



**Universidad Nacional de Cajamarca**

**Facultad de Medicina Humana**



***Escuela Académico Profesional de Medicina Humana***

**TITULO**

**“EFICACIA DEL ÁCIDO ACÉTICO (VINAGRE) SOBRE LA  
VIABILIDAD DE LA METACERCARIA DE Fasciola hepatica”**

**INFORME FINAL DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE MÉDICO**

**CIRUJANO**

**AUTOR:**

**HOYOS SÁENZ ANGELITA MARGOT**

**ASESOR:**

**PhD. PEDRO LUIS ORTIZ OBLITAS**

**Cajamarca - Perú**

**2019**

## **DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD**

**YO, ANGELITA MARGOT HOYOS SÁENZ**

### **DECLARO QUE:**

El Trabajo de Tesis “EFICACIA DEL ÁCIDO ACÉTICO (VINAGRE) SOBRE LA VIABILIDAD DE LA METACERCARIA DE *Fasciola hepatica*” previa a la obtención del Título Profesional de Médico Cirujano, ha sido desarrollado en base a una investigación exhaustiva, respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan en el texto del trabajo, y cuyas fuentes se incorporan en la bibliografía.

Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría, y en virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance científico del Trabajo de Tesis mencionado.

## DEDICATORIA

A mis padres, Segundo Hoyos León y Gloria Sáenz Quiroz, a mis hermanos Isabel y Pedro por ser mi gran motivación, por apoyarme a pesar de todo, y demostrarme que lo más importante es la familia.

A Janner Saucedo, por apoyarme a seguir mis ideales y enseñarme que lo más importante es hacer lo correcto.

Al Dr. Pedro Ortiz por todo su apoyo, comprensión, enseñarme lo importante y emocionante que es investigar.

A un gran amigo, Cristian Hobán por apoyarme, enseñarme que el conocimiento es inmenso y debe compartirse.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a Dios por la salud, bendecirme con una hermosa familia y permitirme avanzar en una de mis más anheladas metas.

A mi familia, por todo el apoyo, cariño y comprensión brindados en cada uno de los años de mi formación académica.

A la Universidad Nacional de Cajamarca por darme la oportunidad de estudiar y ser un profesional.

A mi asesor de tesis el Doctor Pedro Ortiz Oblitas por su esfuerzo, dedicación, quien, con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su motivación ha contribuido enormemente en mi formación académica y personal.

A un gran amigo, Cristian Hobán Vergara, por todo su apoyo, tiempo y enseñanzas, quien me ha ayudado para realizar este trabajo.

A mis amigos y profesores que me han enseñado que unidos podemos lograr grandes metas.

## RESUMEN

**OBJETIVO:** Se realizó un estudio experimental con el objetivo de determinar la eficacia del vinagre (ácido acético) sobre la viabilidad de metacercarias de *Fasciola hepatica*. **MATERIALES Y METODOS:** Las metacercarias de *Fasciola hepatica* fueron obtenidas por estimulación de caracoles *Galba truncatula* obtenidos de la localidad de Polloc-La Encañada-Cajamarca. Se formaron varios grupos (cada grupo estuvo conformado por 25 metacercarias morfológicamente normales vistas al estereoscopio), se formó 9 grupos los cuales fueron sometidos a diferentes concentraciones de vinagre (1%, 3% y 5%) y con variación en el tiempo de exposición (1hora, 2 horas y 3 horas). El experimento se realizó con tres repeticiones para valorar el promedio, más un grupo control con agua destilada. Después de la exposición de las metacercarias al vinagre se las lavó en tres oportunidades con agua destilada, luego se utilizó la tinción de eosina para visualizar mejor las estructuras, forma y movimiento de las metacercarias en el microscopio de luz y determinar la viabilidad, lo cual fue evaluado por la conservación de la morfología, los gránulos excretores en su interior, además de la presencia de movimiento. **RESULTADOS:** La viabilidad de las metacercarias expuestas por una hora al ácido acético al 1%, 3% y 5% de concentración fue de 61,32%,56% y 66,68% respectivamente; la viabilidad de las metacercarias expuestas por 2 horas al ácido acético (1%, 3% y 5%) fue de 70,68%, 28% y 38,68%, respectivamente, la viabilidad de las metacercarias expuestas por 3 horas al ácido acético (1%, 3% y 5%) fue de 32%, 30,68% y 18,68%, respectivamente. Las metacercarias de los grupos control no presentaron variación en la viabilidad a lo largo del tiempo de evaluación teniendo una

viabilidad 80%. En cuanto a la eficacia del ácido acético el valor más elevado que tenemos es del 81,32% obtenido en la más alta concentración del ácido acético y por más tiempo. No se evidenció una diferencia significativa en cuanto a la variación de la concentración del ácido acético ( $p=0,556$ ), pero si se obtuvo una diferencia significativa ( $p=0,028$ ) entre los tiempos de exposición (1 hora y 3 horas). **CONCLUSION:** El vinagre (ácido acético) no es eficaz sobre la viabilidad de metacercaria de *Fasciola hepatica*, ya que el valor más elevado de eficacia fue 81,32% que se evidencia en el promedio de los grupos expuestos al ácido acético al 5% por 3 horas, existiendo una diferencia significativa ( $p=0,028$ ) entre el tiempo de exposición de 1 hora y 3 horas, lo cual indica que a mayor tiempo de exposición de las metacercarias mayor será la eficacia independientemente de la concentración de ácido acético.

**PALABRAS CLAVE:** Eficacia, viabilidad, metacercaria de *Fasciola hepatica*, vinagre (ácido acético).

## ABSTRACT

**OBJECTIVE:** An experimental study was carried out with the objective of determining the efficacy of vinegar (acetic acid) on the viability of *Fasciola hepatica* metacercariae. **MATERIALS AND METHODS:** The metacercariae of *Fasciola hepatica* were obtained by stimulation of *Galba truncatula* snails obtained from the town of Polloc-La Encañada-Cajamarca. Several groups were formed (each group consisted of 25 morphologically normal metacercariae seen at the stereoscope), 9 groups were formed which were subjected to different concentrations of vinegar (1%, 3% and 5%) and with variation in exposure time (1 hour, 2 hours and 3 hours). The experiment was carried out with three repetitions to assess the average, plus a control group with distilled water. After exposure of the metacercariae to vinegar, they were washed three times with distilled water, then the eosin stain was used to better visualize the structures, shape and movement of the metacercarias in the light microscope and determine the viability, which It was evaluated by the conservation of the morphology, the excretory granules in its interior, in addition to the presence of movement. **RESULTS:** The viability of metacercariae exposed for 1 hour to acetic acid at 1%, 3% and 5% concentration was 61.32%, 56% and 66.68% respectively; the viability of metacercariae exposed for 2 hours to acetic acid (1%, 3% and 5%) was 70.68%, 28% and 38,68%, respectively, the viability of metacercariae exposed for 3 hours to acetic acid (1%, 3% and 5%) was 32%, 30.68% and 18.68%, respectively. The

metacercarias of the control groups did not present variability in the viability throughout the evaluation time, with a viability of 80%. As for the effectiveness of acetic acid, the highest value we have is 81.32% obtained in the highest concentration of acetic acid and for the longest time. There was no significant difference in the variation of the acetic acid concentration ( $p = 0.556$ ), but a significant difference ( $p = 0.028$ ) was obtained between the exposure times (1 hour and 3 hours). **CONCLUSION:** Vinegar (acetic acid) is not effective on the metacercaria viability of *Fasciola hepatica*, since the highest value of efficacy was 81.32%, which is evidenced in the average of the groups exposed to acetic acid at 5% by 3 hours, there being a significant difference ( $p = 0.028$ ) between the exposure time of 1 hour and 3 hours, which indicates that the longer the exposure of the metacercariae, the greater the efficacy regardless of the concentration of acetic acid.

**KEYWORDS:** Effectiveness, viability, metacercaria of *Fasciola hepatica*, vinegar (acetic acid).



## INDICE DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD .....	i
DEDICATORIA .....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT .....	vi
INDICE DE CONTENIDOS.....	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO I.....	3
<b>1. El problema Científico y los Objetivos .....</b>	<b>3</b>
<b>1.1 Definición y Delimitación del Problema .....</b>	<b>3</b>
<b>1.2 Formulación del Problema.....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Justificación del Problema .....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Objetivos Generales y Específicos de la Investigación:.....</b>	<b>4</b>
CAPITULO II .....	5
<b>2. Marco teórico.....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Antecedentes del problema: .....</b>	<b>5</b>
<b>2.2 Bases teóricas.....</b>	<b>8</b>
<b>2.3 Definición de términos básicos.....</b>	<b>14</b>
CAPITULO III .....	15
<b>3. La Hipótesis:.....</b>	<b>15</b>

<b>3.1</b>	<b>Formulación de hipótesis.....</b>	15
<b>3.2</b>	<b>Definición de variables: .....</b>	15
<b>3.3</b>	<b>Operacionalización o categorización de variables. ....</b>	15
CAPITULO IV.....		17
<b>4.</b>	<b>Metodología: .....</b>	17
<b>4.1</b>	<b>Tipo y diseño de la investigación .....</b>	17
<b>4.2</b>	<b>Técnicas de muestreo:.....</b>	17
<b>4.3</b>	<b>Técnicas para el procesamiento y análisis de la información:.....</b>	18
CAPITULO V.....		24
<b>5.</b>	<b>Resultados .....</b>	24
CAPITULO VI.....		30
<b>6.</b>	<b>Discusión.....</b>	30
CAPITULO VII.....		33
<b>7.</b>	<b>Conclusiones.....</b>	33
<b>8.</b>	<b>Recomendaciones.....</b>	34
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....		35
ANEXOS .....		43

## INTRODUCCIÓN

La fascioliasis se define como una enfermedad del hígado causada por parásitos tremátodos del género *Fasciola*, como *Fasciola hepatica* (1). La fascioliasis humana es actualmente considerada como una infección por tremátodos, transmitidas por los alimentos, comúnmente adquiridos por el consumo de metacercarias enquistadas en las hojas que son consumidas como vegetales (2). Las metacercarias, son una etapa larvaria que es común a muchas especies de tremátodos, representando una fase imprescindible para continuar con el ciclo de vida como la capacidad de infectar a huéspedes definitivos y se extiende durante un período relativamente largo. La infectividad de las metacercarias es pasiva, la cual ocurre sólo cuando el hospedero de destino ingiere el parásito (3).

La carga global de la enfermedad es subestimada hasta la fecha, pero se estima que entre 35 y 72 millones de personas tengan el parásito, con un adicional de que 180 millones de personas se encuentren en riesgo de infección (2). *F.hepatica* se encuentra ampliamente distribuida en regiones templadas, incluyendo Europa, América del Norte, del Sur y Australia (4). En Perú, se han descrito casos de fascioliasis humana en 17 de las 24 regiones, todas se encuentran situadas en altas altitudes (5).

La fascioliasis humana se ha convertido en un importante problema de salud pública entre los países en desarrollo y ha sido identificada como una de las enfermedades tropicales desatendidas. La prevalencia de la infección en los territorios altos de Bolivia y Perú son los más altos del mundo (2). En

Cajamarca, las prevalencias de fascioliasis van desde 6,7 hasta 47,7% (media 24,4%), resultó ser el más alto valor registrado en humanos considerándose una zona hiperendémica. Prevalencias más altas se encontraron en las mujeres y en el grupo de 2-5 años de edad. (6).

El vinagre es un líquido agrio y astringente cuyo componente principal es el ácido acético, resultante de la fermentación alcohólica, parece tener potencial antimicrobiano (7). El ácido acético o vinagre, ha sido usado esporádicamente en medicina durante los últimos 6000 años, logrando tratar con éxito enfermedades como la peste, otitis, infecciones del tracto urinario, como bactericida (predominantemente en bacterias Gram negativas como *Pseudomonas aeruginosa*). Además, se considera como desinfectante general (8).

## CAPITULO I

### 1. El problema Científico y los Objetivos

#### 1.1 Definición y Delimitación del Problema

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Inmunología e Investigación de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca.

#### 1.2 Formulación del Problema

¿Cuán eficaz es el ácido acético en la eliminación de metacercarias de *Fasciola hepatica*?

#### 1.3 Justificación del Problema

En el continente americano, los mayores casos conocidos de fascioliasis se presentan en los países andinos. Perú es considerado uno de los países que presenta un problema de salud pública más grande debido a la infección humana por *F.hepatica* (9). Fascioliasis humana afecta a varias regiones de Perú dentro de las cuales tenemos: el Valle del Mantaro en Junín, Altiplano en Puno, el valle de Cajamarca, Arequipa, y Huarochirí en Lima (10).

Fascioliasis presenta una alta prevalencia en la provincia de Cajamarca (6), se han realizado varios estudios sobre fascioliasis hepática humana en diversos países, así como en el Perú, en Cajamarca se ha evaluado la utilización de medicamentos como el triclabenzadol (11-20).

En la actualidad se cuenta con algunos trabajos que han tratado de identificar algunos agentes físicos y químicos que tengan alguna acción

sobre la viabilidad e infectividad de las metacercarias de F. hepatica y F. gigantica (21 - 31).

Se podría implementar la utilización del vinagre (ácido acético) como medida preventiva de dicha enfermedad. La población que se encuentra en riesgo de contraer fascioliasis humana se beneficiaría.

#### **1.4 Objetivos Generales y Específicos de la Investigación:**

##### **1.4.1 Objetivos Generales:**

Determinar la eficacia del ácido acético (vinagre) sobre la viabilidad de metacercaria de Fasciola hepatica.

##### **1.4.2 Objetivos Específicos:**

- Determinar la concentración de ácido acético (vinagre) necesaria para lograr la eliminación de metacercarias de F. hepatica.
- Determinar el tiempo de exposición al ácido acético (vinagre) que sería necesario para lograr la eliminación de metacercaria de F. hepatica.
- Determinar la viabilidad de la metacercaria de F.hepatica expuesta a la acción del ácido acético (vinagre).

## CAPITULO II

### 2. Marco teórico

#### 2.1 Antecedentes del problema:

Fascioliasis humana posee una morbilidad significativa, principalmente en países de bajos ingresos con comunidades agrícolas (2).

En América, la fascioliasis es causada exclusivamente por *F.hepatica*, siendo su huésped intermediario caracoles del género *Lymnaea* y su forma infectante la metacercaria(6). Uno de los países más afectados por fascioliasis humana es Perú, quien parece presentar un problema de salud comparativamente grande (6).

La viabilidad de metacercaria ha sido analizada por métodos *in vitro* o *in vivo*. (32) Por métodos *in vitro* se puede realizar verificando la motilidad de la metacercaria dentro del quiste interno, lo cual se examina con el microscopio de luz, además de valorar la morfología (la presencia de gránulos excretores para ser considerados como viables) (28,30,33-34). Otro método para valorar la viabilidad es remover la pared externa del quiste presionando suavemente con ayuda de una aguja de disección guiándose con el estereoscopio, colocarlas en un tubo de ensayo con 10 ml de medio salino e incubación (32,35-38). Dentro de los métodos *in vivo* se necesita la infección experimental de algún animal de laboratorio para valorar la viabilidad de *F. hepatica* o *F.gigantica*. (30,32-34).

En la investigación: Prevención de la fascioliasis humana: un estudio sobre el papel de los detergentes, ácidos y permanganato de potasio en la limpieza de metacercarias en hojas verdes; en el departamento de

Parasitología, Instituto de Investigación Médica, Universidad de Alejandría en Egipto, evaluaron la utilización de algunas sustancias químicas para la separación de metacercarias enquistadas en vegetales verdes, concluyendo que lavar los vegetales con agua corriente por 10 minutos permite liberar solo el 50% de las metacercarias, exponer a los vegetales con metacercarias al ácido cítrico (10ml/L), vinagre comercial (120ml/L), jabón líquido (12ml/L) y KMnO<sub>4</sub> (24mg/h) logran separar todas las metacercarias después de un tiempo de exposición de 10 minutos; el vinagre comercial logro eliminar otros parásitos presentes en los vegetales, siendo el KMnO<sub>4</sub> el agente que logro destruir a las metacercarias (28).

En el estudio: Contaminación humana de fascioliasis por vegetales; en el Departamento de Microbiología Médica, Facultad de Medicina, Universidad de Ciencias Médicas de Gilan, Irán. Estudiaron los efectos del permanganato de potasio en la viabilidad de metacercarias en alimentos preparados a base de vegetales, expusieron a los alimentos con metacercarias al permanganato de potasio por 5 minutos en dosis elevadas de 300,600 y 1200 mg/L, luego las administraron a animales de laboratorio demostrando que no genera ningún cambio en la viabilidad e infectividad de las metacercarias (30).

En el estudio: La eficacia de cinco productos químicos en la infectividad de metacercarias de Fasciola gigantica; evaluaron la eficacia del ácido acético, ácido cítrico, cetrimida, permanganato de potasio e hidróxido de sodio (en diferentes concentraciones) en la infectividad de metacercarias de Fasciola gigantica; la exposición a las diversas sustancias se realizó por



15 y 30 minutos. La eficacia de estos productos químicos en la vitalidad y la capacidad de infección de las metacercarias de Fasciola gigantica se evaluó mediante el desarrollo de la infección por fascioliasis y los cambios histopatológicos en los hígados de conejos albinos infectados experimentalmente, concluyeron que 1% de hidróxido de sodio tenía un efecto letal en las metacercarias, del 10% al 40% de permanganato de potasio destruyó el poder de infectividad de las metacercarias, el ácido acético produjo un efecto adverso en la metacercaria en concentraciones mayores del 2,5%, en concentración de 5 y 10% en 15 y 30 minutos las metacercarias se encuentran no infectivas. Pero, ni el ácido cítrico ni la cetrimida afectaron la vitalidad o la infectividad de las metacercarias y todos los conejos adquirieron fascioliasis. (31)

Hay una alta prevalencia de fascioliasis humana en el altiplano peruano, se han realizado diversos estudios en el territorio peruano, uno de ellos relaciona la presencia de eosinofilia y fascioliasis humana (13), otro estudio informa sobre el fracaso del tratamiento con triclabenzadol, fármaco de elección en el tratamiento de fascioliasis humana (11). Por otro lado, se han reportado casos de fascioliasis humana incluso en la selva peruana (5).

El valle de Cajamarca en Perú, es la zona que posee características ambientales adecuadas para la transmisión de F. hepatica (6). En la región de Cajamarca se han identificado tres especies del caracol del género Lymnaea: Galba truncatula, Lymnaea neotropica y Lymnaea schirazensis, las dos primeras se encuentran involucradas en la transmisión de

F.hepatica (9). En el distrito de la Encañada, Santa Rosa de Chaquil (distrito de la Encañada), Taquipampa (distrito Llacanora), Baños del Inca, Yanamarca (distrito de Jesús), Chaquicocha (distrito Cajabamba) se determinó la presencia de Galba truncatula, en el Valle de Condebamba (distrito de Cajabamba) se identificó a Lymnaea neotropica, y Baños del Inca se idéntico a Lymnaea schirazensis.(9)

En Cajamarca se han realizado diversos estudios sobre Fascioliasis humana, relacionados con la infección y la resistencia al Triclabenzadol (4,6,9,10,12,14,15,18,20). Los investigadores han logrado estimar la prevalencia global de Fascioliasis hepática, informando tasas de prevalencias que van desde 6,7 hasta 47,7% (media 24,4%) encontrada en poblaciones humanas locales, demostrando que la provincia de Cajamarca es área hiperendémica de infección humana de acuerdo con la clasificación epidemiológica de la OMS (6).

Fascioliasis humana se encuentra actualmente clasificada como una enfermedad tropical desatendida, según la Organización Mundial de la Salud (6).

## **2.2 Bases teóricas**

### **FASCIOLIASIS HUMANA**

Es una enfermedad causada por F.hepatica, un parásito aplanado en forma de hoja, de apariencia carnosa y color café claro, con extremo anterior saliente en forma de cono. Mide aproximadamente de 2 cm a 3 cm de largo por 1 cm de ancho, presenta dos ventosas:

una oral y otra ventral. Son hermafroditas y los órganos genitales masculino y femenino, están muy desarrollados, ramificados y poseen un orificio o poro genital cercano a la ventosa ventral. El aparato digestivo consiste en faringe, esófago y el intestino ciego dividido en dos tubos ramificados. Estos órganos se observan bien en el parásito coloreado. Los huevos son ovalados y con un opérculo o tapa en uno de sus extremos, miden aproximadamente 150  $\mu$ , en su longitud mayor. Tienen color café debido a la pigmentación biliar (39).

**Ciclo de vida:**

Los parásitos adultos se localizan en los conductos biliares de los animales y del hombre. Los huevos salen al intestino con la bilis y son eliminados en las materias fecales. Para embrionar es indispensable que caigan al agua dulce, en la cual dan origen a la primera forma larvaria que sale a través del opérculo. Este es el miracidio ciliado que nada libremente en el agua e invade un caracol del género *Lymnaea*, en el cual se reproduce y forma esporoquistes, redias y cercarias, estas últimas tienen cuerpo redondeado y cola no bifurcada, abandonan el caracol, nadan en el agua para buscar plantas a las que se adhieren y se transforman en metacercarias de aproximadamente 0,5 mm, redondeadas y cubiertas de una membrana gruesa (39).

La pared de las metacercarias posee una estructura compleja, esencialmente está constituida por dos quistes; uno quiste externo y

quiste interno. El quiste externo está formado por una capa externa a base de proteínas y una capa subyacente fibrosa de mucopolisacáridos y mucoproteínas. El quiste interno tiene una capa compleja de mucopolisacáridos subdividida en tres capas (IIIA: predominando las proteínas; IIIB: a base de sulfomucina y IIIC: a base de mucopolisacáridos neutros) y una capa adicional IV de proteínas laminada o queratinizada. La pared externa del quiste probablemente actúa como una barrera contra la infección de hongos y bacterias, es importante también en la fijación al sustrato (2,3,41-42).

Estas metacercarias se encuentran dentro del tejido vegetal, de modo que no son eliminadas con el lavado de las plantas contaminadas. Los huéspedes definitivos se infectan al ingerir estas plantas contaminadas, de las cuales los berros comestibles son la principal fuente de infección humana. Ocasionalmente la infección se puede adquirir al tomar agua contaminada con metacercarias o jugos de las plantas parasitadas. En el intestino delgado se libera el parásito inmaduro, que atraviesa la pared intestinal, el peritoneo y la cápsula hepática, para luego buscar los canales biliares en donde se desarrolla a adulto en tres a cuatro meses, vive aproximadamente nueve a 13 años (39) (Anexo 1).

### **Patología y patogenia:**

La patología y patogenia se puede dividir en tres etapas, de acuerdo a la localización de los parásitos. La primera corresponde a la

invasión a través de lesiones en el intestino, peritoneo e hígado, en los cuales se produce inflamación y pequeños abscesos con eosinofilia. La segunda fase latente, corresponde a la llegada y crecimiento de los parásitos jóvenes en el hígado, la cual dura meses o años. Puede pasar clínicamente desapercibida, pues apenas se está iniciando la fibrosis, la obstrucción y siempre se acompaña de elevada eosinofilia circulante. La tercera fase: obstructiva, corresponde al establecimiento de los parásitos en los conductos biliares intrahepáticos; hay inflamación, abscesos, hiperplasia celular, hepatomegalia y finalmente fibrosis (39).

La localización normal del parásito es el hígado, pero por vía sanguínea o por migración a través de los tejidos blandos, puede llegar a otros sitios lo cual da lugar a la llamada fascioliasis ectópica, principalmente en el tejido subcutáneo de la pared abdominal, en donde se presentan nódulos dolorosos de 1 cm a 6 cm. También se encuentra en pulmones, corazón, cerebro, músculos y sistema urinario (39).

#### **Diagnóstico:**

Se hace principalmente por el hallazgo de huevos en bilis o materias fecales, aunque en muchas ocasiones ese diagnóstico se hace al observar los parásitos después de una cirugía, realizada con un diagnóstico clínico diferente al de esta parasitosis. Los estudios imagenológicos son de gran utilidad, principalmente el TAC. Existe una prueba de ELISA y otros estudios inmunológicos que detectan

anticuerpos. También es posible buscar antígenos del parásito (30,39).

**Tratamiento:**

La Organización Mundial de la Salud recomienda la utilización de Triclabenzadol a dosis de 10 mg/Kg en una sola toma (en caso de fracaso se puede administrar una dosis doble 20 mg/Kg). Recomienda la utilización de dicho fármaco como medida preventiva en zonas endémicas, principalmente en niños de edad escolar (5-14 años) o a todos los habitantes cada 12 meses (43).

**ACIDO ACETICO (VINAGRE)**

El vinagre es un líquido agrio y astringente que consiste principalmente de ácido acético. Este producto es barato, se encuentra fácilmente en el mercado y parece tener potencial antimicrobiano (8). El vinagre se produce a partir de materias primas que contienen almidón o azúcar a través de la secuencia de etanol y fermentaciones de ácido acético, se utiliza en una variedad de aplicaciones alimentarias. La producción de vinagre normalmente implica una primera fermentación de los azúcares simples de la materia prima, que se convierten en alcohol por las levaduras. El alcohol resultante se oxida a ácido acético por Acetobacterias durante la última fermentación. Existen varios métodos de producción de vinagre, pero principalmente dos métodos se utilizan comercialmente. El primero es un método tradicional clasificado

como un "método de superficie" en la que las bacterias Acetobacteriaceae crecen en la superficie de la madera quien le proporciona oxígeno. El segundo método, que se clasifica como un "cultivo sumergido" es un método en el que el oxígeno se suministra en la fermentación para acelerar la producción industrial (44).

El ácido acético posee un efecto bactericida, particularmente en Bacterias gramnegativas tales como *P. vulgaris*, *P. aeruginosa* y *A. baumannii*. El espectro microbiológico del ácido acético es amplio, incluso cuando se prueba a baja concentración de 3%(45).

El ácido acético es un remedio casero conocido para la limpieza y tiene efectos documentados en el cuidado de heridas tópicas contra las infecciones por Pseudomonas (46). El ácido acético erradica las biopelículas maduras de bacterias, la propia molécula de ácido acético en su forma no disociada es la que mata las bacterias (47).

La toxicidad de los ácidos débiles hacia las bacterias, como el ácido acético, no es solo una consecuencia de su acidez. Se cree que ejercen sus efectos tóxicos a través de una variedad de mecanismos. Los ácidos débiles pueden atravesar las membranas bacterianas más fácilmente que los ácidos fuertes, debido al equilibrio entre sus formas ionizadas y no ionizadas, las últimas pueden difundir libremente las membranas hidrófobas cruzadas. Una consecuencia de esto es que tienden a colapsar los gradientes de protones que son necesarios para la síntesis de ATP, ya que los aniones libres (acetato en este caso) se combinarán con protones

periplásmicos bombeados por la cadena de transporte de electrones y los transportarán a través de la membrana sin paso a través de la F1Fo ATP sintasa. Sin embargo, como el pH interno de la célula (típicamente alrededor de pH 7.6 en bacterias neutrofílicas) es más alto que el de la solución de ácido débil fuera de la célula, el ácido acético internalizado se disociará, acidificando el citoplasma. El anión liberado por este proceso es una causa separada de toxicidad, que puede ser causada por una variedad de eventos, como estrés osmótico en la célula. Se sabe que la naturaleza de estos depende del anión particular, aunque las razones mecánicas para esto no se comprenden completamente; por lo tanto, diferentes ácidos débiles al mismo pH pueden tener efectos tóxicos muy diferentes sobre las células. (8)

### 2.3 Definición de términos básicos

- **Fascioliasis hepática:** Enfermedad del hígado causada por infecciones con parásitos tremátodos del género de Fasciola, como Fasciola hepatica(1).
- **Ácido acético:** El ácido acético (vinagre) es un líquido miscible, con sabor agrio, proviene de la fermentación acética del vino (8).



## CAPITULO III

### 3. La Hipótesis:

#### 3.1 Formulación de hipótesis

➤ **Hipótesis:**

- El ácido acético (vinagre) es eficaz sobre la viabilidad de la metacercaria de *F. hepatica*.

#### 3.2 Definición de variables:

➤ **Variable Dependiente:**

Viabilidad de Metacercarias de *F. hepatica*.

➤ **Variable Independiente:**

Concentración de ácido acético.

Tiempo de exposición a ácido acético.

#### 3.3 Operacionalización o categorización de variables.

**TABLA 1**

Operacionalización de variables.

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES	OPERACIONALIZACION DE VARIABLES			
				INDICADOR	INSTRUMENTO	ESCALA	FUENTE
¿Cuán eficaz es el ácido acético (vinagre) en la eliminación de metacercarias de <i>Fasciola hepatica</i> ?	<p><b>General:</b></p> <p>Determinar el efecto del ácido acético (vinagre) sobre la viabilidad de metacercaria de <i>Fasciola hepatica</i>.</p> <p><b>Específicos:</b></p> <p>Determinar la concentración de ácido acético necesarios para lograr la eliminación de metacercaria de <i>Fasciola hepatica</i>.</p> <p>Determinar el tiempo de exposición al ácido acético que sería necesario para lograr la eliminación de metacercaria de <i>Fasciola hepatica</i>.</p> <p>Determinar la viabilidad de la metacercaria de <i>Fasciola hepatica</i> expuesta a la acción del ácido acético (vinagre).</p>	El ácido acético (vinagre) es eficaz sobre la viabilidad de la metacercaria de <i>Fasciola hepatica</i> .	<p><b>Variable dependiente:</b></p> <p>Metacercarias de <i>Fasciola hepatica</i>.</p>	Viabilidad de metacercaria de <i>Fasciola hepatica</i> .	Estereoscopio	Numero de metacercarias presentes	Datos de laboratorio
	<p><b>Variable independiente:</b></p> <p>Concentración de ácido acético.</p> <p>Tiempo de exposición a ácido acético.</p>		Ácido acético (vinagre)	Instrumentos para medir la concentración de ácido acético.			

## CAPITULO IV

### 4. Metodología:

#### 4.1 Tipo y diseño de la investigación

Experimental.

#### 4.2 Técnicas de muestreo:

- **Muestra:**

Metacercarias de *Fasciola hepatica*, que se han obtenido por estimulación de caracoles *Galba truncatula* obtenidos de la localidad de Polloc-La Encañada-Cajamarca (21), para obtener el valor de la muestra se obtuvo por cada grupo evaluado, cada grupo estuvo conformado por 25 metacercarias.

**TABLA 2**

Diseño experimental

Concentración de ácido acético	Tiempo de exposición		
	1 Hora	2 Horas	3 Horas
1%	Grupo A1	Grupo A4	Grupo A7
	Grupo A2	Grupo A5	Grupo A8
	Grupo A3	Grupo A6	Grupo A9
3%	Grupo B1	Grupo B4	Grupo B7
	Grupo B2	Grupo B5	Grupo B8
	Grupo B3	Grupo B6	Grupo B9
5%	Grupo C1	Grupo C4	Grupo C7
	Grupo C2	Grupo C5	Grupo C8
	Grupo C3	Grupo C6	Grupo C9
Agua destilada	Grupo D1	Grupo D1	Grupo D1
	Grupo D2	Grupo D2	Grupo D2
	Grupo D3	Grupo D3	Grupo D3

### **Criterios de Inclusión:**

Metacercarias de *Fasciola hepatica* morfológicamente normales (que se evidencien los gránulos excretorios) y con movimiento vistas al estereoscopio. (28,30,33,34)

### **Criterios de Exclusión:**

Metacercarias de *Fasciola hepatica* que morfológicamente no tienen características normales ni movimiento vistas al estereoscopio.

## **4.3 Técnicas para el procesamiento y análisis de la información:**

### ➤ **Técnicas de recolección de datos**

1. Se solicitó la autorización al jefe de laboratorio de Inmunología e investigación de tremátodos de la Universidad Nacional de Cajamarca para ingresar al laboratorio y realizar el presente trabajo (Anexo 2).
2. Se recolectaron caracoles de la familia *Lymnaea*, especie *Galba truncatula* (21) en la localidad de Polloc –La Encañada-Cajamarca, según el protocolo de cultivo y mantenimiento de caracoles de la Universidad Nacional de Cajamarca, Laboratorio de Inmunología e Investigación “Grupo de investigación en Trematodos”: (Anexo 3)
  - Se recolectaron caracoles (dextrógiros) del campo y se llevaron al laboratorio.

- Se colocó los caracoles en un tamiz y fueron lavados con agua corriente por unas 3 o cuatro veces.
  - Se prepararon cajas de plástico (5lt) con agua de clorada en volumen de 4lt, colocar simultáneamente el sistema de aireación para ir acondicionando el agua. (Anexo 4)
  - Cuando los caracoles estuvieron limpios, fueron separados por tamaño y colocarlos en el medio a razón de 15 a 25 caracoles por caja. La alimentación se realizó con una dieta a base de plantas verdes molidas deshidratadas. (Anexo 4)
3. Se procedió a estimular a los caracoles según el protocolo estimulación de caracoles y obtención de metacercarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, Laboratorio de Inmunología e Investigación “Grupo de investigación en Trematodos” (Anexo 5):
- Con la pinza de plástico se colocaron los caracoles en la placa Petri, luego con la pipeta de plástico se roció agua destilada sobre la concha, esto para limpiar los caracoles de tierra y/o heces, con ayuda de un pincel, luego se observaron bajo estereoscopio para verificar que hayan quedado limpios. (Anexo 6)
  - Se llenó una bolsa de polipropileno de 100ml con 50ml aproximadamente de agua destilada helada (4°C), con ayuda de la pinza plástica se colocaron los caracoles dentro (8 a 10 caracoles por bolsa). (Anexo 6)

- Se torció el lado abierto de la bolsa, retirando de esta manera el aire de la parte que contiene agua, ES MUY IMPORTANTE evitar que quede aire, ya que si esto sucede los caracoles se pegarían y no producirían metacercarias. (Anexo 6)
- Luego del paso anterior se hizo un nudo en la bolsa y se la colocó en presencia de luz solar o artificial (lámpara) por aproximadamente 3 horas. (Anexo 6)
- Pasadas las 3 horas se observó la presencia de metacercarias, al observarse alguna cercaría sin enquistar se esperó unas horas (fuera de la presencia de luz). (Anexo 6)
- Se soltó el nudo de la bolsa por torsión, colocando la bolsa dentro del vaso y con las tijeras se cortó la parte sobrante del plástico que no había tenido contacto con el agua. Fijándose en el filo de unión de la bolsa se cortó hasta llegar al final de la bolsa y se dejó caer el agua en el vaso, así mismo cayeron los caracoles y otros se encontraban pegados en la bolsa.
- Se lavó el plástico de la presencia de algún detrito, esto con la piceta, suavemente evitando desprender las metacercarias enquistadas. Terminado este paso siempre cerrar la bolsa con los lados interiores cara a cara, esto para evitar que alguna metacercaria se desprenda.

- Se colocó la bolsa en una placa Petri y observó al estereoscopio, a este tiempo se contaron las metacercarias, se cortó la bolsa por la mitad con el uso del bisturí y la pinza.
  - Una vez terminado el conteo se utilizó un pincel y con ayuda del estereoscopio se desprendió suavemente las metacercarias, con ayuda de una pipeta se las colocó dentro de los microtubos de 1.5ml y se agregó agua destilada para evitar la desecación.
  - Finalmente se identificó y guardó en refrigeración con la tapa del microtubo entreabierto. (Anexo 6)
  - Se siguió dicho procedimiento hasta recolectar las metacercarias que cumplan con los criterios de inclusión y en cantidad según la tabla 2. Diseño experimental.
4. Se tituló el vinagre comercial para obtener la concentración de ácido acético según determinación del contenido de ácido acético de un vinagre comercial (48): (Anexo 7)
- Se pipeteo 5 ml del vinagre filtrado y enrasar con agua destilada hasta 100 ml en un matraz aforado.
  - En un matraz Erlenmeyer de 250 ml verter la muestra a valorar y añadir 4 gotas del indicador, que en este caso es fenolftaleína.
  - Cargar la bureta con 50 ml de NaOH 0.1 M.
  - Realizar la valoración gota a gota abriendo la llave de la bureta mientras observamos atentamente la muestra y su cambio de color.

- Cerrar la llave de la bureta al observar el cambio de color y anotar el volumen de NaOH gastado.
- Finalmente, calcular la concentración de ácido acético: (el volumen gastado fue 43ml)  $C1*V1=C2*V2$

$$C1 = 0,1 * 4,3 \div 100$$

$$C1 = 0,043M$$

- Calculamos la cantidad de moles existentes en 5ml utilizados de vinagre comercial, según la fórmula:

$$M = \frac{n}{v} \rightarrow n = M * v$$

$$n = 0,1 * 0,043$$

$$n = 0,0043 \text{ moles de ácido acético.}$$

- Calculamos los gramos de ácido acético en 100ml:

$$\begin{aligned} n \text{ moles de ácido acético en 100ml de vinagre} &= 0,0043 * 100 \text{ml de vinagre} \\ &\quad \%5 \text{ml de muestra} \end{aligned}$$

$$n \text{ moles de ácido acético en 100ml de vinagre} = 0,086 \text{ moles}$$

$$\begin{aligned} 0,086 \text{ moles} * 60 \text{g/mol} &= 5,1 \text{ gramos de ácido acético} \\ &\quad \text{en 100ml.} \end{aligned}$$

Por tanto, tenemos un vinagre comercial al 5%

5. De acuerdo a ello se realizaron las diluciones correspondientes para obtener ácido acético al 1%, 3% y 5%. (28) (Anexo 7)



6. Se conformaron grupos de 25 metacercarias cada uno, cada grupo se colocó en microtubos. (Anexo 8)
7. Se colocó vinagre (ácido acético) en cada grupo por el tiempo indicado en diseño experimental, luego se las lavo en tres oportunidades con agua destilada, se agregó tinción de eosina, se realizó la observación de la morfología (gránulos excretores en su interior) y movimiento de las metacercarias en el microscopio de luz para verificar la viabilidad de las metacercarias (28,30,33,34). (Anexo 9)
8. Se recogió la información en las hojas de recolección de datos. (Anexo 10)

➤ **Análisis estadístico de datos.**

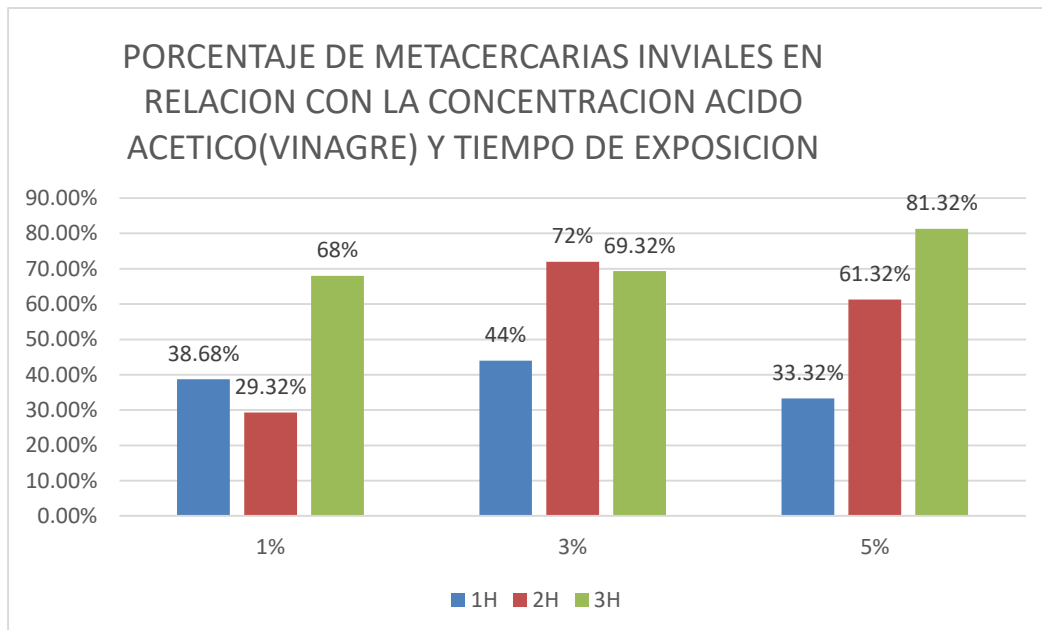
El procesamiento de la información se realizó utilizando el programa Microsoft Office Excel 2016. El  $n/tn\%$  (n: número de metacercarias inviábiles; tn: número total de metacercarias por grupo), según lo empleado en el estudio de Arafa (49); utilizando el programa Microsoft Office Excel 2016 e IBM SPSS Versión 23.0. con análisis de varianza (ANOVA) y comparación múltiple por prueba de Bonferroni, mostrándolas mediante tablas y gráficos estadísticos como resultados de esta investigación.

## CAPITULO V

### 5. Resultados

Los análisis para verificar la eficacia del vinagre (ácido acético) en diversas concentraciones sobre la viabilidad de metacercarias de *Fasciola hepatica*, verificada por análisis microscópico se encuentran en la Tabla 3. Se evidencia que ningún promedio de los grupos independientemente de la concentración de vinagre y el tiempo se encuentran con una eficacia por encima del 95%, la eficacia más alta es del 81,32% que se evidencia en el promedio de los grupos expuestos al ácido acético al 5% (C7, C8 y C9) por 3 horas, La menor eficacia de los grupos expuestos al vinagre tiene un valor del 29,32% el cual corresponde al promedio de los grupos que estuvieron expuestos al 1% del ácido acético durante 2 horas. El promedio de las metacercarias que pertenecieron al grupo control (agua destilada) muestra una eficacia del 20% que no presenta variación a lo largo del de las horas (1hora, 2 horas y 3 horas).

**Grafico 1:**



**TABLA 3:**

Eficacia del vinagre (ácido acético) en diversas concentraciones sobre la viabilidad de *metacercarias de Fasciola*, verificada por análisis microscópico.

TIEMPO	GRUPO A (Ac. Acético 1%)		GRUPO B (Ac. Acético 3%)		GRUPO C (Ac. Acético 5%)		AGUA DESTILADA (grupo control)	
	METACERCARIAS INVIABLES	PROMEDIO [n/tn(%)]	METACERCARIAS INVIABLES	PROMEDIO [n/tn(%)]	METACERCARIAS INVIABLES	PROMEDIO [n/tn(%)]	METACERCARIAS INVIABLES	PROMEDIO [n/tn(%)]
1H	A1=14/25 A2=7/25 A3=8/25	9.67 (38.68%) 22,99%-54,37%	B1=8/25 B2=13/25 B3=12/25	11 (44%) 28,01%-59,99%	C1=4/25 C2=13/25 C3=8/25	8.33 (33,32%) 18,14%-48,5%	A10=2/25 B10=4/25 C10=9/25	5 (20%) 7,12%-32,88%
2H	A4=6/25 A5=12/25 A6=4/25	7.33 (29.32%) 14,66%-43,98%	B4=21/25 B5=19/25 B6=14/25	18 (72%) 57,54%-86,46%	C4=17/25 C5=8/25 C6=21/25	15,33 (61,32%) 45,69%-77,01%	A10=2/25 B10=4/25 C10=9/25	5 (20%) 7,12%-32,88%
3H	A7=17/25 A8=14/25 A9=20/25	17 (68%) 49,78%-86,22%	B7=20/25 B8=17/25 B9=15/25	17.33 (69.32%) 54,47%-84,17%	C7=15/25 C8=21/25 C9=25/25	20.33 (81,32%) 68,77%-93,87%	A10=2/25 B10=4/25 C10=9/25	5 (20%) 7,12%-32,88%

Rangos de IC 95%.

La eficacia se obtuvo [(n/nt) %]; n, número de metacercarias inviables; nt, número total de metacercarias por grupo (25 metacercaria)

Los análisis para verificar la viabilidad de las metacercarias de *Fasciola hepatica*, se muestran en la Tabla 4. En todos los grupos expuestos al vinagre (ácido acético) en diversas concentraciones, parece disminuir la viabilidad con el tiempo, se evidencia que después de exponer a las metacercarias de *Fasciola hepatica* por una hora al vinagre en concentraciones del 1%,3% y 5%, conservan la viabilidad por encima del 50%, el promedio de los grupos de metacercarias expuestas al 1% de ácido acético (A1,A2 y A3) presentó una viabilidad de 61,32%, el promedio de los grupos de metacercarias expuestas al 3% de ácido acético (B1, B2 y B3) presento una viabilidad de 56% y el promedio de los grupos de metacercarias expuestas al 5% de ácido acético (C1,C2 y C3) presento una viabilidad de 66,68%.

Los grupos de metacercarias que fueron expuestos al vinagre en varias concentraciones por 2 horas presentaron variaciones en la viabilidad, el promedio de los grupos expuesto al ácido acético al 1%(A4, A5 y A6) presento una viabilidad del 70,68%, el promedio de los grupos expuesto al ácido acético al 3% (B4, B5 y B6) presentó una viabilidad del 28%, y el promedio de los grupos de metacercarias expuestas al 5% del ácido acético (C4, C5 y C6) presentó una viabilidad de 38,68%.

Los grupos de metacercarias que fueron expuestos al vinagre en varias concentraciones por 3 horas, el promedio de los grupos expuesto al ácido acético al 1%(A7, A8 y A9) presento una viabilidad del 32%, el promedio de los grupos expuesto al ácido acético al 3% (B7, B8 y B9) presentó una viabilidad del 30,68%, y el promedio de los grupos de metacercarias expuestas al 5% del ácido acético (C7, C8 y C9) presentó una viabilidad de 18,68%.

No se evidencia variación en el promedio de los grupos de control (agua destilada), mantuvieron una viabilidad del 80%.

**TABLA 4:**

Viabilidad de metacercarias de *Fasciola hepatica* después de haber sido expuestas al vinagre (ácido acético), verificada por análisis microscópico según apariencia retráctil de gránulos secretores y movimiento dentro de los quistes.

TIEMPO	GRUPO A (Ac. Acético 1%)		GRUPO B (Ac. Acético 3%)		GRUPO C (Ac. Acético 5%)		AGUA DESTILADA (grupo control)	
	METACERCARIAS VIABLES	PROMEDIO [n/tn(%)]	METACERCARIAS VIABLES	PROMEDIO [n/tn(%)]	METACERCARIAS VIABLES	PROMEDIO [n/tn(%)]	METACERCARIAS VIABLES	PROMEDIO [n/tn(%)]
1H	A1=11/25 A2=18/25 A3=17/25	15.32 (61.32%) 46%-76.94%	B1=17/25 B2=12/25 B3=13/25	14 (56%) 40,01%-71,99%	C1=21/25 C2=12/25 C3=17/25	16.67 (66.68%) 51,5%- 81,86%	D1=23/25 D2=21/25 D3=16/25	20 (80%) 67,12%-92,88%
2H	A4=19/25 A5=13/25 A6=21/25	17.67 (70.68%) 56,02%-85,34%	B4=4/25 B5=6/25 B6=11/25	7 (28%) 13,54%-42,46%	C4=8/25 C5=17/25 C6=4/25	9.67 (38.68%) 22,99%- 54,37%	D1=23/25 D2=21/25 D3=16/25	20 (80%) 67,12%-92,88%
3H	A7=8/25 A8=11/25 A9=5/25	8 (32%) 16,98%-47,02%	B 7=5/25 B 8=8/25 B 9=10/25	7.67 (30.68%) 15,83%-45,53%	C7=10/25 C8=4/25 C9=0/25	4.67 (18.68%) 6,13%- 31,23%	D1=23/25 D2=21/25 D3=16/25	20 (80%) 67,12%-92,88%

Rangos de IC 95%.

Porcentaje de viabilidad se obtuvo [(n/nt) %]; n, número de metacercarias viables; nt, número total de metacercarias por grupo (25 metacercarias).

**TABLA 5:**

Análisis de la varianza (ANOVA)

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Concentración de Ácido Acético	Entre grupos	7.917	12	.660	.916	.556
	Dentro de grupos	10.083	14	.720		
	Total	18.000	26			
Exposición	Entre grupos	12.917	12	1.076	2.964	.028
	Dentro de grupos	5.083	14	.363		
	Total	18.000	26			

En la tabla 5, se evidencia el análisis de la varianza (ANOVA), donde se aprecia que en la exposición (tiempo) y su relación entre los grupos tiene una diferencia significativa de 0.028; mientras que la concentración de vinagre (ácido acético) tiene una significancia del 0.556.

**TABLA 6:**

EXPOSICIÓN		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
1 Hora	2 Horas	-3.89	1.97	.191	-9.09	1.31
	3 Horas	-8,5556*	1.97	.001	-13.75	-3.36
2 Horas	1 Hora	3.89	1.97	.191	-1.31	9.09
	3 Horas	-4.67	1.97	.087	-9.86	.53
3 Horas	1 Hora	8,5556*	1.97	.001	3.36	13.75
	2 Horas	4.67	1.97	.087	-.53	9.86

Comparación múltiple por prueba de Bonferroni

En la tabla 6, comparación múltiple por prueba de Bonferroni, se evidencia que hay diferencia significativa en la exposición (tiempo) de las metacercarias al ácido acético de una hora con 3 horas el cual es de 0.001.

## CAPITULO VI

### 6. Discusión

La fascioliasis humana, es generada por el consumo de alimentos contaminado con metacercarias de *Fasciola hepatica*, que generalmente se encuentran en vegetales contaminados, por lo cual es de suma importancia implementar medidas de prevención como menciona S. Mas-Coma en su estudio “Fuentes de infección de la fascioliasis humana, diversidad, factores de incidencia, métodos analíticos y medidas de prevención” (32).

La valoración de la viabilidad en la presente investigación fue valorada por el método in vitro, el cual consistió en verificar la motilidad de la metacercaria dentro del quiste interno con ayuda del microscopio de luz junto con la examinación de la morfología de la metacercaria (presencia de gránulos excretorios) (28,30,33-34). Se consideró como inviables a las metacercarias que se encontraban incompletas, inmóviles o que no presenten la primera capa, ya que según sugiere K.E.Dixon (36) es improbable que las metacercarias que han perdido la primera capa puedan sobrevivir a las condiciones acidas de los jugos gástricos.

Uno de los primeros estudios que valoró la viabilidad de las metacercarias de *Fasciola hepatica* a algunas sustancias químicas se desarrolló en Egipto por El Sayed y col, identificaron que el vinagre comercial (120ml/L), ácido cítrico (10ml/L), jabón líquido (12ml/L) y KMnO<sub>4</sub> (24mg/h) logran separar todas las metacercarias que se encuentran enquistadas en los vegetales después de una exposición de



10 minutos; sugiriendo que el desprendimiento de los quistes se debió a una probable reacción entre la capa proteica de las metacercarias con los agentes antes mencionados.(28) El vinagre es un producto de gran disponibilidad comercial, por lo cual se optó por su utilización en la presente investigación.

Los resultados obtenidos muestran que desafortunadamente el vinagre (ácido acético) en sus diversas concentraciones (1%,3% y 5%) no es eficaz para matar a las metacercarias de Fasciola hepatica, ya que solo alcanza una eficacia del 81,32% en su más alta concentración y con el mayor tiempo de exposición (3horas) (Tabla 3); además estadísticamente no hay una diferencia significativa entre las concentraciones de ácido acético ( $p=0.556$ ); este resultado es similar al obtenido en la investigación de Ashrafi K y col en Irán, quienes estudiaron el efecto del permanganato de potasio en la viabilidad de metacercarias en alimentos preparados con vegetales, exponiendo a los alimentos por 5 minutos al permanganato de potasio incluso en dosis de 300, 600 y 1200mg/L, luego lo administraron a animales de laboratorio, demostrando que estadísticamente no tiene una diferencia significativa ( $p>0.05$ )(30).

En el estudio realizado por Hassan y col, en Egipto; estudiaron la eficacia de cinco productos químicos y su relación con la infectividad de las metacercarias de *Fasciola gigantica*, uno de los productos químicos evaluados fue el ácido acético, concluyendo que la exposición por 15 y 30 minutos a concentraciones mayores del 2,5% (5 % y 10%) generan que las metacercarias se encuentren no infectivas. (31). Los resultados obtenidos en la presente investigación no concuerdan con lo encontrado en el estudio antes descrito, lo que si se evidencio que existe diferencia

significativa ( $p=0,028$ ) entre los tiempos de exposición (1 hora, 2horas y 3horas) siendo esta diferencia entre la 1hora y 3 hora de exposición, lo cual indica que independientemente de la concentración de ácido acético mientras más tiempo se encuentren las metacercarias expuestas a este será mayor la eficacia. (Tabla 6)

## CAPITULO VII

### 7. Conclusiones

- El vinagre (ácido acético) no es eficaz sobre la viabilidad de metacercaria de Fasciola hepatica, ya que el valor más elevado de eficacia es 81,32% que se evidencia en el promedio de los grupos expuestos al ácido acético al 5% (C7, C8 y C9) por 3 horas.
- Existe diferencia significativa ( $p=0,028$ ) entre el tiempo de exposición de 1 hora y 3horas, lo cual indica que a mayor tiempo de exposición de las metacercarias mayor será la eficacia independientemente de la concentración de ácido acético.
- La viabilidad de las metacercarias de Fasciola hepatica expuestas al ácido acético en diversas concentraciones por una hora conservaron una viabilidad por encima del 50%; de los grupos expuestos por 2 horas al 1%,3% y 5% presentaron una viabilidad el 70,68%,28% y 38,68% respectivamente; de los grupos expuestos por 3 horas al 1%,3% y 5% presentaron una viabilidad el 32%,30,68% y 18,68% respectivamente, finalmente de los grupos control (agua destilada) mantuvieron una viabilidad del 80%.

## 8. Recomendaciones

- Capacitar al personal de salud sobre las formas de adquirir fascioliasis humana, el tratamiento y las posibles medidas de prevención.
- A nivel de centros y puestos de salud, que se elaboren programas de educación y concientización dirigidas a toda la población sobre fascioliasis humana.
- Teniendo en cuenta los resultados, deberían realizarse más estudios acerca de los posibles agentes que logren eliminar a la metacercaria de *Fasciola hepatica*.
- Realizar estudios sobre las medidas preventivas de fascioliasis humana.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. NCBI: National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine [Internet].EE.UU [citado 20 Nov 2017].Fascioliasis [aprox. 1 pantalla]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/?term=fasciolosis>
2. Mramba Nyindo., Abdul-Hamid Lukambagire,. Fascioliasis: An Ongoing Zoonotic Trematode Infection. *BioMed Research International*. 2015; 2015:1-8.
3. Neil J.Morley. Chapter One - Ecology of Free-Living. Metacercariae (Trematoda). *Advances in Parasitology*. 2015. Volumen 89. Pages 1-78.
4. Madoka Ichikawa-Seki,. Pedro Ortiz,. María Cabrera,. Cristian Hoban,. Tadashi Itagaki,. Caracterización molecular y análisis filogenético de *Fasciola hepatica* del Perú. *Parasitología Internacional*.2016;65 (3):171-174.
5. Miguel M. Cabada, Alejandro Castellanos-Gonzales, Martha Lopez, María Alejandra Caravedo,. Eulógia Arque, Arthur Clinton White,JR. Fasciola Infections in an Indigenous Community of the Peruvian Jungle. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2016;95(6): 1309–1312.
6. Laura Rinaldi,. Sergio Gonzalez,. Jorge Guerrero,. Luisa Carol Aguilera,. Vincenzo Musella,.Claudio Genchi,. Giuseppe Cringoli. A One-Health integrated approach to control fascioliasis in the Cajamarca valley of Peru. *Geospatial Health*. 2012; 6(3): 567-573.
7. Pinto TM, Neves AC, Leão MV, Jorge AO. Vinegar as an antimicrobial agent for control of *Candida spp.* in complete denture wearers. *J Appl Oral Sci*. 2008 Nov-Dec;16(6):385-90.

8. Halstead FD, Rauf M, Moiemmen NS, Bamford A, Wearn CM, Fraise AP, Lund PA, Oppenheim BA, Webber MA. The Antibacterial Activity of Acetic Acid against Biofilm-Producing Pathogens of Relevance to Burns Patients. PLoS One. 2015 Sep 9;10(9).
9. Bargues MD, Artigas P, Khoubbane M, Ortiz P, Naquira C, Mas-Coma S. Molecular characterisation of *Galba truncatula*, *Lymnaea neotropica* and *L. schirazensis* from Cajamarca, Peru and their potential role in transmission of human and animal fascioliasis. Parasit Vectors. 2012 Aug 15;5: 174.
10. Maco V, Marcos L, Delgado J, Herrera J, Nestares J, Terashima A, Samalvides F, Gotuzzo E. Efficacy and tolerability of two single-day regimens of triclabendazole for fascioliasis in Peruvian children. Rev Soc Bras Med Trop. 2015 Jul-Aug;48(4):445-453.
11. Miguel M. Cabada, Martha Lopez, Maria Cruz, Jennifer R. Delgado, Virginia Hill, A. Clinton White Jr. Treatment Failure after Multiple Courses of Triclabendazole among Patients with Fascioliasis in Cusco, Perú: A Case Series. PLoS NEGL Trop Dis. 2016 Ene; 10 (1): e0004361.
12. Valero MA, Perez-Crespo I, Khoubbane M, Artigas P, Panova M, Ortiz P, Maco V, Espinoza JR, Mas-Coma S. Fasciola hepatica phenotypic characterization in Andean human endemic areas: valley versus altiplanic patterns analysed in liver flukes from sheep from Cajamarca and Mantaro, Perú. Infect Genet Evol. 2012 Mar;12(2):403-410.
13. Cabada MM, Goodrich MR, Graham B, Villanueva-Meyer PG, Lopez M, Arque E, White AC Jr. Fascioliasis and eosinophilia in the highlands of Cuzco,

- Perú and their association with water and socioeconomic factors. *Am J Trop Med Hyg.* 2014 Nov;91(5):989-993.
- 14.V. Fernández, P. Ortiz, M.V. Solana and H. Solana. Differential Activities of Glutathione S-Transferase Isoenzymes in Strains of *Fasciola Hepática* Susceptible and Resistant to Triclabendazole. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences* 2014, 9 (4): 177-181.
- 15.Hanna R. *Fasciola hepática*: Histology of the Reproductive Organs and Differential Effects of Triclabendazole on Drug-Sensitive and Drug-Resistant Fluke Isolates and on Flukes from Selected Field Cases. *Pathogens.* 2015 Jun 26;4(3):431-456.
- 16.Ah Jin Kim, Chang Hwan Choi, Sun Keun Choi, et al. Ectopic Human *Fasciola hepatica* Infection by an Adult Worm in the Mesocolon. *Korean J Parasitol.* 2015 Dec; 53(6): 725–730.
- 17.Ashrafi K, Bargues MD, O'Neill S, Mas-Coma S. Fascioliasis: a worldwide parasitic disease of importance in travel medicine. *Travel Med Infect Dis.* 2014 Nov-Dec;12(6 Pt A):636-649.
- 18.Ortiz P, Castope N, Cabrera M, Farias C, Suarez G, Lanusse C, Alvarez L. Pharmacokinetic evaluation of different generic triclabendazole formulations in heifers. *N Z Vet J.* 2014 Sep;62(5):279-285.
- 19.Turner J, Howell A, McCann C, Caminade C, Bowers RG, Williams D, Baylis M. A model to assess the efficacy of vaccines for control of liver fluke infection. *Sci Rep.* 2016 Mar 24;6: 23345.

20. Rinaldi L, Gonzalez S, Guerrero J, Aguilera LC, Musella V, Genchi C, Cringoli G. A One-Health integrated approach to control fascioliasis in the Cajamarca valley of Perú. *Geospat Health*. 2012; Sep;6(3):567-573.
21. Boray JC and Enigk K. Laboratory studies on the survival and infectivity of *Fasciola hepatica* and *F. gigantica* metacercariae. *Zeitschrift für Tropenmedizin und Parasitologie*. 1964;15: 324–331.
22. Valero MA and Mas-Coma S. Comparative infectivity of *Fasciola hepatica* metacercariae from isolates of the main and secondary reservoir animal host species in the Bolivian Altiplano high human endemic region. *Folia Parasitologica*. 2000;47, 17–22.
23. Shirai M. The biological observations on the cysts of *Fasciola hepatica* and the route of migration of young worms in the final host. *The Scientific Reports from the Government Institute for Infectious Diseases, Tokyo*. 1927; 6, 511–523.
24. Ross IC and McKay AC. The bionomics of *Fasciola hepatica* in New South Wales and of the intermediate host *Limnaea brazieri* (Smith). *Bulletin of the Council of Scientific and Industrial Research of Australia*. 1929;43, 1–62.
25. Ono Y, Isoda M and Matsumura S. I. Preventive study of *Fasciola hepatica* infection. II. Effects on metacercariae of various environmental conditions and drugs. *Journal of the Japanese Veterinary Medicine Association* 7. 1954; 153–155.



26. Kimura S and Shimizu A. Viability of *Fasciola gigantica* metacercaria. Japanese Journal of Veterinary Science (Nippon Juigaku Zasshi) 40.1978; 357– 359.
27. Alicata JE. Observations on the life history of *Fasciola gigantica*, the common liver fluke of cattle in Hawaii, and the intermediate host, *Fossaria ollula*. Hawaii Agricultural Experimental Station Bulletin 80.1938; 1–22.
28. El Sayed MH, Allam AF and Osman MM. Prevention of human fascioliasis: a study on the role of acids detergents and potassium permanganate in clearing salads from metacercariae. Journal of the Egyptian Society of Parasitology 27. 1997 April; 163–169.
29. El-Zawawy LA, Ali SM and Allam SR. The effect of potassium permanganate and sodium dichloroisocyanurate on metacercariae of *Fasciola gigantica*. Journal of the Egyptian Society of Parasitology 33.2003; 305–314.
30. Ashrafi K, Valero MA, Massoud J, Sobhani AR, Solaymani-Mohammadi S, Conde P, Khoubbane M, Bargues MD and Mas-Coma S. Plant-borne human contamination by fascioliasis. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 75.2006a; 295–302.
31. Hassan AAA, Shoukary NM, El-Motayam M and Morsy ATA. Efficacy of five chemicals on *Fasciola gigantica* encysted metacercariae infectivity. Journal of the Egyptian Society of Parasitology 38.2008; 919–928.
32. Mas-Coma S, Bargues MD, Valero MA. Human fascioliasis infection sources, their diversity, incidence factors, analytical methods and prevention measures. Parasitology. noviembre de 2018;145(13):1665-99.

33. Prasad A, Ghosh S, Bhatnagar PK, Santra PK. Studies on the viability of metacercariae of *Fasciola gigantica*. Journal of helminthology. 1999;73,163-166.
34. Hanna, R.E.B., Baalawy, S.S. & Jura, W. Methods of in vitro study of the invasive processes of *Fasciola gigantica*. Research in Veterinary Science 19.1975; 96–97.
35. Dixon KE. Excystment of metacercariae of *Fasciola hepatica* in vitro. Nature 202.1964;1240–1241.
36. Dixon KE. The physiology of excystment of the metacercaria of *Fasciola hepatica* L. Parasitology 56.1966: 431–456.
37. Tielens AGM, Van Der Meer P, Van Den Bergh SG. *Fasciola hepatica*: Simple, large-scale, in vitro excystment of metacercariae and subsequent isolation of juvenile liver flukes. Experimental Parasitology. febrero de 1981;51(1):8-12.
38. Luzón-Peña M, Rojo-Vázquez FA, Gómez-Bautista M. Seasonal Availability of *Fasciola hepatica* Metacercariae in a Temperate Mediterranean Area (Madrid, Spain). Journal of Veterinary Medicine, Series B. 12 de enero de 1995;42(1-10):577-85.
39. Botero D, Restrepo M. Parasitosis humanas. Vol 1. 5.a ed. Medellín, Corporación para Investigaciones Biológicas, 2012: 491-498.
40. Stuart J. Andrews. The life Cycle of *Fasciola hepática*. en: Dalton. J. P. editor. Fasciolosis. Dublin City University Republic of Ireland;1999.p.1-29.

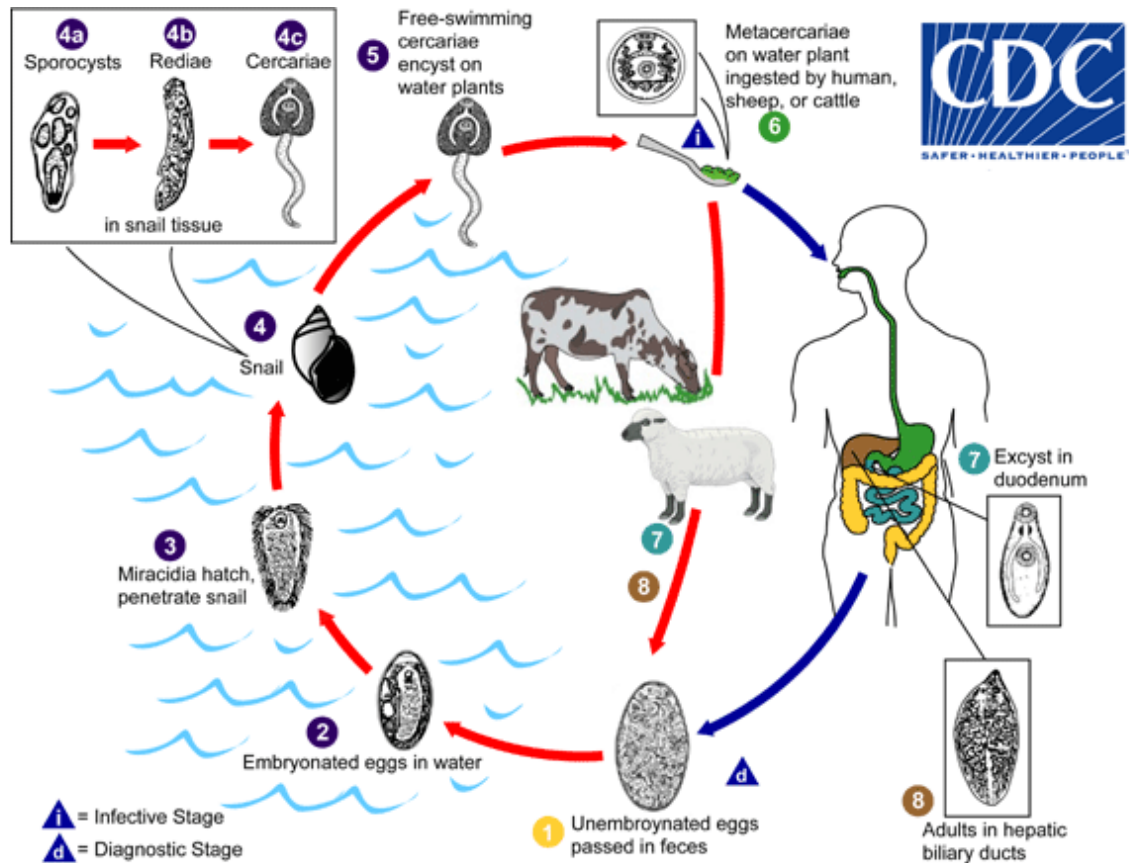
41. Dixon KE, Mercer EH. The fine structure of the cyst wall of the metacercaria of *Fasciola hepatica*. The Quarterly journal of microscopical science 105 . January 1964 :385- 389.
42. Dixon KE. The structure and histochemistry of the cyst wall of the metacercaria of *Fasciola hepatica* L. Parasitology. mayo de 1965;55(02):215.
43. OMS: Organización Mundial de la Salud.U.S.mayo de 2015. [internet]EE.UU. [acceso 20 de noviembre del 2017].Trematodiasis de transmisión alimentaria. Nota descriptiva N°368, [aprox 1 pantalla].Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs368/es/>
44. Nilgün H. Budak, Elif Aykin, Atif C. Seydim, Annel K. Greene, Zeynep B. Guzel-Seydim. Functional Properties of Vinegar. Food Science. 2014 ; 79:757–764.
45. Ryssel H, Kloeters O, Germann G, Schäfer T, Wiedemann G, Oehlbauer M. The antimicrobial effect of acetic acid--an alternative to common local antiseptics?. Burns. 2009 Aug;35(5):695-700.
46. Stjärne Aspelunda, Karin Sjöströmb , Barbro Olsson Liljequistb, Matthias Mörgelinc, Eva Melandera , and Lisa Pålman. Acetic acid as a decontamination method for sink drains in a nosocomial outbreak of metallo- $\beta$ -lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa*.CrossMark. 2016;94:13-20.
47. Bjarnsholt T, Alhede M, Jensen PØ, Nielsen AK, Johansen HK, Homøe P, Høiby N, Givskov M, Kirketerp-Møller K. Antibiofilm Properties of Acetic Acid. Adv Wound Care (New Rochelle). 2015 Jul 1;4(7):363-372.

48. Rodríguez por F. Determinación de la acidez del vinagre [Internet]. Blog de Laboratorio Clínico y Biomédico. 2017 [citado 26 de febrero de 2019]. Disponible en: <https://www.franrzm.com/determinacion-de-la-acidez-del-vinagre/>
49. Arafa M, Khalid M, Abdelrahman M. Comparig a in vivo egg reduction test and in vitro egg hatching assay for different anthelmintics against Fasciola species, in cattle. Veterinary Parasitology. volume 214,30 November 2015:152-158.

## ANEXOS

### ANEXO 1:

#### Ciclo de vida de *Fasciola hepatica*.



Immature *Fasciola* eggs are discharged in the biliary ducts and in the stool (1). Eggs become embryonated in water (2), eggs release miracidia (3), which invade a suitable snail intermediate host (4), including the genera *Galba*, *Fossaria* and *Pseudosuccinea*. In the snail the parasites undergo several developmental stages (sporocysts (4a), rediae (4b), and cercariae (4c)). The cercariae are released from the snail (5) and encyst as metacercariae on aquatic vegetation or other surfaces. Mammals acquire the infection by eating vegetation containing metacercariae. Humans can become infected by ingesting metacercariae-containing freshwater plants, especially watercress (6). After ingestion, the metacercariae excyst in the duodenum (7) and migrate through the intestinal wall, the peritoneal cavity, and the liver parenchyma into the biliary ducts, where they develop into adult

## ANEXO 2:

# Autorización para ejecución de tesis en Laboratorio de Inmunología e investigación de trematodos

Se autoriza a la señorita **HOYOS SÁENZ, Angelita Margot** a utilizar el Laboratorio Inmunología e investigación de tremátodos, en la facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, con el fin de realizar los procedimientos que sean necesarios para la realización de proyecto de tesis titulado: “**EFICACIA DEL ÁCIDO ACÉTICO (VINAGRE) SOBRE LA VIABILIDAD DE LA METACERCARIA DE *Fasciola hepatica*.**”

Se expide la presente a solicitud de la parte interesada para los fines que estime conveniente.

Cajamarca, 4 de febrero de 2019.

---

**Dr. PEDRO ORTIZ OBLITAS**

Jefe de Laboratorio de Inmunología e investigación de  
tremátodos.

### ANEXO 3:

#### PROTOCOLO CULTIVO Y MANTENIMIENTO DE CARACOLES by Cristian Angel Hobán Vergara.

##### **Materiales:**

- Pipetas Pasteur de plástico
- Pinza de plástico
- Pinceles (diferentes tamaños)
- Placas Petri
- Estereoscopio
- Agua destilada y declorada
- Caracoles
- Cajas de plástico de 20x15x5 cm con ranura y de 5lt
- Calcio
- Oxigenadores
- Mangueras transparentes de 5mm de diámetro.
- Piedras difusoras.
- Válvulas y uniones pequeñas.

##### **Procedimiento.**

1.- Recolectar caracoles (dextrógiros) del campo y traerlos al laboratorio.



*Hay que tener en cuenta que para ello usaremos una pinza de plástico o bien de metal pero teniendo cuidado de no dañarlos.*

2.- Colocar los caracoles en un tamiz y lavarlos con agua corriente por unas 3 o cuatro veces, luego pasarlos a una o varias placas Petri para identificarlos bajo el estereoscopio.



3.- Preparar cajas de plástico (5 lt) con agua de clorada en un volumen de 4lt y agregarle Sulfato de Calcio a razón de 35mg/lt, de similar formar llevar el procedimiento en las cajas pequeñas.



4.- Colocar simultáneamente el sistema de aireación para ir acondicionando el agua.

5.- Una vez limpios los caracoles, separarlos por tamaños y colocarlos en el medio a razón de 15 a 25 caracoles por caja. La alimentación se realiza con una dieta a base de plantas verdes molidas y deshidratadas.



6.- Tapar las cajas y mantenerlos bajo la luz artificial por 4 horas y fotos periodo 12h/12H.

7.- Terminado este proceso, colocar los caracoles en su respectiva caja y controlar la ovoposición. Al encontrar masas de huevos (normalmente entre el 5°



y 9° día) retirar los caracoles y dejar las masas de huevos, en lo posible evitar tocarlas, también cambiar el agua de los recipientes para así eliminar las heces y nuevamente agregar agua, calcio y alimento.



8.- Las masas de huevos eclosionarán con caracoles pequeños entre 11 y 15 días, esto dependiendo de la temperatura (temperatura ambiente de 21°C). Al eclosionar, colocar alimento en las cajas y dejar que los caracoles vayan creciendo, evitar cambiar el agua por unas 2 semanas, solo agregar calcio y la cantidad que se evapore.

**ANEXO 4:**  
**CULTIVO Y MANTENIMIENTO DE CARACOLES**



Cajas con caracoles



Cajas con sistema de aireación



Caracoles



Masas de huevos de caracoles

## ANEXO 5:

### PROTOCOLO ESTIMULACIÓN DE CARACOLES Y OBTENCIÓN DE METACERCARIAS by Cristian Angel Hobán Vergara.

#### **Materiales:**

- Pipeta Pasteur
- Bolsa de pastico de 100ml
- Agua destilada helada (4°C)
- Caracoles infectados
- Estereoscopio
- Guantes de nitrilo (color distinto al crema)
- Placa Petri
- Hoja de bisturí
- Vaso plástico de 100ml
- Tijeras
- Piceta con agua destilada
- Microtubos de 1.5ml

#### **Procedimiento: Siempre con el uso de guantes**

1. Con la pinza de plástico sacar los caracoles y colocarlos en la placa Petri, luego con la pipeta de plástico rociarles agua destilada sobre la concha, esto para limpiar los caracoles de tierra y/o heces, ayudarse con el pincel, luego observar bajo estereoscopio que hayan quedado limpios. Caso contrario descartar el agua y repetir.
2. Llenar una bolsa de polipropileno de 100ml con 50ml aproximadamente de agua destilada helada (4°C), con ayuda de la pinza plástica colocar la cantidad de caracoles prevista (8 a 10 caracoles por bolsa).
3. Torcer el lado abierto de la bolsa, retirando de esta manera el aire de la parte que contiene agua, ES MUY IMPORTANTE evitar que quede aire, ya que si esto sucede los caracoles se pegarían y no producirían metacercarias.

4. Luego del paso anterior hacer un nudo en la bolsa y colocarla en presencia de luz solar o artificial (lámpara) por aproximadamente 3 horas.
5. Pasadas las 3 horas observar la presencia de metacercarias, de observarse alguna cercaria sin enquistar dejar por unas horas más (sin la presencia de luz).
6. Soltar el nudo de la bolsa por torsión, colocar la bolsa dentro del vaso y con las tijeras cortar la parte sobrante del plástico que no ha tenido contacto con el agua. Fijándose en el filo de unión de la bolsa, cortar hasta llegar la final de la bolsa y dejar caer el agua en el vaso, así mismo caerán los caracoles y otros estarán pegados en la bolsa.
7. Lavar el plástico de la presencia de algún detrito, esto con la piceta, suavemente evitando desprender las metacercarias enquistadas. Terminado este paso siempre cerrar la bolsa con los lados interiores cara a cara, esto para evitar que alguna metacercaria se desprenda.
8. Colocar la bolsa en una placa Petri y observar al estereoscopio, a este tiempo contar las metacercarias y cortar la bolsa por la mitad con el uso del bisturí y la pinza.
9. Una vez terminado el conteo colocar las bolsas dentro de los microtubos de 1.5ml, para esto ayudados con la pinza doblaremos la bolsa siempre manteniendo el lado abierto hacia arriba, introducir la bolsa en el microtubo y agregar agua destilada para evitar la desecación.
10. Finalmente identificar y guardar en refrigeración con la tapa del microtubo entreabierta.

Nota: Cada dos o 3 semanas observar la cantidad de agua que hay en cada tubo, de ser necesario agregarle agua destilada.

**ANEXO 6:**  
**ESTIMULACIÓN DE CARACOLES Y OBTENCIÓN DE METACERCARIAS**



1.- Verificando la limpieza de los caracoles con el estereoscopio antes de estimularlos



2.-Colocamos los caracoles en las bolsas



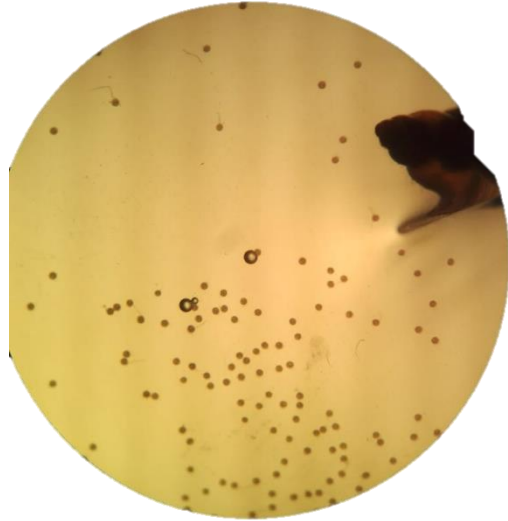
3.-Se colocaron las bolsas en presencia de luz (lámpara).



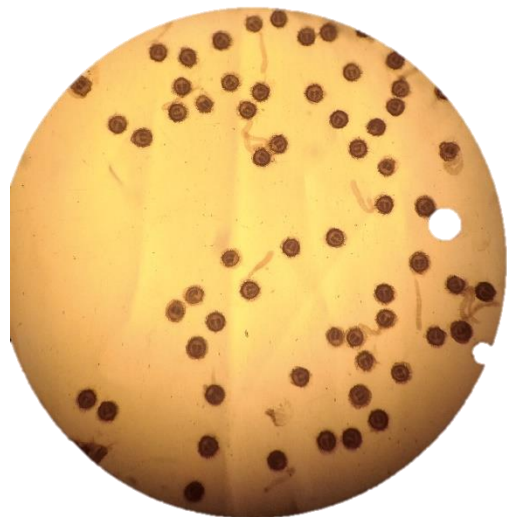
4.-Observamos la salida de las cercarias a través del caracol.



5.- Se evidencian las metacercarias enquistadas en la bolsa

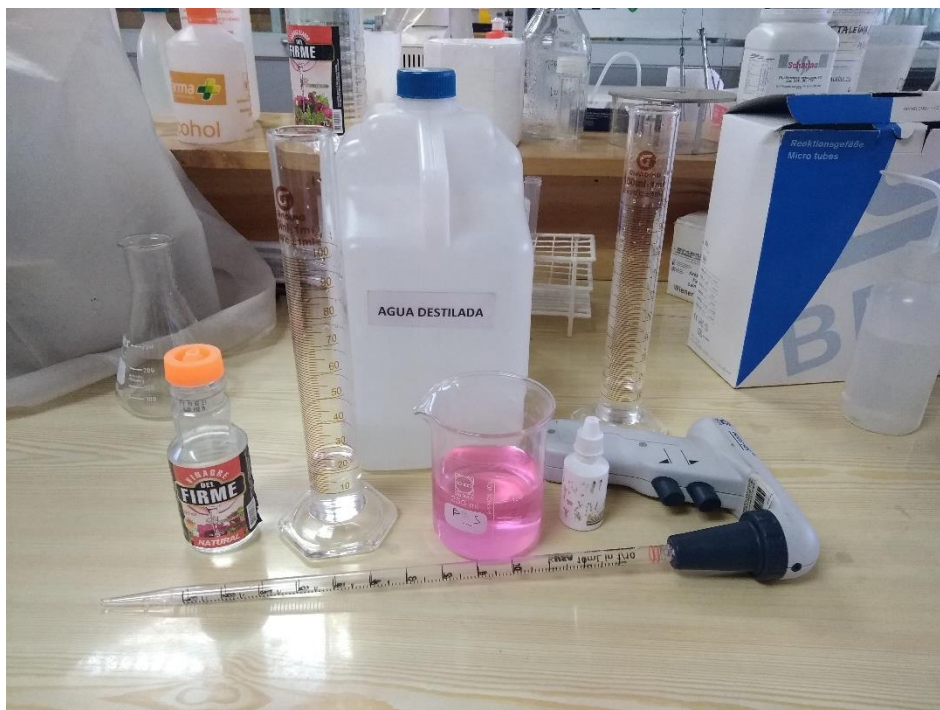


6.- Observamos con ayuda del estereoscopio las metacercarias enquistadas en la bolsa, también se aprecia un caracol en la imagen



7.- Se evidencian las metacercarias de Fasciola hepatica, con ayuda del estereoscopio.

## ANEXO 7: TITULACION DEL VINAGRE COMERCIAL Y DILUCIONES



Materiales utilizados para titular el vinagre comercial.



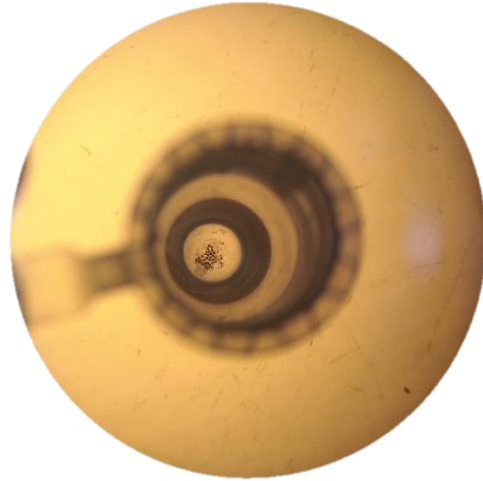
Dilución del vinagre comercial.



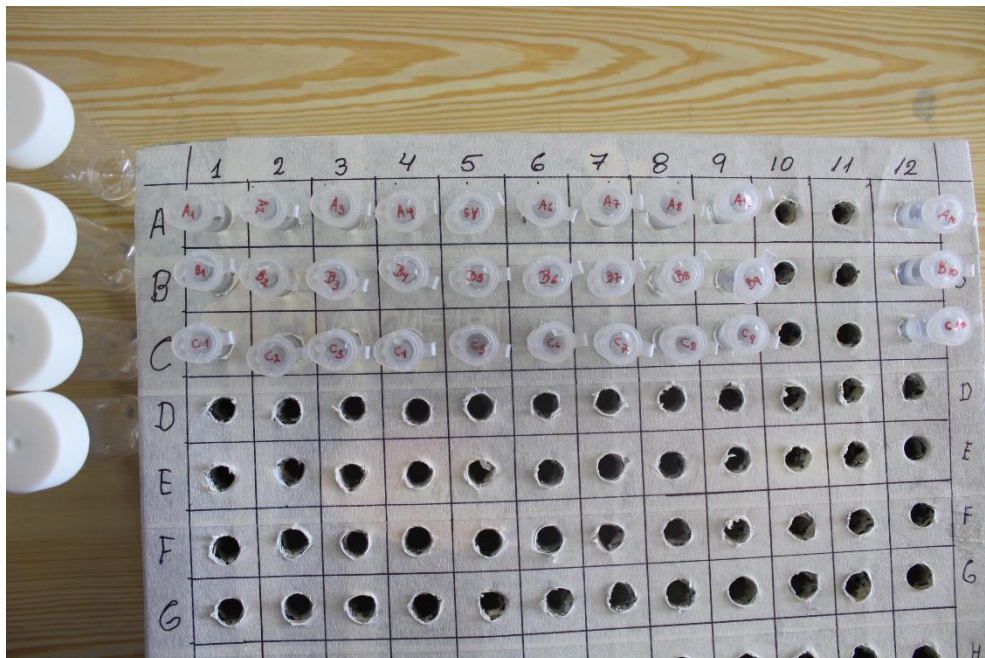
## ANEXO 8: FORMACION DE GRUPOS



1.-Se utilizaron microtubos para formar los grupos.



2.-Con ayuda del estereoscopio se contaron las metacercarias para formar los



3.- Formación de grupos

## ANEXO 9:

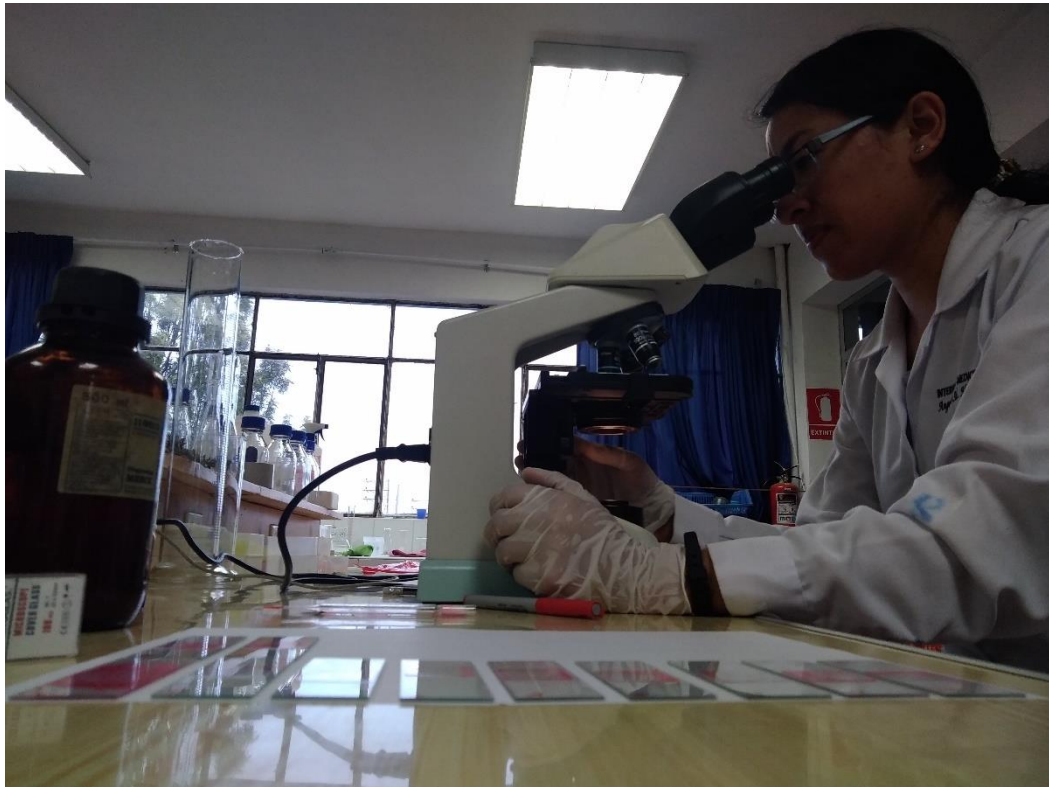
### Exposición de las metacercarias al vinagre (ácido acético)



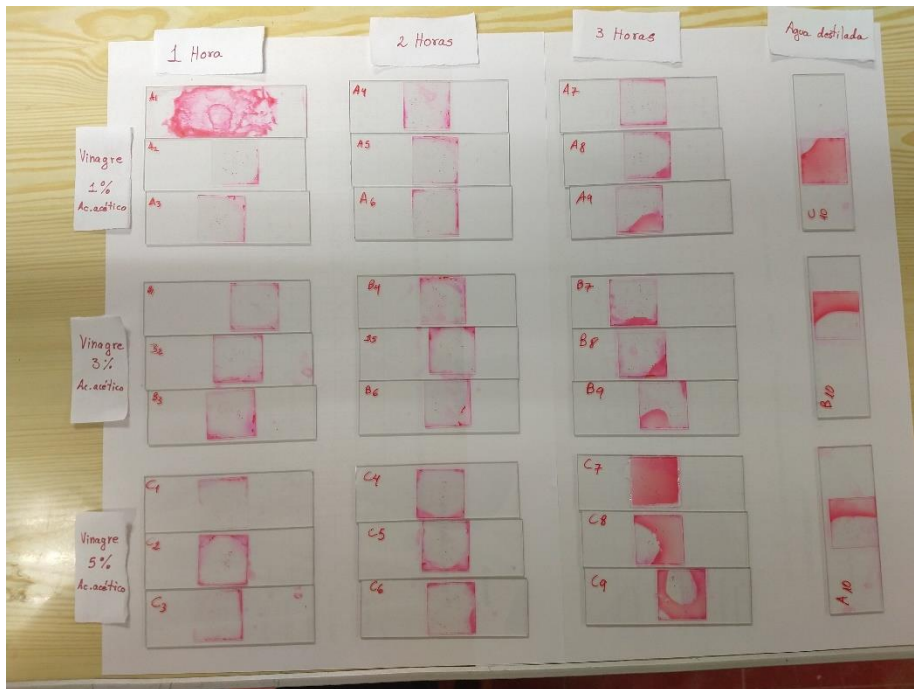
Exposición de las metacercarias al vinagre  
(ácido acético)

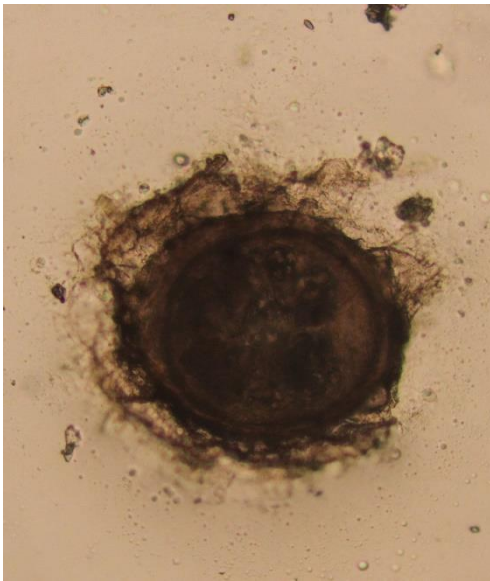


Controlamos el tiempo, se lavó las metacercarias con  
agua destilada por tres oportunidades.



Se realizó la tinción con eosina, luego se procedió a ver los cambios con ayuda del microscopio de luz.

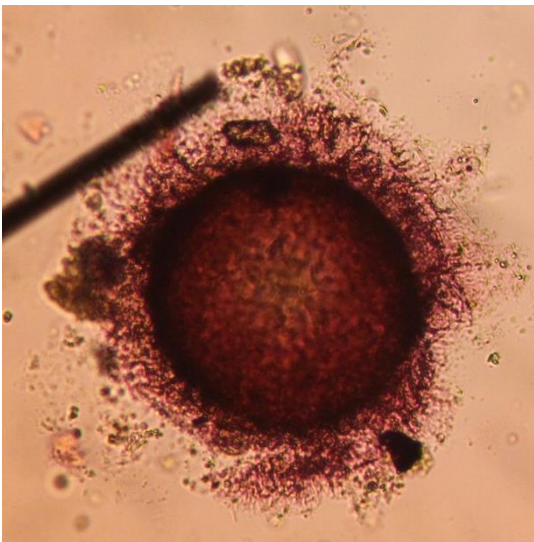




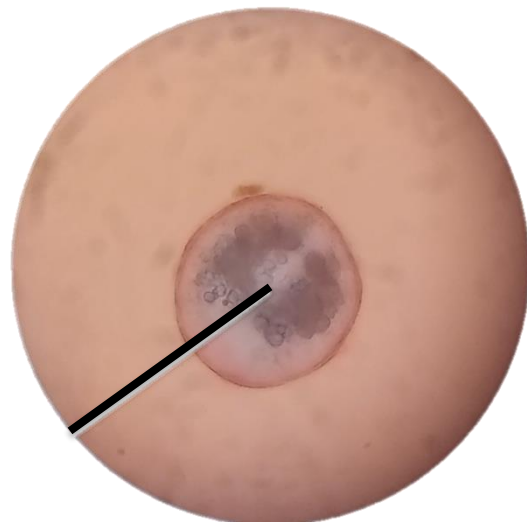
Metacercaria sin tinción  
observada con microscopio de luz



Metacercaria morfológicamente normal (se  
evidencian gránulos internos) con tinción de  
eosina, observada con microscopio de luz



Metacercaria incompleta (no se observan  
gránulos en su interior) con tinción de eosina,  
observada con microscopio de luz.



Metacercaria sin primera capa (se observan  
gránulos en su interior) con tinción de eosina,  
observada con microscopio de luz.

## ANEXO 10

### FICHA DE RECOLECCION DE DATOS:

#### 1. CARACTERÍSTICAS:

Grupos: ..... Concentración vinagre (ácido acético): ..... Fecha : .....Tiempo de exposición: .....

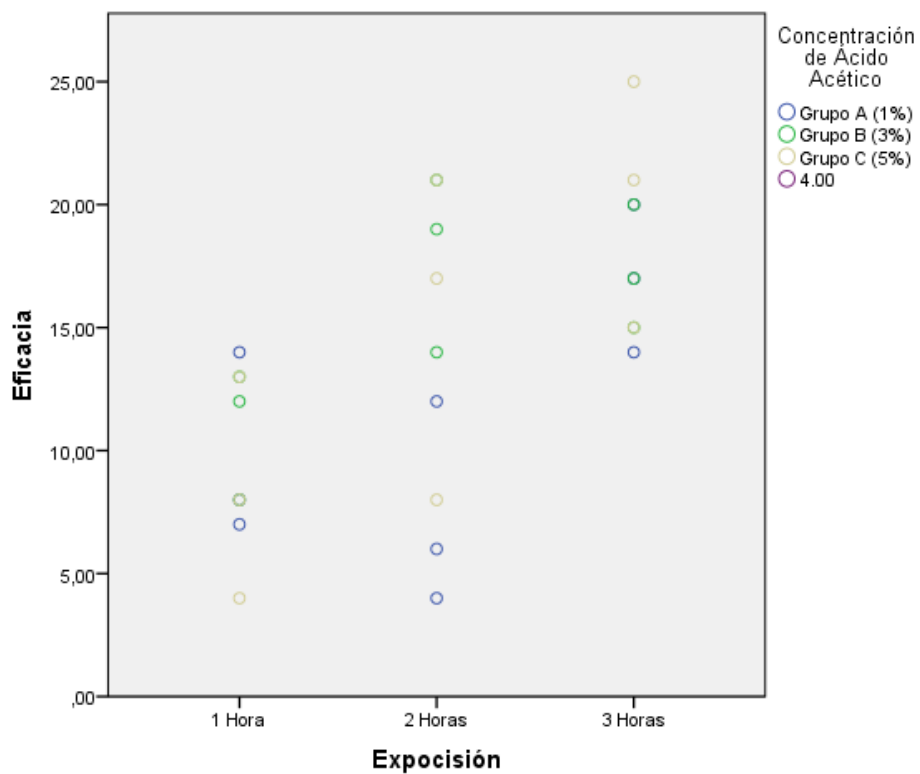
N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Características de metacercarias																									
Morfología normal (dos quistes, se evidencian los gránulos en su interior)																									
Sin primera capa																									
Incompleta																									
Con movimiento																									
Sin movimiento																									

## ANEXO 11:

Cuadros y gráficos estadísticos:

Estadísticas de muestras emparejadas					
		Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
Par 1	Concentración de Ácido Acético	2.0000	27	.83205	.16013
	Eficacia	13.8148	27	5.75150	1.10688
Par 2	Exposición	2.0000	27	.83205	.16013
	Eficacia	13.8148	27	5.75150	1.10688

Correlaciones de muestras emparejadas				
		N	Correlación	Sig.
Par 1	Concentración de Ácido Acético & Eficacia	27	.241	.226
Par 2	Exposición & Eficacia	27	.619	.001



Barras de error: 95% CI