *Fasciola hepatica* muestra una gran predilección por los tejidos hepáticos. Ocasionalmente se dan localizaciones ectópicas en los pulmones, diafragma, pared intestinal, riñones o tejidos subcutáneos. Durante la migración los gusanos destruyen los tejidos y aparece inflamación alrededor del recorrido migratorio (Dubinský, 1993).

La segunda fase o fase biliar, comienza cuando los parásitos entran en los conductos biliares del hígado. Allí maduran los gusanos alimentándose de sangre y comienzan a producir huevos. Como resultado del daño en los tejidos se obstruyen los conductos biliares, que se hipertrofian (Sangster, 1999).

Cuando las fasciolas llegan a los conductos biliares, ya ha comenzado una extensa proliferación del epitelio de los conductos y una fibrosis de su pared. La presencia de los parásitos en los canalículos aceleran estos cambios (colangitis). La hemorragia agrava la anemia y su actividad causa destrucción y necrosis del epitelio. La inflamación pericanicular puede extenderse al parénquima hepático (Leguía y Casas, 1999).

En los casos crónicos se produce cirrosis, las fasciolas maduras dañan los conductos biliares, que se dilatan e incluso forman quistes y tienen las paredes engrosadas y fibrosas y presentan depósitos calcáreos (Vignau et al. 2005)

La invasión del hígado causa una hepatitis traumática con puntos de hemorragia que causan anemia en las infecciones masivas o repetidas. A medida que los parásitos crecen, las hemorragias se hacen más grandes; la pared de los túneles muestra hepatocitos destruidos, sangre, y células inflamatorias, posteriormente, las áreas afectadas se fibrosan (Leguía, 1991; Cordero et al. 1999).

En los bovinos ocurre abundante calcificación de los conductos biliares. Una eosinofilia intensa aparece después de la infección. La fase de migración intrahepática generalmente va acompañada de hígroglobulinemia, probablemente por una reacción de anticuerpos, pero después se manifiesta una hipoalbuminemia por la pérdida de sangre, la cual suele aparecer durante la migración hepática en infecciones masivas (Hutyra, 1973).

Las formas juveniles en su fase migratoria causan el engrosamiento de la capsula de Glisson y una hepatitis traumática hemorrágica y necrosante con destrucción de hepatocitos que pueden llevar a la muerte en casos graves. Una vez instalados en los canales biliares producen irritación y lesiones, fibrosis, dilataciones, obstrucción de ellos por fibroesclerosis ductal y/o por acumulación de cálculos y abscesos. Cuando esto sucede a nivel de conductos cístico, vesícula biliar o colédoco genera retención de bilis e incremento de la fosfatasa alcalina, aumento de transaminasas, leucocitosis y destrucción, conocido como el síndrome biliar icterico (Corderoy et al. 1999).

**a) Calcificación**

Proceso fisiológico que se produce en el curso de la osificación.  
Degeneración de un tejido orgánico, por el depósito de sales de calcio.  
Acumulación calcárea en el hígado (Diccionario terminológico de ciencias médicas, 1984).

**b) Hiperplasia**

Multiplificación o aumento del número anormal de células de un tejido; hipertrofia numérica. Debida a un proceso inflamatorio o neoplasia. (Diccionario terminológico de ciencias médicas, 1984).

**2.2.8 Síntomas clínicos**

Fundamentalmente depende de la cantidad y frecuencia de ingestión de metacercarias, siendo los síntomas más frecuentes inapetencia, anemia, pérdida de peso menores índices productivos (Rojas, 1990).

Los animales afectados se muestran poco vivaces e incluso, letárgicos, el edema submandibular y la ascitis no son características constantes (Cordero et al. 1999).

En cuanto a la biometría hemática y química sanguínea, se observa eosinofilia en los casos agudos de Fasciolosis, junto con una marcada hipoalbuminemia y anemia normocrómica. Adicionalmente se tiene el aumento de enzimas séricas que indican un daño hepático, como la glutamato deshidrogenasa, que aumenta su nivel sérico cuando se produce la migración de la *Fasciola hepatica* a través del parénquima hepático, pero que declina cuando éstas entran a los conductos biliares, además el aumento

de la aspartato aminotransferasa es un indicador importante durante los estadios iniciales de la infección. En la forma subaguda y crónica los hallazgos comunes son una severa anemia macrocítica hipocrómica, hipoalbuminemia e hipergamaglobulinemia, adicionalmente la concentración de Gama Glutamil Transpeptidasa se encuentra elevada como consecuencia de la presencia de los parásitos adultos en los conductos biliares (Radostis et al 2007).

### **2.2.9 Importancia de niveles séricos bioquímicos**

Es importante la presencia de Calcio, Fósforo, Gama Glutamil Transpeptidasa, Fosfatasa Alcalina, Bilirrubina, Proteínas Totales, en los distintos procesos metabólicos del organismo cuyos niveles deficientes o incrementados pueden ser causantes de colangitis y las posteriores obstrucciones biliares, destruyendo el tejido hepático (Fraser, 1993).

En la actualidad existe una amplia gama de pruebas destinadas a determinar si existe daño celular hepático o su funcionalidad está alterada. Estas pruebas se basan en medir la integridad celular por medio de enzimas y en determinar metabolitos sanguíneos, cuya concentración está regulada por una de las múltiples funciones del hígado (Wittwer, 1987).

Es importante diferenciar las pruebas que nos pueden indicar un daño orgánico, de aquellos que reflejan el estado funcional del hígado, según el autor el usar el término “Pruebas de Funcionalidad Hepática” para referirse a la determinación del daño hepático es incorrecto, ya que estas no son indicadores de la capacidad funcional del órgano, ni si el daño es capaz de producir una disfunción permanente, entonces es necesario entender que un

daño hepático mediano y completamente reversible, pero que afecta una gran porción del órgano puede resultar en altos niveles de actividad enzimática en el plasma, por lo que una prueba hepática de por sí a veces no es útil para cuantificar el daño y hacer un pronóstico. Es necesario entonces usar más de una prueba e interpretar adecuadamente los resultados a la vista de la anamnesis y examen clínico (Evans y Heath, 1988).

Entonces de acuerdo a lo manifestado por Wittwer (1987) las pruebas para medir alteraciones hepáticas se pueden agrupar en:

- a) Pruebas que miden la capacidad de transporte (captación, conjugación y excreción) de aniones orgánicos:
  - Bilirrubinemia
  - Bilirrubinuria
- b) Pruebas de actividad enzimática, que miden la integridad celular del hepatocito o conducto biliar:
  - Fosfatasa Alcalina (SAP)
  - Gamma Glutamil Transpeptidasa (GGT)
- c) Pruebas bioquímicas específicas, que miden la capacidad metabólica de síntesis del hígado:
  - Dosaje de proteínas totales

### **3. Calcio**

Los valores Normales de Referencia para el Calcio son de: 9 – 12 mg/dl. Es esencial en la mayoría de las reacciones de la coagulación sanguínea y en la regulación de la excitabilidad de las fibras musculares. Su concentración en suero y orina está regulada por la acción de factores tales como niveles de parathormona, vitamina D y fósforo, observándose fluctuaciones fisiológicas debidas a edad, sexo,

embarazo, actividad física, cambios estacionales (por acción de la luz solar). La hipercalcemia está relacionada con distintas patologías: hiperparatiroidismo, neoplasias óseas e intoxicación con vitamina D. La hipocalcemia se asocia con desórdenes tales como hipoparatiroidismo, deficiencia de vitamina D, malabsorción (Wiener Laboratorios S.A.I.C).

#### **4. Fósforo**

Los valores Normales de Referencia para el Fósforo son de: 6 – 9 mg/dl (Fiske, 1925). El fósforo se encuentra en el organismo formando parte de compuestos orgánicos (proteínas, lípidos, carbohidratos, ácidos nucleicos, etc.) o como fosfatos inorgánicos, cumpliendo diversas funciones (transporte de energía, estructura de los tejidos, mantenimiento del pH de los líquidos corporales). Los tejidos óseos y muscular lo contienen como constituyente esencial y es notable su participación en la composición del tejido nervioso. Su concentración en circulación está regulada entre otros factores por los niveles de vitamina D y las glándulas endócrinas, observándose variaciones fisiológicas de acuerdo a la edad, ingesta, actividad física, embarazo (Wiener Laboratorios S.A.I.C).

#### **5. Gamma Glutamil Transpeptidasa (GGT)**

Los valores Normales de Referencia para la Gamma Glutamil Transpeptidasa son menores de 27 U/I (Faser ,1993). La Gamma Glutamil Transpeptidasa (GGT) es una enzima de membrana ampliamente distribuida en el organismo, localizada principalmente en riñón, vesículas seminales, páncreas, hígado, bazo y cerebro. Su actividad es influenciada por cualquier factor que afecte a las membranas celulares de los órganos que la contienen. En el caso de alteraciones hepáticas, la GGT generalmente es un indicador de agresión tóxica. Sin embargo, la determinación

sólo tiene valor clínico cuando sus valores son comparados con los de otras enzimas de mayor órgano-especificidad. El análisis conjunto de GGT, fosfatasa alcalina, transaminasas y bilirrubina, amplía significativamente el panorama del diagnóstico diferencial de las enfermedades hepáticas primarias y secundarias, formando parte del hepatograma (Wiener, Laboratorios S.A.I.C).

La GGT presenta buena especificidad para detectar daño hepático, incrementando su actividad plasmática por daño canalicular, en casos de colestasis, hiperplasia de conductos biliares, cirrosis y colangiocarcinoma (Pearson, 2006; Tennant, 2008; Hoffmann, 2008; Stockhman y Scott, 2008). Por ello su actividad plasmática está aumentada en vacas con Fasciolosis (Melo, 1999; Pearson, 2006).

Entre las enzimas hepáticas utilizadas en el diagnóstico clínico de enfermedades hepatocelulares o colestasis en rumiantes están glutamato deshidrogenasa, GDH; la aspartato amino transferasa, AST; y la g-glutamil transpeptidasa, GGT. La GDH y la GGT se consideran órgano-específicas, la primera es hepatocelular y la segunda canalicular, mientras que la AST siendo hepatocelular también se ubica en células musculares y otras (Melo, 1999).

## **6. Fosfatasa Alcalina**

Los valores Normales de Referencia para la Fosfatasa Alcalina son de: menos 27 U/I (Faser, 1993). Es una enzima ampliamente distribuida en el organismo. Hidroliza los monoésteres del ácido ortofosfórico en medio alcalino. La actividad sérica de fosfatasa alcalina ósea, en condiciones normales, alcanza su mayor actividad en edad de crecimiento (llegando a triplicar los niveles en el adulto) debido a que esta isoenzima se localiza en los osteoblastos (relacionados con la calcificación y formación de estructuras óseas).

## **7. Bilirrubina**

Los valores Normales de Referencia para Bilirrubina son de menos 0.5 U/I (Faser, 1993). La bilirrubina es un producto de degradación de la hemoglobina, formada en las células retículo endoteliales del bazo y de la medula ósea, que es transportada en el torrente circulatorio por diversas partículas. La bilirrubina libre o no conjugada no es capaz de atravesar la barrera glomerular del riñón. Cuando la bilirrubina libre se conjuga con ácido glucorónico en el hígado, se hace soluble en agua y es capaz de atravesar los glomérulos renales. La bilirrubina conjugada se excreta normalmente a través de la bilis. Si la conjugación y excreción en el hígado son normales el nivel sérico de bilirrubina total será de 1mg/dl. En el laboratorio se realiza para bilirrubina 2 pruebas, la bilirrubina total (conjugada y no conjugada) y la bilirrubina directa (conjugada). La bilirrubina total aumenta si la destrucción de eritrocitos aumenta o si la conjugación de bilirrubina en el hígado es defectuosa. La bilirrubina directa aumenta si la excreción de bilis disminuye. En la hepatitis aguda la bilirrubina total esta aumentada, en la cirrosis hepática aumenta la bilirrubina total y la bilirrubina directa. Las alteraciones hepatocelulares u obstrucciones biliares pueden provocar hiperbilirrubinemias (Wiener Laboratorios S.A.I.C).

## **8. Proteínas Totales**

Los valores Normales de Referencia para Proteínas Totales son de menos 27 U/I (Faser, 1993). Son compuestos orgánicos macromoleculares, ampliamente distribuidos en el organismo y esenciales para la vida. Actúan como elementos estructurales y de transporte y aparecen bajo la forma de enzimas, hormonas, anticuerpos, factores de coagulación, etc. La proteína más abundante en plasma es la albúmina. Una de sus funciones más importantes es la de permitir el transporte de ácidos grasos, hormonas esteroides, bilirrubina, catecolaminas, que en forma

libre son insolubles en medio acuoso. La concentración de albúmina en plasma influye notablemente en el mantenimiento de la presión coloidosmótica, lo que estaría relacionado con su relativamente bajo peso molecular y su gran carga neta (Bogin, 1989).

En condiciones patológicas como pérdidas renales, desnutrición, infecciones prolongadas, etc., suelen presentarse hipoproteinemias, mientras que, en otras como mieloma múltiple, endocarditis bacteriana y hemoconcentraciones de diversos orígenes, se observan hiperproteinemias. En general, ambas situaciones se ven acompañadas también por hipoalbuminemias. Los aumentos anormales de albúmina son ocasionales y se relacionan casi siempre con deshidratación que produce el consecuente aumento en el contenido proteico del plasma (Wiener Laboratorios S.A.I.C).

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Localización.

El presente trabajo de investigación se realizó en el Camal Municipal de Cajamarca y en los Laboratorios de Parasitología Veterinaria de las Facultades de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca y de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Cajamarca cuenta con las siguientes características geográficas y meteorológicas (\*):

Altitud	: 2750 m de altitud
Latitud sur	: 7° 10´
Longitud oeste	: 78° 30´
Clima	: Templado seco
Temperatura promedio anual	: 14,5°C
Temperatura máxima promedio anual	: 21,4°C
Temperatura mínima promedio anual	: 7,6°C
Precipitación pluvial anual	: 528,5 mm
Humedad relativa promedio anual	: 64,7%
Presión atmosférica	: 742,4 milibares
Horas de brillo solar promedio anual	: 5,9 sol/día

---

(\*) Fuente: Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología (SENAMHI) – Estación UNC - Cajamarca, tipo automática – meteorológica. Cajamarca - 2014

### **3.2 Población y muestra.**

#### **Población:**

La población que se utilizó para este estudio fue de 30 bovinos, las muestras fueron recolectadas en el Camal Municipal de Cajamarca, posterior al beneficio de los animales.

#### **Muestra**

Sangre sin anticoagulante de treinta bovinos.

#### **Procedimiento toma muestra de sangre**

- 1) La toma de muestra se realizó por decantación, luego del corte en la vena yugular se deja que corra la sangre de 3 a 5 segundos para minimizar riesgos de contaminación de la muestra.
- 2) Se usaron tubos de 6ml con gel separador, tapa amarilla siliconada.
- 3) Las muestras se identificaron y luego se llevaron al laboratorio.
- 4) Los tubos con muestra se centrifugaron a 3000 r.p.m. durante 10 a 15 minutos.
- 5) Se procedió a separar el suero y se colocó en viales, seguidamente se llevó a congelación (-30°C) hasta el procesamiento de las diferentes pruebas.

#### **Examen Macropatológico de hígados**

El examen macropatológico se realizó en la mesa de inspección de vísceras del Camal Municipal de Cajamarca, se procedió a la observación macroscópica de los hígados por la cara visceral donde se realizaron cortes

longitudinales de los conductos biliares para su observación y se clasificaron de acuerdo a la presencia de hiperplasia y/o calcificación (de los conductos biliares).

### **Diseño procedimental**

En el proyecto de investigación se realizará un análisis descriptivo, se emplearán tablas y figuras.

Cuadro 1: Diseño Procedimental

	Calcio	Fósforo	GGT	Fosfatasa Alcalina	Bilirrubina	Proteínas Totales	Correlación
Hiperplasia	X	x	x	x	x	X	x
Calcificación	X	x	x	x	x	X	x
Hiperplasia y Calcificación	X	x	x	x	x	X	x

### **Análisis de datos.**

Se realizó la evaluación de cada resultado de las pruebas bioquímicas realizadas a las muestras de sangre y fueron comparadas con los exámenes macropatológicos de los hígados positivos a hiperplasia y calcificación. Los datos fueron sometidos a una prueba estadística para determinar el nivel de significancia (ANOVA).

### **Tipo de investigación.**

Analítico Exploratorio; analítico porque consiste fundamentalmente en establecer la comparación de variables entre los grupos de estudio sin aplicar o manipular las variables.

### 3.3 Materiales

**Material de laboratorio;** el material de laboratorio utilizado fue el siguiente:

- Analizador semiautomático de bioquímica Chem 7
- Pipetas graduadas
- Micropipetas
- Cubetas espectrofotométricas
- Varillas plásticas
- Balanza analítica
- Tubos con factor de coagulación
- Reactivos
- Agua destilada
- Cronometro
- Gradillas
- Kit Ca-color: determinación de calcio
- Kit Fosfatemia UV: determinación de fosforo orgánico
- Kit Y- G –Test cinética: para la determinación de gamma glutamil transpeptidasa
- Kit ALP 405: para la determinación de fosfatasa alcalina en suero
- Kit Bilirrubina Standard de Winer laboratorio: para la determinación de bilirrubina directa y total en suero
- Kit Proti 2 : para la determinación de proteínas totales en suero

**Material biológico;** el material biológico utilizado fue suero sanguíneo de 30 vacunos divididos en 4 grupos de estudio:

- 10 vacunos positivos a hiperplasia a la necropsia.

- 10 vacunos positivos a calcificación a la necropsia.
- 10 vacunos positivos a hiperplasia y calcificación a la necropsia.

### **3.4 Metodología:**

Se realizaron visitas continuas al Camal Municipal de Cajamarca, en cada visita se tomaron muestras de sangre por decantación, aproximadamente 7ml por animal y luego cada tubo de ensayo fue colocado en forma oblicua en una gradilla para tubos.

A continuación se realizó el seguimiento de los hígados de los vacunos de los cuales se obtuvo la muestra de sangre, se marcó a la altura de la unión por la membrana cricotraqueal (Tráquea – hígado), y se realizó el examen macropatológico, teniendo como criterio de selección el grado de daño hepático encontrado, hígados con hiperplasia, hígados con hiperplasia y calcificación e hígados con calcificación.

Las muestras de sangre obtenidas fueron llevadas al laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de Cajamarca donde se procedió a separar el suero, para ello se centrifugaron y se colocó el suero en viales y luego en microtubos de 1.5ml, las mismas que fueron congeladas (-30°C) hasta su traslado al Laboratorio de Patología Clínica de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en la ciudad de Lima, en donde se trabajaron utilizando pruebas de análisis para cada uno de los parámetros en estudio utilizando los siguientes Kits de laboratorio:

**a) Kit para determinación de calcio: Ca – color**

**Método colorimétrico utilizado para la determinación de calcio en suero.**

Los Reactivos con los que se trabajó fueron:

**A. Reactivo A:** solución de o-cresoltaleíncomplexona y 8-hidroxiquinolina.

**B. Reactivo B:** solución de aminometil propanol (AMP).

**S. Standard:** solución de calcio 10 mg/dl.

**Procedimiento:**

Se utilizaron tres tubos marcados el primero con la letra B (Blanco), el segundo con la letra S (Standard) y el tercero con la letra D (Des- conocido) y se colocaron los reactivos en las cantidades indicadas en el siguiente cuadro:

Cuadro 2: Reactivos usados para determinación de calcio.

	B	S	D
<b>Agua destilada</b>	10ul	-	-
<b>Standard</b>	-	10 ul	-
<b>Muestra</b>	-	-	10 ul
<b>Reactivo A</b>	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
<b>Reactivo B</b>	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml

Se mezcló homogéneamente con una varilla, se incubo por 5 minutos a temperatura ambiente (15-25°C), seguidamente se procedió a la lectura de la absorbancia en espectrofotómetro a 570 nm o en fotocolorímetro con filtro rojo (560-590 nm), llevando el aparato a cero con agua destilada.

**Estabilidad de la mezcla en la reacción final:** El color de reacción final es estable durante 3 horas, la absorbancia fue leída inmediatamente.

**Los Valores normales de referencia son de :** 9 - 12 mg/dl

**Kit para determinación de fósforo: Fosfatemia – UV**

**Método UV (ultra violeta) para la determinación de fósforo inorgánico (Pi) ensuero.**

Para esta prueba se usaron los siguientes reactivos:

**A. Reactivo A:** solución molibdato de amonio 2 mol/l en ácido sulfúrico 1%.

**S. Standard\*:** solución estabilizada de fosfatos equivalente a 4mg/dl de fósforo inorgánico.

**Procedimiento:**

Se colocaron tres cubetas marcadas la primera con la letra B (Blanco), la segunda con una letra S (Standard) y la tercera con una letra D (Desconocido), y se agregó los reactivos en las cantidades indicadas en el siguiente cuadro:

Cuadro 3: Reactivos usados para determinación de Fósforo:

	B	S	D
Standard	-	10 ul	-
Muestra	-	-	10 ul
Reactivo A	1 ml	1 ml	1 ml

Incubar 10 minutos a temperatura ambiente. Luego leer en espectrofotómetro a 340 nm, llevando el aparato a cero con el blanco.

**Estabilidad de la mezcla en la reacción final:** La reacción final es estable durante 20 minutos, por lo que la absorbancia fué leída inmediatamente.

**Los Valores normales de referencia son de:** 5 - 7 mg/dl

**Kit para determinación de Bilirrubina: Bilirrubina**

**Método para la determinación de bilirrubina directa y total**

Se utilizaron los siguientes reactivos:

- A. Reactivo A:** solución acuosa de benzoato de cafeína 0,13 mol/l, tamponada y estabilizada.
- B. Reactivo B:** solución de ácido sulfanílico 29 mmol/l y ácido clorhídrico 0,17 mol/l.
- C. Reactivo C:** solución de nitrito de sodio 0,07 mol.

**Procedimiento:**

Se utilizaron tres tubos marcados el primero con la letra B (Blanco), el segundo con la letra D (Directa) y el tercero con la letra T (Total) colocar los reactivos de acuerdo a las especificaciones en el siguiente cuadro:

Cuadro 4: Reactivos usados para determinación de Bilirrubina:

	B	D	T
<b>Muestra (suero)</b>	200 ul	200 ul	200 ul
<b>Agua destilada</b>	2,5 ml	2,5 ml	-
<b>Reactivo A</b>	-	-	2,5 ml
<b>Reactivo B</b>	200 ul	-	-
<b>Diazorreactivo</b>	-	200 ul	200 ul

Mezclar de inmediato cada tubo por inversión. Luego de 5 minutos, se dio lectura al espectrofotómetro a 530 nm, llevando el aparato a cero con agua destilada. Las lecturas pueden efectuarse entre 4 y 15 minutos, excepto para la bilirrubina directa que debe leerse a los 5 minutos exactos. Si se lee antes, habrá subvaloración de los resultados por reacción incompleta. Si se lee después, habrá sobrevaloración porque comienza a reaccionar la bilirrubina libre.

**Los niveles normales de referencia son de:** < 0.5 mg/dl

**Kit para determinación de GGT:  $\gamma$ -G-test**

**Método (Szasz modificado) para la determinación de  $\gamma$ -glutamyltransferasa en plasma.**

Para esta prueba se utilizaron 2 reactivos que actúan como un Reactivo único:

**A. Reactivo A:** solución de buffer Tris conteniendo glicil- glicina.

**B. Reactivo B:** solución de L- $\gamma$ -glutamyl-3-carboxi-4-nitro-anilida.

**Procedimiento:**

Se utilizó un 1 ml de un **Reactivo único**, se pre incubó por unos minutos, luego se agregó 100 ml de la muestra se mezcló rápidamente con la ayuda de una varilla de plástico y proseguir de inmediato la incubación disparando simultáneamente el cronómetro. Registrar la absorbancia a los 1, 2 y 3 minutos. Determinar la diferencia promedio de absorbancia en cada fracción de tiempo (A/min) restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

**Los Valores normales de referencia son de:** <27 U/l

**Kit para determinación de Fosfatasa alcalina: ALP- 405**

**Método cinético optimizado (DGKC y SSCC) a 405 nm, para la determinación de fosfatasa alcalina**

Para esta prueba se utilizaron 2 reactivos que actúan como un Reactivo único:

**A. Reactivo A:** solución de buffer DEA (dietanolamina), conteniendo sales de magnesio.

**B. Reactivo B:** solución conteniendo p-nitrofenil fosfato (p- NFF).

**Procedimiento:**

Se realizó la técnica con el uso de un reactivo único se utilizó una cubeta mantenida a la temperatura de reacción seleccionada y se colocó uno de los reactivos elegidos, 1,0 ml del reactivo único, pre incubar por unos minutos. Luego agregar 10 ul de la muestra, mezclar inmediatamente utilizando una varilla

de plástico y disparar simultáneamente el cronómetro, esperar 20 segundos y leer la absorbancia inicial. Registrar la absorbancia luego de 1, 2 y 3 minutos de la primera lectura. Determinar la diferencia promedio de Absorbancia/min (A/min), restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

### **Estabilidad de la mezcla en la reacción final**

El color de la reacción es estable durante 30 minutos por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de ese lapso

**Los Valores normales de referencia son de:** < 27 UI/L

### **Kit para determinación de Proteínas totales: Proti 2**

#### **Método colorimétrico para la determinación de Proteínas Totales en suero.**

Se utilizaron los siguientes reactivos:

- A. Reactivo A:** complejo EDTA/Cu 13 mol/l en hidróxido de sodio 875 mol/l y alquilarilpoliéter (AAP).
- B. Reactivo B:** solución de 3,3',5,5'-tetrabromo cresolsulfonftaleína (en polioxietilénlauril éter).
- S. Standard** (Suero Patrón): solución de albúmina y globulinas de origen bovino, con título conocido de proteínas y albúmina. Consultar los valores asignados en el rótulo, debido a que los mismos son lote específico.

**Procedimiento:**

Se colocaron tres cubetas marcadas la primera con la letra B (Blanco), la segunda con una letra S (Standard) y la tercera con una letra D (Desconocido), y se agregó los reactivos en las cantidades indicadas en el siguiente cuadro:

Cuadro 5: Reactivos usados para determinación de Proteínas totales:

	B	S	D
<b>Agua destilada</b>	50 ul	-	-
<b>Standard</b>	-	50 ul	-
<b>Muestra</b>	-	-	50 ml
<b>Reactivo A</b>	3,5 ml	3,5 ml	3,5 ml

Mezclar con varilla. Incubar 15 minutos a 37°C. Leer en espectrofotómetro a 540 nm o en fotocolorímetro con filtro verde (520-560 nm) llevando a cero con el Blanco de Reactivo.

**Estabilidad de la mezcla en la reacción final**

El color de la reacción es estable durante 12 horas por lo que la absorbancia fué leída dentro de ese lapso.

**Los Valores normales de referencia son de: < 27 UI/L**

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

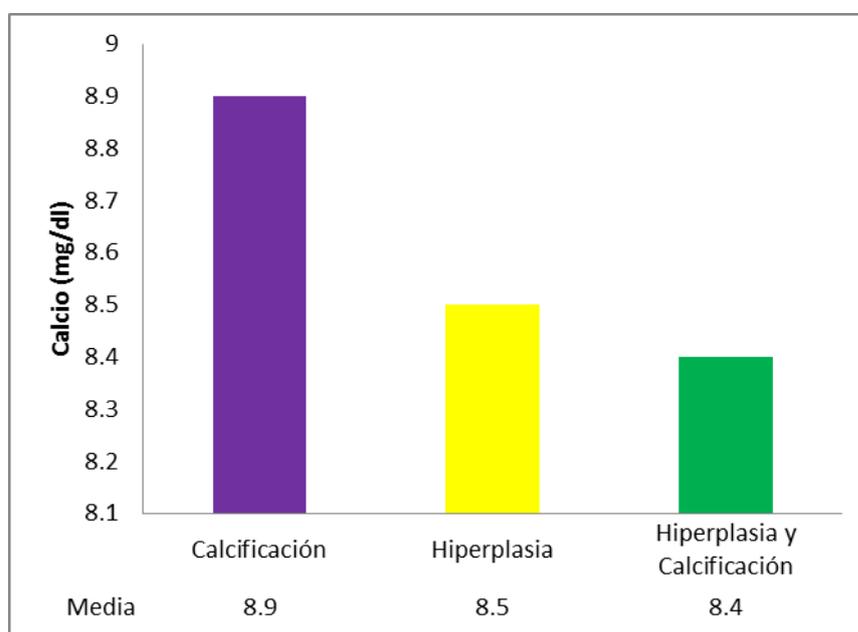
#### RESULTADOS:

#### NIVELES DE CALCIO

**Tabla 1: Niveles de Calcio (mg/dl) entre grupos evaluados**

Grupos	Media	Mínimo	Máximo
Calcificación	8,9±0,74	8,00	10,00
Hiperplasia	8,5±0,53	8,00	9,00
Hiperplasia y Calcificación	8,4±1,26	6,00	10,00

Letras similares en una misma columna indican similitud ( $P>0,05$ )



**Figura 1: Promedio de Niveles de Calcio (mg/dl) entre grupos evaluados**

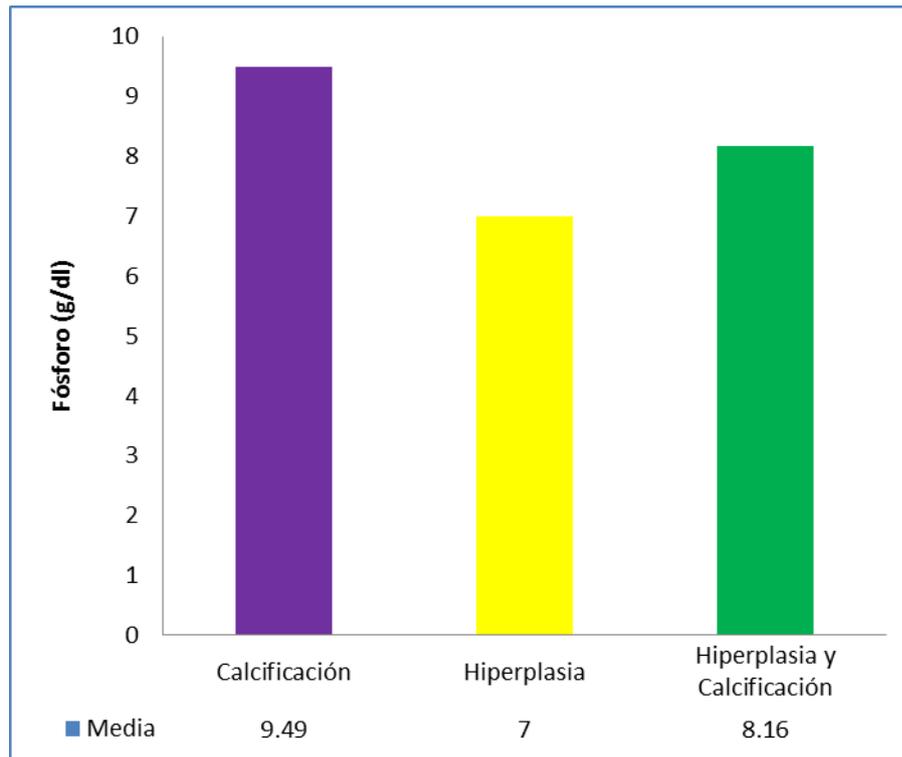
En la tabla 1 y figura 1 se presentan los valores séricos medios de calcio (mg/dl), no existiendo diferencia significativa entre los grupos evaluados. Los valores normales son de: 9 -12 mg/dl. Y los valores séricos obtenidos en el presente trabajo de investigación son: Para el grupo con calcificación de 8.9, para el grupo con hiperplasia 8.5, y para el grupo de hiperplasia con calcificación de 8.4 estos valores son aceptados como normales ya que la poca diferencia que existe entre ellos puede ser atribuida al tipo de alimentación que el vacuno reciba como elevado consumo de calcio, sodio, fosforo y ciertos aditivos presentes en los concentrados, así también como la edad, y el sexo.

## NIVELES DE FÓSFORO

**Tabla 2: Promedio de Niveles de Fósforo (mg/dl) entre grupos evaluados**

Grupo Evaluado	Media	Mínimo	Máximo
Calcificación	9,49±1,61 a	6,10	11,00
Hiperplasia	7,00±2,12 b	4,70	11,30
Hiperplasia y Calcificación	8,16±2.36 ab	5,40	12,00

Letras diferentes en una misma columna (a, b) indican diferencia significativa (P<0,5; Duncan)



**Figura 2: Promedio de Niveles de Fósforo (mg/dl) entre grupos evaluados**

Tabla 2 y figura 2 se presentan los valores promedio del fósforo (mg/dl) comparado entre grupos, registrando valores mayores los del grupo de calcificación y diferente a los valores promedio del grupo con hiperplasia, no existiendo correlación entre los valores de calcio con el fósforo dentro de cada grupo.

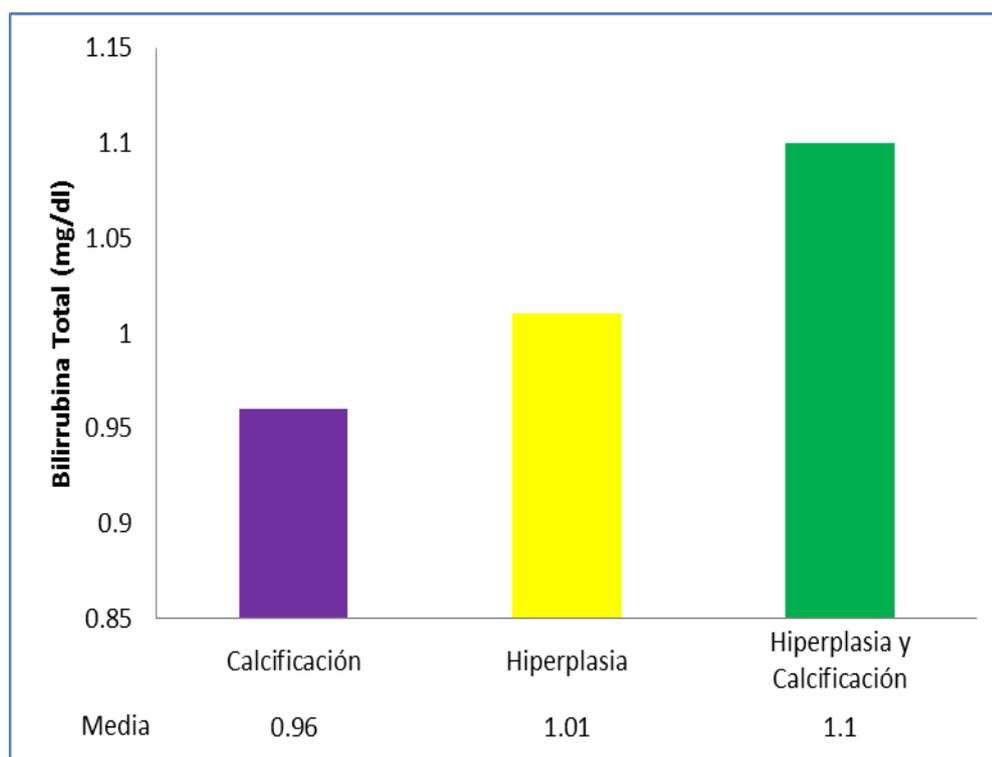
Los resultados para el grupo de calcificación 9.49 y el grupo de hiperplasia y calcificación con 8.16, son valores que confirman un daño hepático.

## NIVELES DE BILIRRUBINA TOTAL

**Tabla 3: Promedio de Niveles de Bilirrubina Total (mg/dl) entre grupos evaluados**

Grupo Evaluado	Media	Mínimo	Máximo
Calcificación	0,96±0,21 ab	0,60	1,30
Hiperplasia	1,01±0,35 ab	0,50	1,60
Hiperplasia y Calcificación	1,10±0,25 a	0,70	1,40

Letras diferentes en una misma columna (a, b) indican diferencia significativa (P<0,5; Duncan).



**Figura 3: Promedio de Niveles de Bilirrubina Total (mg/dl) entre grupos evaluados**

En la Tabla 3 y figura 3, se presentan los valores medios de Bilirrubina Total, los valores medios del grupo control fueron inferiores a los valores medios de bilirrubina total (mg/dl) del grupo que presentaron hiperplasia con calcificación.

En la hiperplasia con calcificación existió una relación inversamente proporcional ( $r: -0.784; P < 0,01$ ) entre la Bilirrubina Total mg/dl con la fosfatasa alcalina (UI/L); es decir que a medida que se incrementa la Bilirrubina Total mg/dl disminuye la fosfatasa alcalina (UI/L)

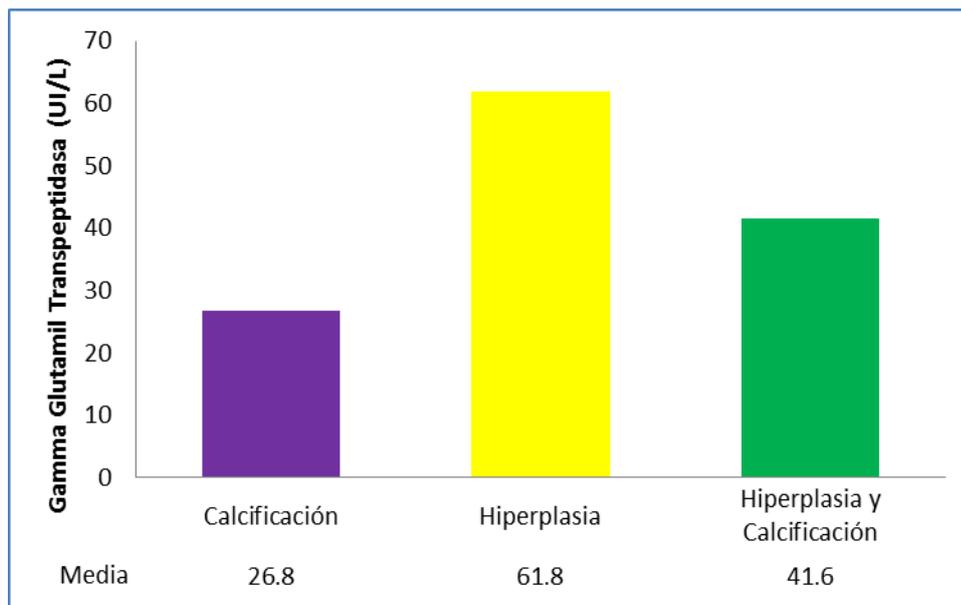
De forma general se presentan los valores normales que refiere de  $< 0.5$  mg/dl. Los valores séricos, para todos los grupos estuvieron elevados pero de manera marcada para el grupo con calcificación  $0.96$  mg/dl y el grupo de hiperplasia y calcificación con  $1.1$  mg/dl, lo que nos indica mayor descomposición de glóbulos rojos de lo normal, causando ictericia, cirrosis (cicatrización del hígado), enfermedad hepática, y problemas con las vías, estenosis biliar, cálculos biliares.

#### **NIVELES DE GAMMA GLUTAMILTRANSPEPTIDASA**

**Tabla 4: Promedio de Niveles de Gamma Glutamil Transpeptidasa (UI/L)**

<b>Grupo Evaluado</b>	<b>Media</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
<b>Control</b>	23,0±11 a	13	47
<b>Calcificación</b>	26,8±19 a	13	75
<b>Hiperplasia</b>	61,8±142 a	13	466
<b>Hiperplasia y Calcificación</b>	41,6±44 a	13	125

Letras similares en una misma columna indican similitud ( $P > 0,05$ )



**Figura 4: Niveles de Gamma Glutamyl Transpeptidasa**

En la Tabla 4 y figura 4 se presentan los valores promedios de los niveles de Gamma Glutamyl Transpeptidasa (UI/L), observándose elevados desvíos estándar especialmente en el grupo de los niveles de hiperplasia, lo que determina valores medios inadecuados, donde extraemos los valores atípicos elevados y mínimos en los grupos de calcificación, hiperplasias e hiperplasias con calcificación, observándose pocas dispersiones donde no existen valores mínimos ni máximos muy alejados de la tendencia, esto nos indica que no existe mucha diferencia en los niveles de gamma glutamil transpeptidasa, observándose en el grupo de hiperplasia un valor atípico lo que hace una mayor dispersión que alarga el valor de un máximo no existiendo una simetría, observándose valores atípicos mínimos en el grupo de calcificación y calcificación con hiperplasia, concluyendo que los valores de gamma glutamil transpeptidasa en los cuatro grupos son los mismos.

Los valores normales que refiere son de  $< 27$  UI/L. Los valores séricos, para el grupo Control se encuentran dentro del rango normal, considerando que es una enzima que participa en el transporte de aminoácidos y péptidos través de la membrana celular,

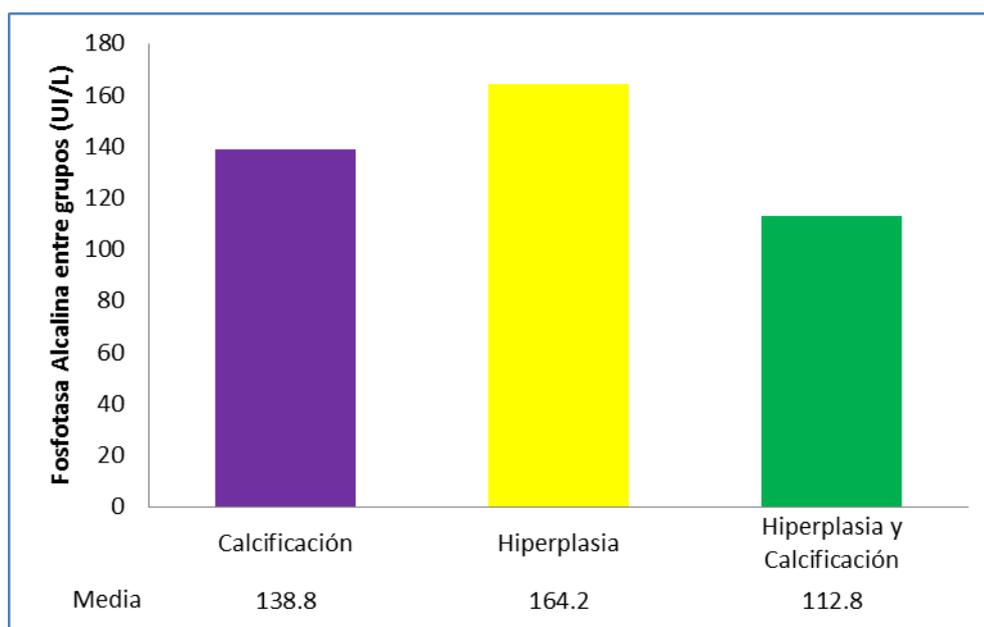
los hepatocitos al no recibir los aportes necesarios degenera en disfunción hepática, en el grupo de calcificación el transporte de péptidos y aminoácidos es lento pero todavía se da porque la membrana celular está parcialmente atrofiada por el proceso de calcificación, en el grupo de hiperplasia la activación del FGF23 es un regulador fisiológico del Pi y como predictor de calcificaciones , estimula la secreción de PTH e induce la hiperplasia.

## NIVELES DE FOSFOTASA ALCALINA

**Tabla 5: Promedio de Niveles Fosfotasa Alcalina entre grupos (UI/L)**

Grupo Evaluado	Media	Mínimo	Máximo
Control	134,6±32,49 a	109	204
Calcificación	138,8±38,54 a	98	240
Hiperplasia	164,2±87,62 a	70	374
Hiperplasia y Calcificación	112,8±46,80 a	53	196

Letras similares en una misma columna indican similitud ( $P > 0,05$ )



**Figura 5: Promedio de Niveles de Fosfotasa Alcalina Entre grupos (UI/L)**

En el cuadro 5 se presentan los niveles de Fosfatasa Alcalina entre grupos donde los niveles fueron estadísticamente similares ( $P>0,05$ ).

Existe también una relación directamente proporcional es decir se incrementa la Fosfatasa Alcalina (UI/L) a medida que se incrementa la Gamma Glutamil Transpeptidas (UI/L) cuando existe Hiperplasia.

Los valores normales que refiere de  $< 27$  UI/L. Los valores para todos los grupos en estudio se encuentran dentro de los parámetros normales aun así cabe resaltar que se ve un incremento diferencial en el grupo con hiperplasia dado que es un marcador hepático es necesario combinarla con pruebas hepato específicas como la de GGT para poder determinar daño hepático inminente, la fosfatasa alcalina favorece la calcificación por eso se eleva en la etapa previa que es la hiperplasia, dándose también un elevado valor para los niveles de gamma glutamil transpeptidasa en los mismos grupos.

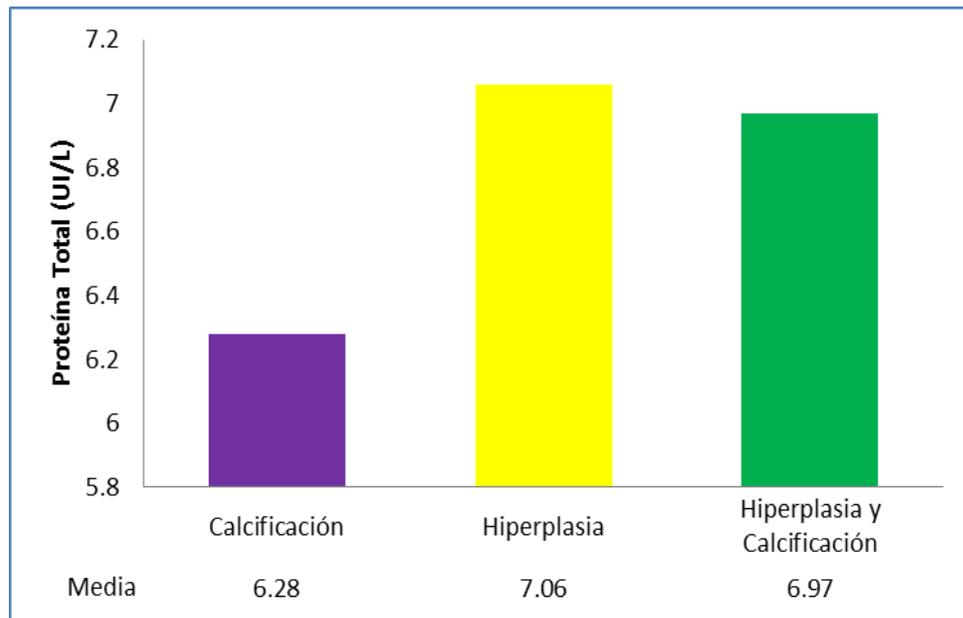
## NIVELES DE PROTEÍNAS TOTALES

**Tabla 6: Promedio de Niveles de Proteína Total (UI/L) entre grupos**

<b>Grupo Evaluado</b>	<b>Media</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
<b>Calcificación</b>	6,28±0,34 ab	5,80	6,80
<b>Hiperplasia</b>	7,06±1,30 a	5,00	9,90
<b>Hiperplasia y Calcificación</b>	6,97±1,19 a	5,40	9,20

Letras diferentes en una misma columna (a, b) indican diferencia significativa

( $P<0,5$ ; Duncan)



**Figura 6: Promedio de Niveles de Proteína Total (UI/L) entre grupos**

En la tabla 6 y la figura 6 se presentan los valores normales que refiere de  $< 27$  UI/L. Los bajos valores séricos, para los grupos de estudio como el de calcificación, hiperplasia, el aumento de los valores se encuentra en relación a la mayor demanda de reposición celular que el organismo requiere en estado de daño celular en el órgano en estudio así como la reposición celular del sistema inmune, cabe resaltar que la albúmina es la proteína de mayor concentración de las proteínas totales (60%) ya que esta transporta moléculas como la bilirrubina. por lo tanto se elevan los valores en el grupo con hiperplasia y en el grupo de hiperplasia y calcificación se eleva la gamma glutamil transpeptidas

Existe una relación directamente proporcional en Hiperplasia es decir a medida que se incrementa la Gamma Glutamyl Transpeptidas (UI/L) se incrementa la proteína total (UI/L).

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. Se concluye que los resultados encontrados fueron: Para el grupo con Hiperplasia: Calcio-8,5 mg/dl; Fósforo-7 mg/dl; Bilirrubina Total-1,01 mg/dl; Gamma Glutamil Transpeptidasa-61.8 UI/l; Fosfatasa Alcalina-164,2 UI/l; Proteína Total-7.06 UI/l. Se concluye que los valores se encuentran incrementados.
2. Para el grupo con Calcificación: Calcio-8,9 mg/dl; Fósforo-9,49 mg/dl; Bilirrubina Total-0,96 mg/dl; Gamma Glutamil Transpeptidasa-26,8 UI/l; Fosfatasa Alcalina, 138,8 UI/l; Proteína Total, 6.28 UI/l.
3. Para el grupo de Hiperplasia y Calcificación: Calcio-8,4 mg/dl; Fósforo-8,16 mg/dl; Bilirrubina Total-1.1 mg/dl; Gamma Glutamil Transpeptidasa – 41,6 UI/l; Fosfatasa Alcalina-112,8 UI/l; Proteína Total-6,97 UI/l; entonces se puede concluir que los niveles sérico plasmáticos se encontraron incrementados, en forma significativa en el grupo con Hiperplasia y Calcificación.

## BIBLIOGRAFIA

- Acha, P.; B. Szifres. 1986.** Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Editorial Interamericana. Buenos Aires. Argentina 1986 Pág. 645-658.
- Andrews, 1998.** The life cycle of *Fasciola hepatica*. (ed. Fasciolosis. Ireland. Pág. 1-20
- Bogin, E. 1989.** Patología Clínica Veterinaria. Editorial Makrografic. Asunción – Paraguay.
- Blood, D. y Radostitis O. 1992.** Medicina Veterinaria. 7° edición. Editorial interamericana Mc Graw-hill. Pág. 1100-1106.
- Cabanillas O. 1982.** Determinación de Calcio y Fósforo Sérico en Bovinos de Raza Holstein en el Fundo de Santa María de Sendamal – Cajamarca. Tesis para optar el título profesional de Médico Veterinario. Universidad Nacional de Cajamarca Pág. 16.
- Cordero del Campillo, M., Rojo Vásquez, F., Martínez Fernández, A., Sánchez Acedo, C., Hernández Rodríguez, S., Navarrete López-Cozar, J., Díez Baños, P., Quiroz Romero, H. y Carvalno Valera, M. 1999.** Parasitología Veterinaria. Primera Edición en español. Editorial Interamericana-España. Capítulo 18: 260-271.
- Dalton, J. 1999.** Fasciolosis. CAB International Publishing, Oxon, UK. p. 1 – 43.
- Delgado A. 1985.** *Enfermedades parasitarias de los mamíferos económicos de Cuba*. Edit. Ciencia y Técnica. La Habana, Cuba. Págs. 60-78.
- Díaz, E. 2004.** Prevalencia de helmintosis causales de decomisos de vísceras y carcasa y pérdidas económicas, en los animales beneficiados en el Camal Municipal Provincial de Cajamarca, 2003. Tesis para optar el título profesional de Médico Veterinario. Universidad Nacional de Cajamarca, Perú. Pág. 75.
- Diccionario terminológico de ciencias médicas, 1984**
- Dubinský, P. 1993.** Trematódy a trematodózy. In: Jurášek, V., Dubinský, P. a kolektív, Veterinárna parazitológia. Príroda a.s., Bratislava, Pág 158–187. (in Slovakian)
- Espino, A., Borges, A., & Duménigo, B. 2000.** Coproantígenos de *Fasciola hepatica* de posible utilidad en el diagnóstico de la fascioliasis. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 7(4), 225-231.
- Evans. R.J. y M.F. Heath. 1988,** Laboratory assessment of hepatobiliary damage and dysfunction. In: Recent Advances in Small Animal Practice 1. Ed. Chandler, E.A. Pág: 30 – 59, Oxford, Blackwell Scientific Publication.
- Fraser, C. 1993.** El manual Merck de Veterinaria. 4ª Ed. Oceano Centrum. Barcelona.

- Fredes, F. 2004.** La Fascioliasis Animal y Humana. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile. Mon. Electr. Pat. Vet. 1: 58 – 67.
- Fiske, C., Subbarow, Y. 1925.** The colormetric determination of phosphorus. J. Biol. Chem. 66: 375-384.
- Góngora. 2006.** Prevalencia de Fasciola hepatica en bovinos faenados en el matadero municipal de la ciudad de La Paz, octubre 2005 a marzo 2006 [http://www.fcv.uagrm.edu.bo/sistemabibliotecario/doc\\_tesis%20Gongora%20Celin-20101028-160318.pdf](http://www.fcv.uagrm.edu.bo/sistemabibliotecario/doc_tesis%20Gongora%20Celin-20101028-160318.pdf)
- Hoffmann, 2008.** Diagnostic enzymology of domestic animals. In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals, Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. San Diego, California: Academic Press. Pág 78
- Huamán, E. 2011.** Frecuencia de Fasciolosis y Cisticercosis en animales beneficiados en el camal Municipal de Cajamarca. Tesis para optar el Título profesional de Médico Veterinario. Universidad Nacional de Cajamarca, Perú. Pág 41.
- Hutyra, M. 1973.** Patología y terapéutica especial de los animales domésticos. Tercera edición. España, Editorial Labor Pág. 308-323.
- INIA, 2012.** [www.inia.gob.pe/files/crianzas/bovinos.pdf](http://www.inia.gob.pe/files/crianzas/bovinos.pdf).
- Kassai T.2002.** Helminología Veterinaria. Zaragoza- España: Acribia S.A. Glosario de términos, Pág 4 – 10, 183 – 192.
- Lapage 1974.** Preservation of bacteria whit notes on other microorganisms. In public Health Laboratory service monograph series (A.T. Willis and C.H. Collins, sds.). Nº 7 H.M. Stationary Office. London.
- Leguía G, 1991.** Parasitismo gastrointestinal y pulmonar en vacunos, ovinos y alpacas. Giba Geigy – Hoesch. Lima Pág. 25.
- Leguía G, 1991.** Distomatosis hepática en el Perú. Epidemiología y control. Lima: Ciba Geigy – Hoescht Pág. 45.
- Leguía, G. y Casas, E. 1999.** Distomatosis hepática. Enfermedades parasitarias y atlas parasitológico de camélidos sudamericanos. Ed. Del Mar, Lima. Pág. 40-63.
- Melo, 1999.** Afeito do conteudo de proteína na dietas sobre os parâmetros Hematologicos e Metabolicos do Bagre sul americano Rhamdia quelen. Pág. 1- 43-51.
- Moreno, A. 2011.** Frecuencia de infección mixta por *Fasciola hepatica* y paramphistomidos en ganado vacuno lechero y en caracoles del genero *Lymnaea sp.* en cinco predios lecheros del valle de Cajamarca. Tesis para optar el Título profesional de Médico Veterinario. Universidad Nacional de Cajamarca, Perú. Pág 49.

- MSD AGVET, DIVISION OF Merck& Co., Inc., 1981.** Parásitos de los bovinos. Edit MSD AGVT, New Jersey, U.S.A. Pág 12, 15.
- Manual Merk de Veterinaria, 2007.** Edición en Español. Editorial Océano, Barcelona España. Pág 267, 268.
- Pearson, 2006.** Enfermedades do sistema hepatobiliar. In: Medicina interna de grandes animais, Smith BP. Barueri, SP: Editora Manole.
- Philip, 1981.** "Parásitos de los bovinos". *Msd-agvet*: Pág 19-21.
- Quiroz, 2012.** Relación de la lesión de los conductos biliares, con la carga parasitaria y tamaño de las fasciolas adultas en bovinos beneficiados en el Camal Municipal de Cajamarca. Tesis para optar el título profesional de Médico Veterinario. Universidad Nacional de Cajamarca.
- Quiroz, H. 2003.** Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. 1<sup>ra</sup> edición. Editorial Limusa, S.A. México D.F. Pág 231-251.
- Ramírez, A. 2005.** Helmintos causales de decomiso de vísceras y carcasa en animales beneficiados en el camal municipal de Cajamarca. Tesis para optar el Título profesional de Médico Veterinario. Universidad Nacional de Cajamarca, Perú. Pág 55.
- Radostis O, Gay C, Blood D, Hincheliff K. 2007.** Medicina Veterinaria. 9<sup>na</sup> ed. Madrid : Mc Graw – Hill. Pág 215.
- Reinhard, E. 1957.** Landmarks of parasitology. I. The discovery of the life cycle of the liver fluke. *Exp. Parasitol.* 6: 208-232.
- Rojas, M. 1990.** Parasitismo de los rumiantes domésticos, 1<sup>a</sup> Edición. Editorial Maijosa. Lima-Perú. Pág 383.
- Sangster, N.C, 1999.** Pathology, pathophysiology and clinical aspects. In: Dalton, J.P. (Ed.), Fasciolosis. CAB International Publishing, Wallingford, Pág. 185–224.
- Soulsby, E. 1988.** Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los animales domésticos. Trad. AR Martínez, F. Rojo Vásquez. 7 ed. DF, Mx. Nueva Editorial Interamericana, S.A. Pág. 37-47.
- Stockham SL, Scott MA, 2008.** Enzymes. In: Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology, Stockham SL, Scott MA. Iowa, USA: Blackwell Publising.
- Taylor, 1975.** Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2da ed. Pub Cient. N° 503. OPS. Pág. 763-774.
- Tennant, 2008;.** Hepatic function. In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals, Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. San Diego, California: Academic Press; 2008.

**Theodoropoulos G, Theodoropoulou E, Petrakos G, Kantzoura V, Kostopoulos J. 2002.** Abattoir Condemnation due to Parasitic Infections and its Economic Implications in the Region of Trikala, Greece. J Vet Med., Series B. 49:281

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

**Vignau, M. y col. 2005.** Parasitología práctica y modelos de enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 1º Edición. Editorial Copyright. Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires – Argentina. Pág 66.

**Wittwer (1987)** enjoys swimming, opera, and testing his wheelchair trail skills with his wife. He was a wheelchair basketball ambassador to China in 1987.

**Wiener Laboratorios S.A.I.C.** Riobamba 2944-2000 - Rosario - Argentina  
<http://www.wiener-lab.com.ar>

## ANEXOS

### Informe

Calcio mg/dl

Tratamiento	Media	N	Desv. típ.	Rango	Mínimo	Máximo	Curtosis	Mediana
Calcificación	8,9000	10	,73786	2,00	8,00	10,00	-,734	9,0000
Hiperplasia	8,5000	10	,52705	1,00	8,00	9,00	-2,571	8,5000
Hiperplasia y Calcificación	8,4000	10	1,26491	4,00	6,00	10,00	-,026	8,5000
Total	8,6500	40	,86380	4,00	6,00	10,00	1,030	9,0000

#### Anexo 1: Análisis de Varianza entre grupos evaluados del nivel de calcio (mg/dl)

ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	1.4	2	0.7	0.86697248	0.0560	3.35413083
Dentro de los grupos	21.8	27	0.80740741			
Total	23.2	29				

#### Anexo 2: Análisis de Varianza entre grupos evaluados del nivel de Fósforo (mg/dl)

ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	31.0486667	2	15.5243333	3.67704157	0.4947	3.35413083
Dentro de los grupos	113.993	27	4.22196296			
Total	145.041667	29				

**Anexo 3: Análisis de Varianza entre grupos evaluados del nivel de Bilirubina Total (mg/dl)**

ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	5.594	2	2.797	1.41758489	0.4578	3.35413083
Dentro de los grupos	53.273	27	1.97307407			
Total	58.867	29				

**Anexo 4: Análisis de Varianza entre grupos evaluados del nivel de Gamma GlutamilTranspeptidasa (UI/L)**

ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	6173.6	2	3086.8	0.41263784	0.6458	3.35413083
Dentro de los grupos	201977.6	27	7480.65185			
Total	208151.2	29				

**Anexo 5: Análisis de Varianza entre grupos evaluados de los Niveles de Fosfatasa Alcalina (UI/L)**

ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	13210.4	2	6605.2	1.74537575	0.1499	3.35413083
Dentro de los grupos	102178.8	27	3784.4			
Total	115389.2	29				

**Anexo 6: Análisis de Varianza entre grupos evaluados de los Niveles de Proteína Total Alcalina (UI/L)**

ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	3.642	2	1.821	1.69185506	0.0540	3.35413083
Dentro de los grupos	29.061	27	1.07633333			
Total	32.703	29				

Gráfico 1: Niveles de Calcio

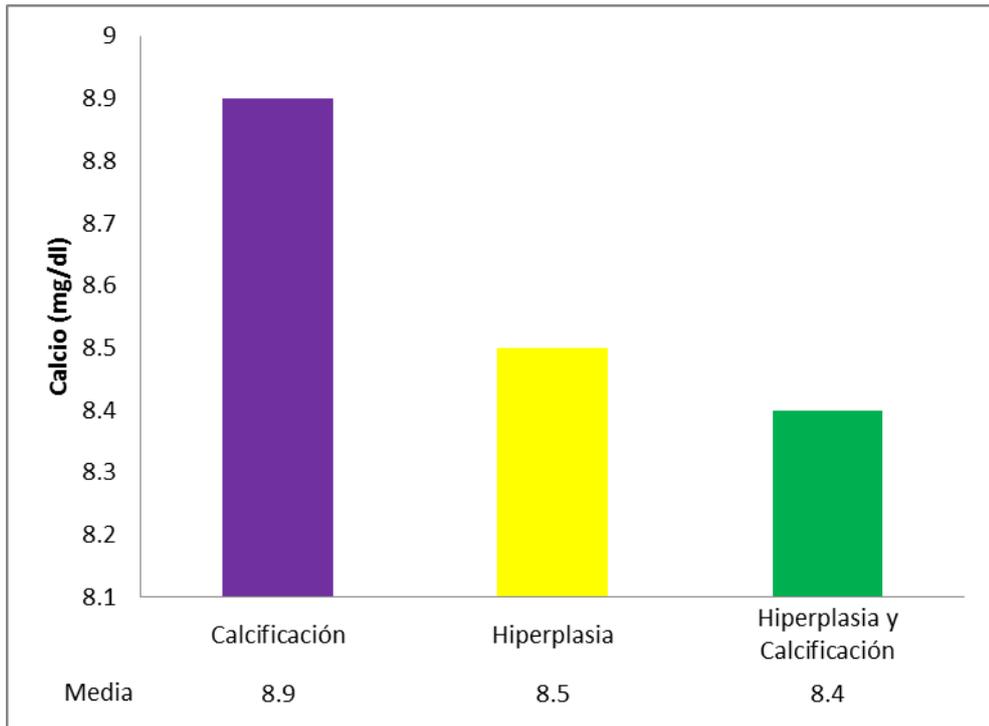


Gráfico 2: Niveles de Fósforo

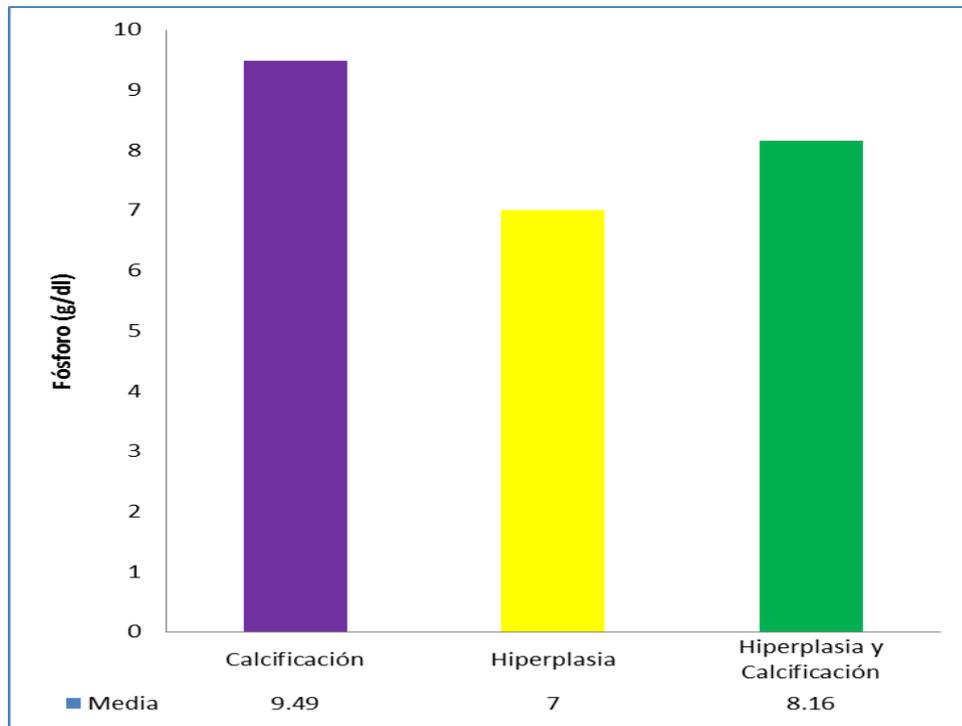


Gráfico 3: Niveles de Bilirrubina Total

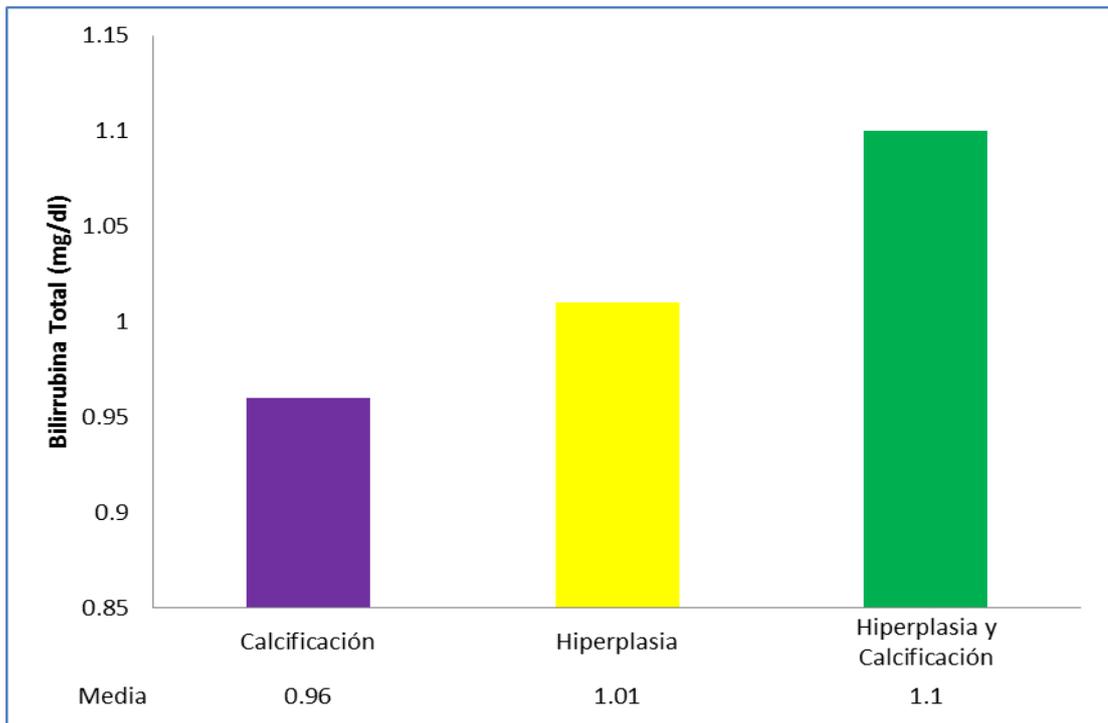


Gráfico 4: Niveles de Gamma Glutamyl Transpeptidasa

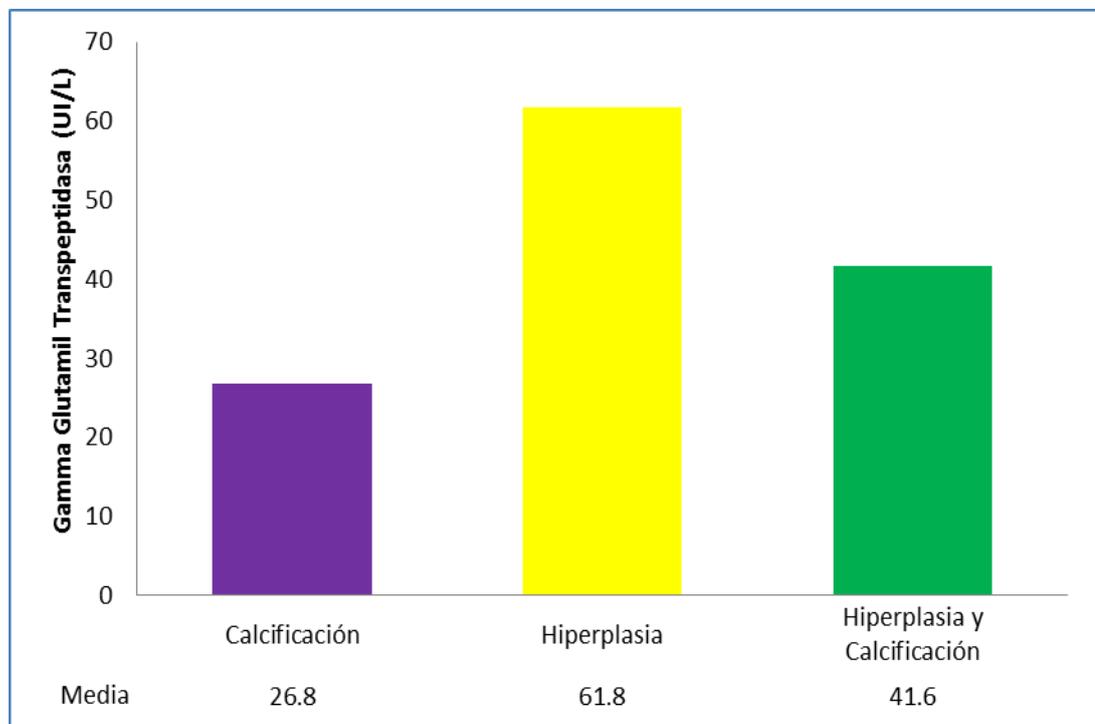


Gráfico 5: Niveles de Fosfatasa Alcalina

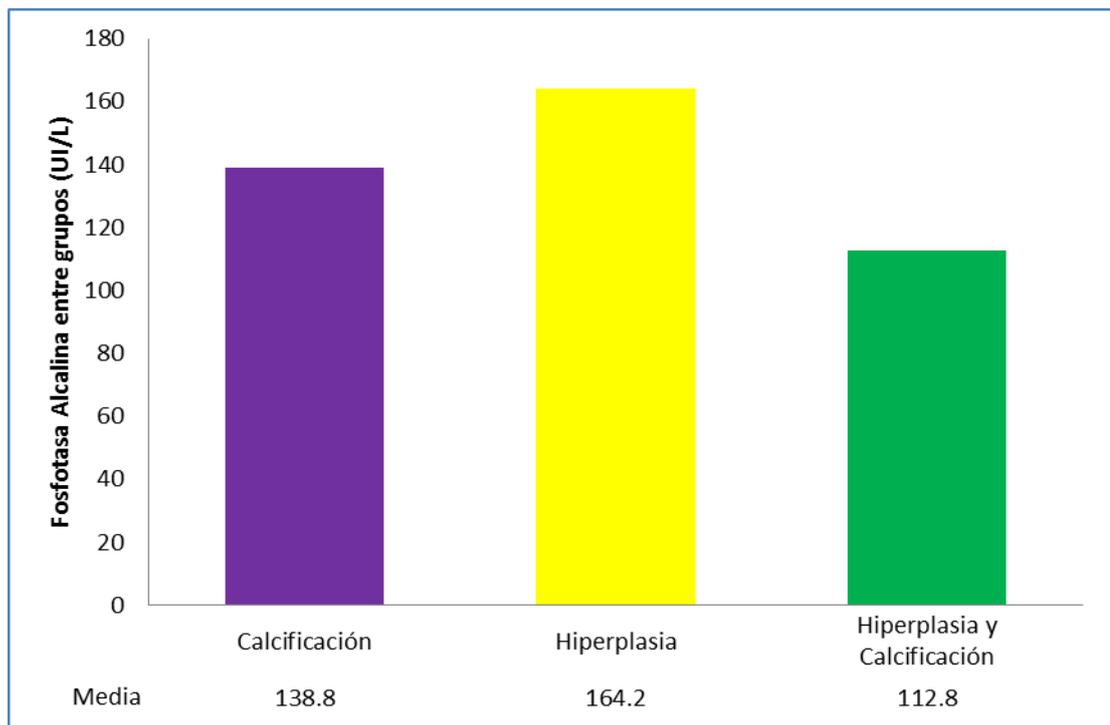
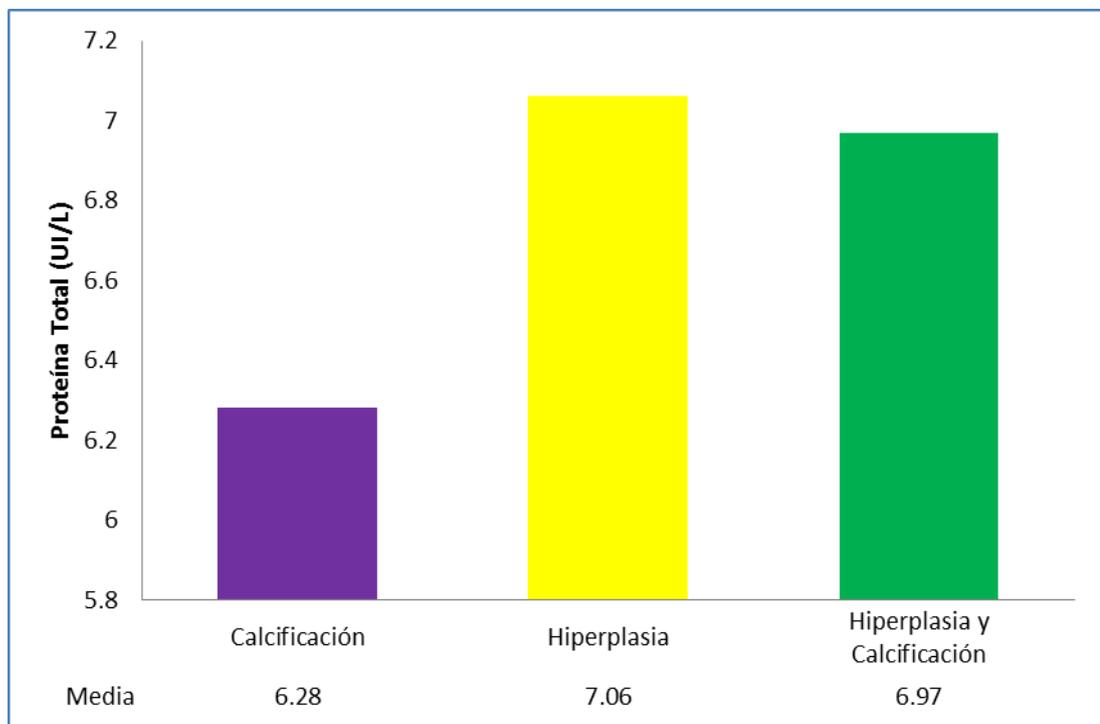


Gráfico 6: Niveles de Proteínas Totales



Anexo 7:



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
LABORATORIO DE PATOLOGÍA CLÍNICA



N° CASO : 1060      FECHA: 29/10/14      PROCEDENCIA : CAJAMARCA  
ESPECIE : VACUNOS      GRUPO : "HIPERPLASIA"  
RAZA : NO ESPECIFICA  
REMITENTE : MV. DÉBORA LÓPEZ  
MUESTRAS : SUERO SANGUÍNEO

EXAMEN SOLICITADO : DETERMINACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS

N°	CALCIO	FÓSFORO	BT	BD	GGT	FA	PT	ALBÚMINA
1	8	6.3	0.5	0.1	14	190	6	2.9
2	9	7	0.8	0.1	17	196	7.5	3.4
3	9	10	1.2	0.2	15	94	6.9	3.8
4	8	6.2	1.2	0.1	466	374	9.9	4.1
5	8	11.3	1	0.1	13	142	6.6	3.1
6	8	7.3	1.6	0.3	18	70	7.5	3.4
7	9	6.7	1.3	0.1	13	155	5	2.6
8	8	4.8	0.7	0.1	19	101	6.3	2.9
9	9	4.7	0.6	0.1	26	110	7	2.9
10	9	5.7	1.2	0.2	17	210	7.9	3

MV. Mg. Luis Antonio Hoyos Sifuentes  
Patólogo Clínico  
FMV - UNMSM



Anexo 8:



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
LABORATORIO DE PATOLOGÍA CLÍNICA



N° CASO : 1060      FECHA: 29/10/14      PROCEDENCIA : CAJAMARCA  
ESPECIE : VACUNOS      GRUPO : "CALCIFICACIÓN"  
RAZA : NO ESPECIFICA  
REMITENTE : MV. DÉBORA LÓPEZ  
MUESTRAS : SUERO SANGUÍNEO

EXAMEN SOLICITADO : DETERMINACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS

N°	CALCIO	FÓSFORO	BT	BD	GGT	FA	PT	ALBÚMINA
1	9	6.1	1	0.1	18	123	6.2	3.2
2	8	7.6	0.9	0.1	75	98	6.8	2.5
3	9	10.9	0.9	0.1	14	138	5.8	3.3
4	10	8.4	0.6	0.1	15	144	6.8	3.2
5	9	10.2	0.7	0.1	26	144	6.5	3
6	9	9.9	1.3	0.2	32	240	6.4	2.7
7	10	10.4	1	0.1	29	130	6.1	2.8
8	8	9.8	1.1	0.2	31	123	5.9	3
9	9	11	0.9	0.2	13	110	6.2	3.3
10	8	10.6	1.2	0.1	15	138	6.1	2.6

MV. Mg. Luis Antonio Hoyos Sifuentes  
Patólogo Clínico  
FMV – UNMSM



Anexo 9:



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
LABORATORIO DE PATOLOGÍA CLÍNICA



N° CASO : 1060      FECHA: 29/10/14      PROCEDENCIA : CAJAMARCA  
ESPECIE : VACUNOS      GRUPO : "HIPERPLASIA +  
RAZA : NO ESPECIFICA      CALCIFICIÓN"  
REMITENTE : MV. DÉBORA LÓPEZ  
MUESTRAS : SUERO SANGUÍNEO

EXAMEN SOLICITADO : DETERMINACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS

N°	CALCIO	FÓSFORO	BT	BD	GGT	FA	PT	ALBÚMINA
1	10	9	0.8	0.1	16	196	5.5	3.9
2	8	10.9	0.7	0.1	16	169	8.3	3.8
3	7	6.6	1.2	0.2	43	90	9.2	3.6
4	6	12	1.4	0.3	14	54	7.4	3.8
5	9	10.6	1.4	0.2	13	53	7.3	3.7
6	9	5.4	1.2	0.2	21	102	5.4	2.4
7	10	7.6	1.1	0.1	24	153	6.5	2.8
8	8	6.3	1.2	0.1	121	106	6.3	2.4
9	9	5.5	0.8	0.1	23	96	6.5	3
10	8	7.7	1.2	0.4	125	109	7.3	2.6

MV. Mg. Luis Antonio Hoyos Sifuentes  
Patólogo Clínico  
FMV – UNMSM



## **Anexo 10:**

### **FUNDAMENTOS DEL MÉTODO PARA DETERMINACIÓN DE CALCIO: Ca -**

#### **Color**

El calcio reacciona con la o-cresolftaleíncomplexona (o-CPC) a pH alcalino, dando un complejo de color magenta que se mide foto colorimétricamente a 570 nm. Para esta prueba se utilizaron los siguientes reactivos:

#### **Cálculo de los resultados**

Corregir las lecturas restando los Blancos internos correspondientes:

$$S_o - BS = S$$

$$D_o - BD = D$$

$$\text{Calcio sérico (mg/dl)} = D \times ff = \underline{10 \text{ mg/dl}}$$

#### **Conversión de unidades**

$$\text{Ca (mg/dl)} = \text{Ca (mmol/l)} \times 4$$

$$\text{Ca (mmol/l)} = \text{Ca (mg/dl)} \times 0,25$$

$$\text{Ca (mg/dl)} = \text{Ca (mEq/l)} \times 2$$

$$\text{Ca (mEq/l)} = \text{Ca (mg/dl)} \times 0,5$$

## **Anexo 11:**

### **FUNDAMENTOS DEL MÉTODO PARA DETERMINACIÓN DE FOSFORO:**

#### **Fosfatemia- UV**

Este fundamento dice que el fósforo inorgánico (Pi) reacciona en medio ácido con el molibdato para dar un complejo fosfomolibdico que se mide espectrofotométricamente a 340 nm.

#### **Cálculo de los resultados:**

**Fósforo sérico** (mg/dl) = D x f

**Fósforo inorgánico (Pi)** (mg/dl) = D x f

Donde f = 4 mg/dl /

#### **Conversión de unidades al sistema SI**

Pi (mg/dl) x 0,323 = Pi (mmol/l)

## **Anexo 12:**

### **FUNDAMENTOS DEL MÉTODO PARA DETERMINACIÓN DE BILIRRUBINA:**

#### **Bilirrubina**

La bilirrubina reacciona específicamente con el ácido sulfaníli- codiazotado produciendo un pigmento color rojo-violáceo (azo- bilirrubina) que se mide fotocolorimétricamente a 530 nm. Si bien la bilirrubina conjugada (directa) reacciona directamente con el diazorreactivo, la bilirrubina no conjugada (indirecta) requiere la presencia de un desarrollador acuoso (Reactivo A) que posibilite su reacción. De forma tal que, para que reaccione la bilirrubina total (conjugada y no conjugada) presente en la muestra, debe agregarse benzoato de cafeína al medio de reacción.

#### **Cálculo de los resultados**

$$\text{Bilirrubina total (mg/l)} = (T - B) \times f$$

$$\text{Bilirrubina directa (mg/l)} = (D - B) \times f$$

$$\text{Bilirrubina libre (indirecta)} = \text{BRB total} - \text{BRB directa}$$

El factor colorimétrico (f) debe calcularse con Bilirrubina Standard que recomienda Wiener laboratorio.

#### **Conversión de unidades**

$$\text{Bilirrubina (mg/l)} = \text{Bilirrubina (mg/dl)} \times 10$$

$$\text{Bilirrubina (umol/l)} = \text{Bilirrubina (mg/dl)} \times 17,1$$

### **Anexo 13:**

## **FUNDAMENTOS DEL MÉTODO PARA DETERMINACIÓN DE Gamma Glutamil**

### **Transpeptidasa: GGT: $\gamma$ -G-test**

La Gamma Glutamil Transpeptidasa es una carboxipeptidasa que cataliza las siguientes reacciones:

L- $\gamma$ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide + glycylglycine

L- $\gamma$ -glutamylglycylglycine + 5-amino-2-nitrobenzoate

### **Calculo de los resultados**

$\gamma$ -glutamyltransferase (U/l) =  $\Delta A/\text{min} \times 1.158$

### **Conversion de unidades al sistema si**

$\gamma$ -GT (U/l)  $\times 0,017 = \gamma$ -GT (ukat/l)

## **Anexo 14:**

### **FUNDAMENTOS DEL MÉTODO PARA DETERMINACIÓN DE FOSFATASA ALCALINA: ALP- 405**

La fosfatasa alcalina desdobla al fenilfosfato de sodio en medio alcalino tamponado con aminometil propanol (AMP). El fenol liberado se determina por reacción con 4-aminoantipirina y ferricianuro como agente oxidante. El color desarrollado es directamente proporcional a la actividad enzimática y se mide a 520 nm.

#### **CALCULO DE LOS RESULTADOS**

Fosfatasa alcalina (UI/l) = factor x (D-B)

Dónde:            factor = 200 UI/l / (S-B)

## **Anexo 15:**

### **FUNDAMENTOS DEL MÉTODO PARA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS**

#### **TOTALES: Proti 2**

Los enlaces peptídicos de las proteínas reaccionan con el ión cúprico en medio alcalino, para dar un complejo color violeta con máximo de absorción a 540 nm, cuya intensidad es proporcional a la concentración de proteínas totales en la muestra.

#### **Cálculo de los resultados**

Empleando el Standard tal como se indica en procedimiento, los cálculos se realizan como sigue:

$$\text{Proteínastotales (g/dl)} = D \times f = \text{P.T. (g/dl)} / S$$

#### **Conversión de unidades al sistema SI**

$$\text{Proteínas totales (g/dl)} \times 10 = \text{Proteínas totales (g/l)}$$

## FOTOS

### BALANZA ANALITICA



### FOTÓMETRO



## KITS DE PRUEBAS DE LABORATORIO



## CAMAL MUNICIPAL DE CAJAMARCA



## CORTE DE LA VENA YUGULAR



## TOMA DE MUESTRA



## GRADILLA PARA TUBOS



## MARCACIÓN DE LA MEMBRANA CRICOTRAQUEAL



## EXAMEN MACROPATOLÓGICO



## CORTES TRANSVERSALES DE LOS CONDUCTOS BILIARES



## CORTES LONGITUDINALES DE LOS CONDUCTOS BILIARES



## CONDUCTOS BILIARES HIPERPLÁSICOS



**CONDUCTOS BILIARES CON HIPERPLASIA Y  
CALCIFICACIÓN**



**CONDUCTOS BILIARES CON  
CALCIFICACIÓN**

