

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA



ESCUELA DE POSGRADO



UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS

MENCIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS

TESIS

EFICACIA DEL CLOSANTEL EN EL CONTROL DE *Fasciola* *hepatica* EN OVINOS DE CAJAMARCA

Para optar el Grado Académico de:

DOCTOR EN CIENCIAS

Presentada por:

Mg. MARCELINO ADOLFO IRAZÁBAL LÉCTOR

Asesor:

Dr. TEÓFILO SEVERINO TORREL PAJARES

CAJAMARCA – PERÚ

2019

COPYRIGHT © 2019 by
MARCELINO ADOLFO IRAZÁBAL LÉCTOR
Todos los derechos reservados

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA



ESCUELA DE POSGRADO



UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS

MENCIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS

TESIS APROBADA:

EFICACIA DEL CLOSANTEL EN EL CONTROL DE *Fasciola* *hepatica* EN OVINOS DE CAJAMARCA

Para optar el Grado Académico de:

DOCTOR EN CIENCIAS

Presentada por:

Mg. MARCELINO ADOLFO IRAZÁBAL LÉCTOR

JURADO EVALUADOR

Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares
Asesor

Dr. Juan de Dios Rojas Moncada
Jurado Evaluador

Dr. Abel Melchor García Bazán
Jurado Evaluador

Dra. Cecilia Elizabeth Pajares Acosta
Jurado Evaluador

Cajamarca - Perú

2019



Universidad Nacional de Cajamarca
LICENCIADA CON RESOLUCIÓN DE CONSEJO DIRECTIVO N° 080-2018-SUNEDU/CD
Escuela de Posgrado
CAJAMARCA - PERU



PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

MENCIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS

Siendo las 16... horas, del día 20 de agosto del año dos mil diecinueve, reunidos en el Auditorio de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, el Jurado Evaluador presidido por Dr. ABEL MELCHOR GARCÍA BAZÁN, Dr. JUAN DE DIOS ROJAS MONCADA, Dra. CECILIA ELIZABETH PAJARES ACOSTA y en calidad de Asesor, el Dr. TEÓFILO SEVERINO TORREL PAJARES Actuando de conformidad con el Reglamento Interno de la Escuela de Posgrado y el Reglamento del Programa de Doctorado de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, se inició la SUSTENTACIÓN de la tesis titulada: **EFICACIA DEL CLOSANTEL EN EL CONTROL DE *Fasciola hepatica* EN OVINOS DE CAJAMARCA**; presentada por el **Mg. MARCELINO ADOLFO IRAZÁBAL LÉCTOR**

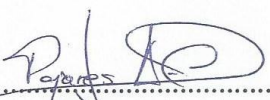
Realizada la exposición de la Tesis y absueltas las preguntas formuladas por el Jurado Evaluador, y luego de la deliberación, se acordó APROBAR..... con la calificación de Diecisiete (17) - "EXCELENTE"..... la mencionada Tesis; en tal virtud, el **Mg. MARCELINO ADOLFO IRAZÁBAL LÉCTOR**, está apto para recibir en ceremonia especial el Diploma que lo acredita como **DOCTOR EN CIENCIAS**, de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Mención **CIENCIAS VETERINARIAS**

Siendo las 17:30 horas del mismo día, se dio por concluido el acto.


.....
Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares
Asesor


.....
Dr. Abel Melchor García Bazán
Presidente Jurado Evaluador


.....
Dr. Juan De Dios Rojas Moncada
Jurado Evaluador


.....
Dra. Cecilia Elizabeth Pajares Acosta
Jurado Evaluador

DEDICATORIA

A mi Sra. Madre, quien desde el infinito sigue guiando mis pasos y a quien profeso mucho cariño.

AGRADECIMIENTO

A la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Cajamarca y Escuela de Posgrado de la misma Universidad por haber hecho posible la obtención del grado de doctor y lograr mi superación.

A mi Asesor, el Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares, por su asesoramiento en el presente trabajo de investigación.

Al Comité Científico por sus aportes.

Al M.V. Cristian Hobán Vergara, por su invaluable apoyo por la producción de metacercarias que hizo posible la infección de los ovinos.

A Luisa mi señora, a mis hijos Adolfo y Mercedes, quienes son mi constante motivación.

A mi hermana Mirtha por su constante apoyo.

A mi colega y compadre Clodomiro Bazauri Roncal por su indesmayable aliento.

ÍNDICE GENERAL

Dedicatoria.....	iv
Agradecimiento.....	v
Índice General	vi
Lista de Ilustraciones.....	vii
Tablas.....	viii
Fotografías.....	ix
Anexo.....	x
Lista de Abreviaturas.....	xi
Resumen.....	xii
Abstract.....	xiii
CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivos de la investigación	4
1.2 Objetivos específicos:.....	4
CAPÍTULO II	5
MARCO TEÓRICO	5
2.1 Antecedentes de la investigación	5
2.2 Bases teóricas.....	10

2.3 Resistencia a los antihelmínticos	19
2.4 Pruebas de diagnóstico de resistencia de <i>Fasciola hepática</i> a los antihelmínticos (Ueno y Gonçalves, 1998). 24	
CAPÍTULO III.....	26
DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS.....	26
3.1 Localización.....	26
3.2 Tipo de Investigación.....	27
3.3 Unidad de análisis, población y muestra	27
3.1 Tipo y descripción del diseño de contrastación	27
3.4 Técnicas de procesamiento y análisis de datos	33
CAPÍTULO IV.....	34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
CAPÍTULO V	37
CONCLUSIONES.....	37
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
ANEXO	46

LISTA DE ILUSTRACIONES. ANEXO 5

Cuadros

Cuadro 1. Recuento de huevos de <i>Fasciola hepatica</i> en ovinos del grupo control en la pre y pos dosificación con Closantel 10%.....	53
Cuadro 2. Recuento de huevos de <i>Fasciola hepatica</i> en ovinos del grupo tratado en la pre y pos dosificación con Closantel 10%.....	53
Cuadro 3. Recuento de <i>Fasciola hepatica</i> en ovinos del grupo control en el día 19 pos dosificación con Closantel 10%.....	53
Cuadro 4. Recuento de <i>Fasciola hepatica</i> en ovinos del grupo tratado en el día 19 pos dosificación con Closantel 10%.....	54
Cuadro 5. Registro de datos del grupo tratado en relación a peso y dosis de Closantel.....	54

TABLAS

Tabla 1.	Eficacia del Closantel en el control de <i>Fasciola hepatica</i> en ovinos evaluada mediante la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel en el día 16 pos dosificación. Cajamarca 2018.....	34
Tabla 2.	Eficacia del Closantel en el control de <i>Fasciola hepatica</i> en ovinos evaluada mediante la prueba por necropsia, día 19 post dosificación Cajamarca 2018.....	34

FOTOGRAFÍAS

Fig. 1. Dilución de heces para Hpg	47
Fig. 2. Homogenizando diluciones	47
Fig. 3. Observando metacercarias antes de la infección	47
Fig. 4. Proporcionando cápsula con metacercarias	47
Fig. 5. Administrando agua para pasar la cápsula	47
Fig. 6. Pesaje de ovinos pre dosificación.....	48
Fig. 7. Vista ventral de hígado de un testigo	48
Fig. 8. Vista ventral de hígado de un tratado	48
Fig. 9. Tesista realizando el corte hepático	48
Fig. 10. Fasciola recuperada después del tratamiento con agua caliente.	49
Fig. 11. Fasciolas recuperadas del hígado del testigo de arete n° 107.....	49
Fig. 12. Fasciolas recuperadas del hígado del testigo de arete n° 112.....	49
Fig. 13. Fasciolas recuperadas del hígado del testigo de arete n° 05.....	49

ANEXO

Anexo 1. Fotografías.....	47
Anexo 2. Inspección experimental de ovinos con metacercarias obtenidas invitro a partir de huevos de <i>Fasciola hepática</i> de bovinos del valle de Cajamarca por Cristian Hobán Vergara.....	50
Anexo 3. Dosificación de ovinos con closantel 10% en dosis de 10 mg/kg pv.....	51
Anexo 4. Obtención de <i>Fasciola hepática</i> adultos en hígados de ovinos mediante necropsia.....	52
Anexo 5. Cuadros.....	53
Anexo 6. Análisis estadístico	55

LISTA DE ABREVIATURAS

ADN:	Ácido desoxirribonucleico
ATP:	Adenosina trifosfato
FECRT:	Faecal Egg Count Reduction Test (Prueba de reducción del número de huevos)
°C:	Grado centígrado
cm:	Centímetro
ELISA:	Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Ensayo Inmunoenzimático)
FAO:	Food and Agriculture Organization (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación)
g:	Gramo
GGT:	Gamma glutamil tranpeptidasa
GOT:	Transaminasa glutámico - oxalacética
h:	Hora
hpg:	Huevos por gramo de heces
kg:	Kilogramo
l:	Litro
mg:	Miligramo
mL:	Mililitro
mm:	Milímetro
pH:	Grado de acidez o alcalinidad
p.v.:	Peso vivo
T.R.C.H.:	Test de Reducción del Conteo de Huevos
%:	Porcentaje

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar la eficacia del fasciolicida Closantel en el control de *Fasciola hepatica* adulta en ovinos de Cajamarca, mediante la Prueba coprológica o Test de Reducción del Conteo de Huevo y la Prueba Crítica por Necropsia, para lo cual se emplearon 10 ovinos, cinco en el grupo control y cinco en el tratado. La Prueba coprológica se realizó mediante la técnica de Sedimentación Natural Modificada por Rojas y Torrel. Todas las ovejas fueron infectadas experimentalmente con aproximadamente doscientas metacercarias cada una. La conformación de los grupos control y tratado se realizó a los 46 días pos infección, la sumatoria de huevos de *Fasciola hepatica* fue similar para cada grupo, solo los ovinos del grupo tratado recibieron una dosis de Closantel 10% de 10 mg/kg pv por vía oral. A los 16 días pos tratamiento se halló una sumatoria en el grupo control de 151 huevos y en el tratado de 02, lo que correspondió a un ovino; a los 19 días pos dosificación se realizó la necropsia de todos los animales que participaron en el experimento, encontrándose una sumatoria de 60 fasciolas adultas en los hígados de los que conformaron el grupo control y de 0 en los del grupo tratado. Se concluye que la eficacia del Closantel 10% en el control de la *Fasciola hepática* en ovinos, en el presente estudio en cuanto al Test de conteo de huevos fue del 98,7% y a la Prueba Crítica por Necropsia del 100%.

Palabras clave: Closantel, *Fasciola hepatica*, Test de Reducción de Conteo de Huevos, Prueba Crítica por Necropsia.

ABSTRACT

The objective of this research work was to determine the efficacy of the Closantel fasciolicide in the control of *Fasciola hepática* adult in sheep of Cajamarca, by means of the Coprological Test or Test of Reduction of the Egg Count and the Critical Test for Necropsy, for which they were used 10 sheep, five in the control group and five in the treaty. The coprological test was performed using the Natural Sedimentation technique Modified by Rojas and Torrel. All sheep were experimentally infected with approximately two hundred metacercariae each. The conformation of the control and treated groups was performed at 46 days post infection, the sum of *Fasciola hepatica* eggs was similar for each group, only the sheep of the treated group received a 10% Closantel dose of 10 mg / kg bw per orally. At 16 days after treatment, a sum was found in the control group of 151 eggs and in the treaty of 02, which corresponded to one sheep; At 19 days after dosing, the necropsy of all the animals that participated in the experiment was performed, with a sum of 60 adult fasciolas found in the livers of those that formed the control group and 0 in those of the treated group. It is concluded that the efficacy of Closantel 10% in the control of *Fasciola hepatica* in sheep, in the present study in the case of the Egg Count Test was 98.7% and the Critical Necropsy Test of 100%.

Keywords: Closantel, *Fasciola hepatica*, Egg Count Reduction Test, Critical Necropsy Test.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

A nivel del país existe una población de 9 523 200 ovinos, encontrándose en el Departamento de Cajamarca 275 532 cabezas, de los cuales el 89,2% son ovinos criollos, le sigue la raza Corriedale con el 4%, Hampshire Down 1,6%, Black Belly 1,1% y otras razas 4,1% respectivamente (INEI, 2012).

La Fasciolosis es una enfermedad parasitaria que se caracteriza por la inflamación del hígado y de los conductos biliares, con frecuencia de carácter crónico, cuyo agente causal es *Fasciola hepatica*, que afecta a numerosos mamíferos, tanto domésticos como silvestres y aun al hombre (Cordero *et al.*, 1999). Es considerada un parásito que causa una de las enfermedades parasitarias más importantes de los rumiantes domésticos, estimándose que un cuarto de la población total de bovinos y ovinos del mundo pastorean en áreas donde *F. hepatica* está presente y el medio ambiente es favorable para su mantenimiento y dispersión (Nari y Fiel, 2001). La epidemiología de la Fasciolosis depende de la presencia del caracol *Lymnaea*, condiciones idóneas de humedad y temperatura, factores topográficos y sistemas de pastoreo utilizados (Cordero *et al.*, 1999).

Estudios realizados en Perú, demuestran alta prevalencia de fasciolosis bovina; en Cajamarca 80,8% (Rojas y Palacios, 2009) y en Arequipa 68,2% (Ayaqui y Miranda, 2002).

Las pérdidas económicas se manifiestan en reducción de la producción de leche, carne y lana, decomisos de hígado, infecciones secundarias por bacterias, interferencias

en la fertilidad y gastos derivados en su tratamiento antihelmíntico; no obstante, es difícil de cuantificar (Cordero *et al.*, 1999). En el Perú, las pérdidas económicas anuales fueron registradas en no menos de 50 millones de dólares, estimada por la prevalencia de infección, por decomisos de hígados en mataderos y costos por tratamientos, entre otros (Espinoza *et al.*, 2010). En Cajamarca, las pérdidas se estiman en 230 mil dólares por decomisos de hígados en camales de la Región; de esto corresponde a bovinos el 77% (Rojas y Palacios, 2009).

En un área endémica como la de Cajamarca el uso de antihelmínticos se encuentra ampliamente difundida por los criadores de bovinos y ovinos. El objetivo del tratamiento es el de eliminar el agente causal de la enfermedad e interrumpir la excreción de los huevos con la materia fecal, para así prevenir la infección de los caracoles y la contaminación de las pasturas, de esta forma limitar el contacto entre el parásito y su huésped definitivo (Olaechea, 2004), por ello la elección de un fármaco, debe hacerse teniendo en cuenta, la eficacia del antiparasitario a usarse (Kassai, 2002; Olaechea, 2004).

En nuestro medio, los criadores utilizan una amplia variedad de fasciolicidas para controlar el parásito, los cuales se expenden con diferentes nombres comerciales y con diferente concentración, los mismos que, según los laboratorios de origen, tienen una alta eficacia, pero, por referencia de los Médicos Veterinarios de campo se sabe que algunos antiparasitarios poco o regular efecto tienen sobre el ganado; lo cual podría deberse al fenómeno de la resistencia antihelmíntica (Rojas *et al.*, 2013).

La resistencia antihelmíntica (RA), es esencialmente un cambio en la frecuencia de genes de una población de helmintos producida por la selección de un fármaco, debido al cual la dosis mínima recomendada para destruir un porcentaje determinado de la población por ejemplo el 95% deja de ser eficaz (Kassai, 2002). En el campo se

sospecha cuando un producto que antes era útil para el control, ya no demuestra el mismo efecto (Benavides, 2001), mencionado por FAO (2003). A la fecha se sabe que los helmintos que parasitan ovinos, caprinos, bovinos, etc. han desarrollado resistencia a todos los grupos antiparasitarios disponibles y a escala mundial; lo que está relacionado al empleo frecuente de antihelmínticos, infradosificaciones, pautas antiparasitarias, porcentaje de eficacia de los antiparasitarios, persistencia de los fármacos antiparasitarios, proporción de parásitos en refugio y genética (Botana *et al.*, 2002; Vara *et al.*, 2006).

Por lo que se hace necesario realizar estudios que nos permitan averiguar la eficacia de fasciolicidas comúnmente utilizados en el campo, como el Closantel en especies pocas veces tomadas en cuenta, como es el caso de los ovinos.

En bovinos, por primera vez se detecta resistencia de *Fasciola hepatica* al Triclabendazol en Holanda entre los años 1998 y 1999 (Moll *et al.*, 2000); en Cajamarca - Perú, este fenómeno es conocido en el 2006 (Rojas, 2007) y luego ampliado los estudios en años siguientes en otros predios (Rojas, 2012; Ortiz *et al.*, 2013).

Para verificar la eficacia del Closantel en ovinos infectados con *F. hepatica*, se requiere la utilización del Test de Reducción del Conteo de Huevos (TRCH o FECRT) y la prueba crítica (necropsia) como técnica más sensible para determinar la ocurrencia de resistencia de *F. hepatica* al Closantel.

1.1 Objetivos de la investigación

Objetivo general: Determinar la eficacia antihelmíntica al Closantel en el control de la Fasciolosis crónica en ovinos.

1.2 Objetivos específicos:

Determinar la eficacia clínica del Closantel en el control de la Fasciolosis crónica con infección artificial en ovinos del valle Cajamarca, mediante la prueba coprológica por el test de reducción del conteo de huevos (FECRT).

Determinar la eficacia absoluta del Closantel en el control de la Fasciolosis crónica por infección artificial en ovinos, mediante la prueba crítica por necropsia.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

Closantel, un compuesto antiparasitario de salicilanilida, se probó en cabras nativas de Korea infectadas con *Fasciola hepatica*. A los animales se les administró Closantel una sola vez por vía oral a una dosis de 10 mg/kg de peso corporal. La eficacia se controló semanalmente mediante examen fecal de todos los animales infectados comenzando la segunda semana después del tratamiento y continuando durante 3 semanas. Closantel provocó 80,3, 97,8 y 92,7% de eficacia en cabras con Fasciolosis naturalmente adquirida en la segunda, tercera y cuarta semana después del tratamiento, respectivamente. Se obtuvo una eficacia del 100% a las 18 semanas después de la infección (Lee *et al.*, 1996).

Closantel (Flukiver TM, Janssen Pharmaceutica, Beerse, Bélgica: N-5-cloro-4 - [(-chlorophenyl) cyanomethyl] -2-methylphenyl-2 hydroxy-3-5-diyodobenzamide) es un compuesto antiparasitario perteneciente al grupo de las salicilanilidas que ha sido eficaz contra varias especies de nematodos y trematodos que incluyen *Fasciola hepatica*, *F. gigantica* y *Haemonchus spp.* en rumiantes (Van den Bossche *et al.*, 1979).

Se informó que Closantel tiene 99,5 y 99,99% de efectividad contra la fase adulta de *F. hepatica* y *F. gigantica* en ovinos, cuando se aplica a una dosis única de 10 mg/kg de peso corporal (PC) (Guerrero, 1984) y 100% contra larvas de *Fasciola magna* en ovejas a una dosis de 20 mg/kg (Stromberg *et al.*, 1984).

Corderos fueron infectados con aislados de *Fasciola hepatica*, se trataron con Closantel por vía oral o subcutánea con 10 mg/kg a las 16 semanas después de la infección. Los trematodos adultos se recuperaron del hígado de animales individualmente a las 12 h, 24 h, o 36 h después del tratamiento. Las fasciolas fueron procesadas para análisis histopatológico. En general, los cambios degenerativos en los tejidos reproductivos y somáticos fueron progresivos, y fueron más marcados en fasciolas expuestas a Closantel in vivo durante 36 h. Sin embargo, trematodos provenientes de 12 horas de tratamiento por vía subcutánea, mostraron un marcado deterioro de los testículos, posiblemente porque una porción de la dosis se administró por vía intravenosa. Sin embargo, huevos intactos fueron vistos en el útero de trematodos expuestos al Closantel durante más tiempo (ya sea por vía subcutánea u oralmente). El efecto más notable inducido por Closantel en duelas de huéspedes tratados fue el daño progresivo al sincitio tegumental. Mientras que las duelas de los hospedadores tratados con 24 h mostraron un daño relativamente menor en áreas limitadas del sincitio (Scarcella *et al.*, 2015).

En el Norte de Irlanda, en 13 explotaciones de ovinos en el año 2011, tres grupos de 20 animales de cada granja, para evaluar la eficacia de Triclabendazol, Nitroxinil y Closantel mediante el test de reducción del conteo de huevos (FECRT) y coproantígeno ELISA. En los resultados mediante el FECRT al día 21 post dosificación indican la presencia de resistencia de *F. hepatica* al Triclabendazol y altamente significativo en la reducción de huevos por parte del Nitroxinil y Closantel. Indicando que la resistencia del trematodo avanza (Hanna *et al.*, 2015).

En el suroeste de Suecia, en tres rebaños de ganado vacuno de carne infectados naturalmente con *F. hepatica*, mediante las pruebas de reducción de recuento de huevos fecales (FEC) y exámenes de ELISA coproantígenos se evaluó a un antihelmíntico combinado Closantel e Ivermectina (Closamectin Pour On) con una dosis mínima de 20 mg/kg de peso corporal. Los resultados fueron el 72%, 97% y 157%; en los rebaños A, B y C, respectivamente. Del mismo modo se encontró coproantígenos en los animales de los tres rebaños. El fracaso del tratamiento con Closantel fue confirmada en dos de las granjas, es decir la presencia de resistencia antihelmíntica en los rebaños donde la eficacia resultó el 72% y -157% (Novobilský y Höglund, 2015).

En Argentina, en un rebaño de bovinos en la provincia de Neuquén, en el año 2010, se llevó a cabo un ensayo controlado para confirmar y definir el grado de resistencia de *F. hepatica* al Triclabendazol. En un ensayo clínico, la producción de huevos se controló en los días 14 y 21 post dosificación y en el suero enzimas gamma-glutamyl transpeptidasa (GGT) y transaminasa glutámico-oxalacética (GOT) en los días 0 y 21 post dosificación en 36 terneros tratados con TCBZ y Closantel. Los resultados mostraron una reducción del 100% en la producción de huevos frente al Closantel en los días 14 y 21 post dosificación, en tanto que el Triclabendazol no tuvo efecto contra *Fasciola*, aun cuando se aplicó a doble dosis (24 mg/kg de peso corporal). Lo cual es altamente indicativo de que la resistencia de *F. hepatica* contra TCBZ está presente en el lugar de estudio. La GGT y los niveles de GOT disminuyeron en el grupo tratado con Closantel como un resultado del tratamiento a los 21 días después de la dosificación (Olaechea *et al.*, 2011).

En Cajamarca, Perú, 2007, se reportó por primera vez resistencia de *F. hepatica* al Triclabendazol en bovinos del fundo “El Cortijo”, mediante el test de reducción del conteo de huevos por gramo de heces (FECRT) con una eficacia de 3,1% (Rojas, 2007).

En otros estudios en cuatro distritos de Cajamarca, mediante el test de reducción del conteo de huevos por gramo de heces (FECRT), se determinó porcentajes de eficacia de 3% y 75% en el predio “Tartar-distrito Baños del Inca”, 77% y 25% en “Santa Elvira-distrito San Juan”, 6% y 0% en “San Luis-distrito Gregorio Pita”, 81% y 85% en “Quebrada Honda–distrito Tumbadén”; para Triclabendazol y Closantel; respectivamente. En tanto, indican que Nitroxinil y Clorsulón en los cuatro distritos investigados alcanzaron altos porcentajes de eficacia de 100% y 98% en el predio “Tartar-distrito Baños del Inca”, 100% y 100% en “Santa Elvira-distrito San Juan”; 100% y 100% en el predio “San Luis-distrito Gregorio Pita”, 97% y 98% en “Quebrada Honda–distrito Tumbadén”, respectivamente (Rojas *et al.*, 2013).

Del mismo modo, en un estudio realizado mediante la prueba de reducción del conteo de huevos en heces en un grupo de 11 bovinos en Cajamarca, se evaluó al Triclabendazol 10% a una dosis de 12mg/kg de peso corporal, se obtuvo una eficacia de 31,05% y 13,63%; al día 14 y 30 post dosificación, respectivamente. Luego, este fenómeno de resistencia fue confirmado en ovinos mediante la prueba controlada que se llevó a cabo en Argentina, para lo cual se utilizó 11 ovinos infectados artificialmente con 200 metacercarias obtenidas *in vitro* procedentes de un bovino que tuvo un hpg más elevado de *F. hepatica* resistente del grupo experimental evaluado. Al día 106 post infección, aleatoriamente se formó dos grupos, uno de 5 ovinos (grupo

control que no fueron dosificados) y un grupo de 6 ovinos que fueron dosificados con Triclabendazol 10% en dosis de 10 mg/kg de peso corporal; el día 14 post dosificación fueron sacrificados y necropsiados, encontrando fasciolas adultas en hígados de los animales del grupo control y grupo tratado; dando como resultado una eficacia de 25,2% (Ortiz *et al.*, 2012).

Se estudió el efecto de Closantel y algunas variables biológicas y productivas en ovinos bajo una exposición continua a *Fasciola hepatica* en Chile. Se seleccionaron treinta ovejas Merino Precoz de cuatro meses sin fasciolosis. Los animales se mantuvieron durante nueve meses en pastos naturales infectados con metacercarias. Los ovinos se dividieron en dos grupos de 15 animales cada uno: el grupo experimental fue tratado con Closante en dosis del 5 mg/kg cada tres meses por 3 veces y el grupo control no fue tratado. Al examen post-mortem del hígado de los animales del grupo tratado se encontró cinco parásitos adultos en una oveja, correspondiendo al 7,1% de los animales tratados, es decir la efectividad de Closantel contra formas maduras en esta dosificación fue del 92,9% (Montes *et al.*, 1987).

En un estudio realizado en 60 bovinos del valle de Cajamarca entre mayo del 2016 y noviembre del 2017, con el objetivo de determinar la eficacia del Closantel al 10% a la dosis de 10 mg/kg pv en el control de la infección natural por *Fasciola hepatica*, mediante el test de reducción del conteo de huevos (FECRT), se determinó que la eficacia fue del 99,4% en promedio y mediante infección experimental en conejos se obtuvo el 100% de eficacia con la técnica de necropsia (Rojas, 2017).

2.2 Bases teóricas

Fasciolosis

La Fasciolosis es una enfermedad parasitaria que es ocasionada por la presencia y acción de *Fasciola hepatica* en el parénquima y conductos biliares de bovinos, ovinos, caprinos, cerdos, equinos, conejos, venados, hombre y otros animales silvestres. Es un proceso crónico que ocasiona trastornos digestivos y de la nutrición (Cordero *et al.*, 1999; Adams, 2003; Quiroz, 2011).

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

Las fasciolas adultas producen los huevos que pasan al duodeno con la bilis y salen del huésped con las heces. Es necesario un medio hídrico para continuar su desarrollo, como charcos potreros inundables, canales de curso lento; etc. y preferentemente estar fuera de las heces (Urquhart *et al.*, 2001; Cordero *et al.*, 1999). El tiempo de desarrollo y nacimiento del miracidio depende en gran parte de la temperatura, a 26°C eclosionan en nueve días, abandona el huevo por el opérculo, para su posterior desarrollo es necesario un huésped intermediario ya que no puede sobrevivir más de 24 horas en vida libre. La acción fototrópica pasiva de la mancha ocular atrae al miracidio a la

superficie del agua; nada hasta que llega a un caracol del género *Lymnaea* (Quiroz, 2011). Los huevos inhiben su desarrollo por debajo de 10°C y por encima de 30°C y mueren cuando su humedad superficial desaparece (Nari y Fiel, 2001).

Los miracidios pierden los cilios cuando se introducen en el molusco y se transforman en esporocistos. Estos, constituyen el primer estado larvario de *F. hepatica* y se encuentran en la región periesofágica del caracol. A los 15 días ya existe una generación de redias (segundo estadio larvario intramolusco), se alimentan de los tejidos del hepatopáncreas. Las redias dan lugar a las cercarías generalmente entre 8 a 10 semanas. Las cercarías se enquistan sobre hierbas y plantas acuáticas o también en el agua, pierden la cola y se rodean de una cubierta resistente, dando lugar a la metacercaria, que es la forma infectante para los hospedaderos definitivos (Cordero *et al.*, 1999).

Los rumiantes se infectan durante el pastoreo, siendo posible también en estabulación, mediante el agua de bebida o por la ingesta de henos o ensilados mal procesados. El desenquistamiento de la metacercaria ocurre en dos fases. La primera fase o de activación se da en el rumen y es activada por una alta concentración de dióxido de carbono, ambiente reductor y temperatura de 39°C; la segunda fase o emergencia se desarrolla en el intestino delgado, por debajo de la desembocadura del conducto colédoco y es desencadenada por la bilis y el propio parásito. Tras el desenquistamiento, las fasciolas jóvenes atraviesan la pared intestinal, pasan a la cavidad peritoneal y desde allí alcanzan el hígado. A las 90 horas comienzan la penetración de la cápsula de Glisson, en este momento, miden de 1-2 mm. Luego emigran por el parénquima hepático asentándose finalmente en los conductos biliares a partir de los 40 días, donde

alcanzan la madures sexual. Los primeros huevos aparecen en las heces del hospedador a partir de 55 días post infección (Cordero *et al.*, 1999).

La Fasciolosis es una enfermedad ampliamente distribuida en el mundo. Su frecuencia varía de una región a otra y entre los animales de un mismo rebaño según la edad (Quiroz, 2011). En el Perú abarca todos los pisos altitudinales, siendo más frecuente en la región quechua (Rojas, 1990).

La Fasciolosis hepática aguda y crónica es producida por diferentes estadios de *Fasciola hepatica* en el hígado. La forma aguda se puede presentar a las 5-6 semanas post infección por la ingesta de gran cantidad de metacercarias ocurriendo una invasión rápida de fasciolas jóvenes en el hígado; lo cual causa una destrucción del parénquima hepático que da lugar a una insuficiencia hepática aguda, hepatitis traumática hemorrágica aguda, hemorragia de la cavidad peritoneal, presencia de exudado serofibrinoso y disminución en la síntesis de albúmina. Las fasciolas inmaduras se alimentan de tejido hepático pero accidentalmente pueden ingerir una pequeña cantidad de sangre lo que produce una anemia durante las 4 a 5 semanas de infestación. La Fasciolosis crónica se desarrolla lentamente debida a la actividad de las fasciolas adultas en los conductos biliares, estas producen colangitis hiperplástica, obstrucción biliar, destrucción del tejido hepático, fibrosis hepática y anemia (Quiroz, 2011).

El síndrome clínico más frecuente es la forma crónica; y afecta principalmente a los animales jóvenes. Los signos clínicos más frecuentes son pérdida de peso, anorexia y palidez de las mucosas (Cordero *et al.*, 1999). Aparición de varios animales jóvenes muertos en el rebaño en posición de cúbito pectoral, los ollares apoyados sobre el suelo. Dolor a la palpación del

hipocondrio derecho, distensión abdominal, problemas digestivos de tipo indigestión, algunas veces con diarrea; ictericia, atonía ruminal, diarrea, estreñimiento con apetito variable, disminución de la producción de leche, reducción del proceso reproductivo (Quiroz, 2011). Los animales afectados se muestran poco vivaces a veces letárgicos, el edema submandibular y la ascitis no son características constantes (Cordero *et al.*, 1999).

El diagnóstico se puede realizar por observación de la signología, la utilización de técnicas específicas (biopatológicas, parasitológicas e inmunológicas) y los hallazgos de necropsia (Cordero *et al.*, 1999). La técnica más utilizada es la parasitológica, utilizando el método de sedimentación, haciendo el recuento de huevos en la materia fecal (Nari y Fiel, 2001; Kassai, 2002). Los métodos de sedimentación se basan en la mayor densidad de los huevos de los trematodos que los detritus que se hallan en las heces, lo que permite concentrarlos en el sedimento tras repetidos lavados. La adición de un colorante de contraste al sedimento permite destacar el color amarillo dorado de los huevos (Cordero *et al.*, 1999). La técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel tiene una sensibilidad de 93%, especificidad de 91% (Rojas *et al.*, 2013).

Control

La erradicación de *F. hepatica* no es posible en el momento, pero sí es posible lograr un control de las poblaciones del parásito. Los programas de control además de la utilización de drogas antihelmínticas, está basado en el manejo como medidas complementarias, destinadas a prever o limitar el contacto entre el parásito y su huésped definitivo o intermediario. Una estrategia

integral de control debe tender a reducir el número de *F. hepatica* en el huésped definitivo, para disminuir la contaminación de los caracoles y evitar la coincidencia huésped-parásito utilizando medidas de manejo (Nari y Fiel, 2001).

La forma más importante y generalizada de profilaxis en todo el mundo es la aplicación estratégica de fasciolicidas que eliminan los parásitos de los animales infectados y que también contribuye a la reducción de la contaminación de los pastos. El drenaje de las zonas encharcadas donde existen caracoles *Lymnea* puede ser el método más eficaz a largo plazo. La construcción de bebederos adecuados alejaría a los animales de las zonas húmedas. La rotación de pastos o de hospedadores con el fin de reducir el riesgo de infección (Cordero *et al.*, 1999).

El tratamiento para la Fasciolosis hepática tiene el objetivo de destruir a las fasciolas inmaduras en migración y a las fasciolas adultas que se localizan en los conductos biliares. Para este fin hay distintos productos como Clorsulón, Closantel, Nitroxinil, Triclabendazol, Rafoxanide entre otros (Merck y CO, 1988). La elección del fármaco debe basarse en el conocimiento de su eficacia frente a las diferentes fases del desarrollo de *F. hepatica*; y la epidemiología local, que nos permite conocer cuando es mayor el riesgo de infección (Cordero *et al.*, 1999).

Closantel, pertenece a la familia salicilanilida, su mecanismo de acción consiste en bloquear las rutas energéticas en especial el de desacoplar la fosforilación oxidativa por aumentar la permeabilidad de las mitocondrias (Adams, 2003), causando graves trastornos en el metabolismo del parásito, que muere en uno o dos días. En las fasciolas sobrevivientes maduras o inmaduras

produce un efecto atrófico que imposibilita sus funciones de crecimiento y reproducción. El fármaco daña el tegumento, causando erosiones en las fasciolas adultas. Con una sola dosis 10 mg/kg, vía oral, su eficacia es de 100% contra *Fasciola hepatica* y *F. magna* maduras, y de 85% contra inmaduras; es ineficaz contra *Paramphistomum sp* (Basso *et al.*, 1987; Sumano y Ocampo, 1997; Adams, 2003).

El Closantel se une a las proteínas del plasma, principalmente a la albumina, y tiene una prolongada vida media terminal de 14,5 días. Aumenta la eficacia contra *F. hepatica* cuando las formas recién maduras entran en el conducto biliar. Es excretado por las heces en un 80% y menos del 0,5% en la orina (Adams, 2003). Tiene una vida media de dos a tres semanas. Se detecta en plasma hasta 90 días pos administración (Sumano y Ocampo, 1997). El periodo mínimo de retiro es de 30 días tanto para ordeño o sacrificio de los animales para consumo humano (Sumano, 1996).

En bovinos y ovinos la dosis terapéutica es de 10 a 15 mg/kg, vía oral (Sumano y Ocampo, 2006; Basso *et al.*, 1987; Adams, 2003). No afecta los parámetros reproductivos (Sumano y Ocampo, 1997). Puede administrarse a hembras en cualquier etapa de gestación y animales muy debilitado (Sumano, 1996). Con una dosis 5 veces mayor que la terapéutica se observan signos de toxicidad.

El antihelmíntico salicilanilida Closantel interfiere con la síntesis del ATP en la *Fasciola hepatica*, posiblemente al actuar como un protonóforo y por lo tanto desacoplando la fosforilación oxidativa mitocondrial (Van den Bossche *et al.*, 1985).

Nuestros datos sugieren que la interferencia del Closantel con mecanismos que regulan el pH intracelular de los tremátodos, puede explicar, en parte, su acción antiparasitaria en ciertos tremátodos (Pax y Bennett, 1989).

Se postula que Closantel, uno de los antihelmínticos perteneciente al grupo de las salicilanilidas, actúa principalmente como desacoplador de la fosforilación oxidativa en trematodos, aunque el efecto inicial puede estar en la glucólisis (Fairweather y Boray, 1999; Kane, *et al.*, 1980; Rohrer, *et al.*, 1986; Van den Bossche, *et al.*, 1979).

Closantel causa una rápida parálisis espástica de la *F. hepatica*, lo cual puede reflejar cambios en los niveles de iones de calcio dentro de las células musculares, en lugar de la interrupción del metabolismo energético (Fairweather, 1997; Fairweather y Boray, 1999; Skuce y Fairweather, 1990). Este efecto paralizante de Closantel en duelas puede ser la acción más significativa, ya que puede causar desprendimiento de la fuente de alimento (vasos sanguíneos en la pared del conducto biliar) y probablemente inhibe la acción de bombeo de los músculos faríngeos, ambos efectos conducen al hambre, estrés metabólico y movilización forzada de las reservas de glucógeno en el parénquima (Fairweather y Boray, 1999).

Existe evidencia convincente de que las salicilanilidas provocan un desacoplamiento de la fosforilación oxidativa en la fasciola por los fenoles. Los cambios metabólicos observados tanto en vivo como en los estudios in vitro son característicos de tal acción. Incluyen una estimulación del consumo de oxígeno, aumento de la captación de glucosa, disminución del contenido de glucógeno, cambios en productos intermedios respiratorios, aumento en la relación

oxaloacetato:malato, aumentado la formación del producto final y disminución de la síntesis de ATP (Boray, 1986).

Sobre las salicilanilidas se sabe que un número de cambios morfológicos evidentes en el sincitio y subyacentemente en los cuerpos celulares son compatibles con un tipo de desacoplamiento de inhibición metabólica, concretamente deformación de mitocondrias, vesiculación y reducción del complejo de Golgi, dilatación del retículo endoplásmico granular (REG) cisterna y reducción en el número de cuerpos secretores (Verheyen *et al.*, 1980; Skuce, 1987; Skuce y Fairweather, 1990).

Se describen los modos de acción de fasciolicidas,. Closantel y otras salicilanilidas interfieren con el metabolismo energético al desacoplar la fosforilación oxidativa en la Fasciola. Se cree que otros fasciolicidas tienen una acción metabólica sobre los fenoles halogenados (a través del desacoplamiento) y Clorsulón (a través de la inhibición de la glucólisis), pero la evidencia directa es deficiente. Los benzimidazoles (en particular, Triclabendazol) se unen a la tubulina de la fasciola y destruyen los procesos basados en microtúbulos. Los diafenetidas inhiben la síntesis de proteínas en la fasciola. Otras potenciales acciones pueden contribuir en general a la eficacia de la droga. En particular, una cantidad de fasciolicidas pertenecientes al grupo de salicilanilidas, fenoles, dianfenetidas inducen a una parálisis rápida del trematodo, por lo que su acción puede tener una base neuromuscular, aunque las acciones permanecen mal definidas. Se ha detectado resistencia a salicilanilidas y Triclabendazol en el campo, aunque la resistencia a los medicamentos no parece ser un problema importante todavía. Estrategias para minimizar el desarrollo de resistencia incluye el uso de combinaciones de drogas sinérgicas, junto con el diseño de

programas de gestión y la búsqueda de alternativas a los medicamentos, en particular vacunas.

Tabla I. Antihelmínticos con actividad contra *F. hepatica*

Fasciolicida	Dosis mg/kg		Actividad contra <i>F. hepatica</i>			
	Ovinos	Bovinos	1-4 semanas	5-8 semanas	Adultos	Utilizable en lactación
Salicilanilidas:						
Oxiclonaxida	15	10	-	+/-	+	+
Brotianida	5.6	ND	-	+/-	+	-
Rafoxanida	7.5	7.5	-	+/-	+	
Closantel	10	5	-	+/-	+	-
Bianilidadas						
Dianfenetida	105	ND	+	+	+/-	
Bencimidazoles						
Albendazol	7.5	10	-	-	+	+
Netobimin	20	20	-	-	+	+
Triclabendazol	10	12	+	+	+	-
Sulfamidas						
Clorsulon	NA	2 s.c.	-	+/-	+	+
Nitrofenoles						
Nitroxinil	10 s.c.	10 s.c.	-	+/-	+	-
Bifenoles						
tionol sulfóxido	60	60	-	-	+	+
Fenoxialcanos						
Dianfenetida	0-120	ND	+/-	+	+	-

ND: no disponible

fuelle: Becerra 2001

s.c: Subcutánea.

Tabla II
Eficacia de fármacos contra *Fasciola hepática* en ovinos a dosis recomendadas

Fármaco	Edad de fasciola en semanas													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Bithionol, Hexaclorofeno, Oxyclozanida, Niclofolan, Albendazol Clorsulon+Ivermectin (inyección) Clorsulon (oral)										50-70%			80-99%	
Nitroxynil, Closantel									50-90%				91-99%	
Rafoxanida						50-90%							91-99%	
Triclabendazol				90-99%									99-100%	
Diafenetida					100-91%								80-50%	

(Fairweather y Boray, 1999).

2.3 Resistencia a los antihelmínticos

El fenómeno de la resistencia a los compuestos antihelmínticos constituye un problema de alcance mundial involucrando a todas aquellas regiones que permiten el desarrollo de la ganadería bajo pastoreo. En forma periódica, se publican informaciones de campo, aspectos moleculares y genéticos de la resistencia y a su vez, se sugieren medidas y acciones tendientes a disminuir el riesgo en aquellos lugares en donde todavía el problema no se ha instalado de acuerdo con los métodos de diagnóstico disponibles en la práctica (Steffan *et al.*, 2014).

La resistencia a los antihelmínticos, se define como un aumento significativo en la capacidad que tiene una fracción de una población de vermes para tolerar dosis tóxicas de sustancias químicas que son letales para otras poblaciones de la misma especie, como por ejemplo menor al 95% de efectividad; siendo la heredabilidad de la resistencia la característica más importante de este fenómeno (Kassai, 2002; Márquez, 2007).

La resistencia puede ser intrínseca o adquirida. Un parásito que es naturalmente o innatamente insensible al efecto de una droga es intrínsecamente resistente. Este fenómeno puede deberse a la falta del receptor o a que la droga no puede entrar a la célula y así llegar a su sitio de acción. Por ejemplo, los trematodes y cestodes son intrínsecamente resistentes a la acción de los fármacos endectocidas. La resistencia adquirida se da cuando poblaciones que son inicialmente susceptibles a la acción de un fármaco, dejan de serlo tras la ocurrencia de cambios genéticos heredables de generación en generación. Es

percibida cuando una droga que es inicialmente efectiva para un fin terapéutico determinado deja de serlo (Márquez, 2007).

Los mecanismos que operan estas modificaciones genéticas en resistencia adquirida son:

- **Mutación**, donde el ADN de una célula susceptible sufre una alteración que induce modificaciones en la producción o función normal de un componente celular, que es crucial para que la droga produzca su efecto farmacológico; la mutación va siempre acompañada de selección hacia la población mutante o resistente, entonces las generaciones próximas serán hijas de las resistentes;
- **Amplificación génica**, existe una multiplicación exagerada de ciertos genes que inducen a la célula a sintetizar cantidades elevadas de un producto celular normal, de relevancia en la acción de una droga, lo que las convierte en resistentes a concentraciones de dicha droga que son altamente efectivas bajo condiciones normales;
- **Transferencia génica**, un organismo susceptible adquiere de otro, material genético que induce resistencia hacia el efecto de una droga o grupo de drogas.

Clasificación. Dependiendo, si la resistencia ocurre para una o más drogas de igual o diferente modo de acción se presentan los siguientes tipos de resistencia:

- **Resistencia paralela.** Se presenta cuando los individuos de una población resistente a una sustancia química son también resistentes a otro compuesto que tiene similar mecanismo de acción.

- **Resistencia cruzada.** Se presenta cuando involucra sustancias químicas de diferentes mecanismos de acción.
- **Resistencia múltiple.** Se presenta cuando los parásitos son resistentes a más de dos grupos de antihelmínticos diferentes (Márquez, 2007).

Aspectos bioquímicos de la resistencia. Las modificaciones genéticas que confieren resistencia se traducen en diferentes modificaciones bioquímico-moleculares que determinan la disminución del efecto de un fármaco en la célula u organismo resistente. Estas alteraciones moleculares representan las bases farmacológicas por el cual se genera el fenómeno de resistencia, y se pueden resumir tal como sigue:

- Cambios celulares estructurales y/o funcionales que modifican la captación (llegada) de una droga al sitio de acción o incrementan su metabolismo/inactivación y/o eflujo celular, afectando la capacidad de la droga para acumularse intracelularmente;
- Alteración de sistemas enzimáticos necesarios para que se produzca el efecto farmacológico de la droga;
- Alteración de los receptores celulares, por disminución en el número o en su afinidad, lo cual afecta la unión del fármaco con su sitio de acción y, por lo tanto, su efecto farmacológico;
- Variaciones en diferentes procesos celulares que compensan o contrarrestan el efecto inducido por un fármaco.

Desarrollo de la resistencia. Para minimizar las consecuencias de los efectos devastadores de los parásitos y sumado al costo relativamente bajo, los compuestos antiparasitarios comenzaron a utilizarse rutinariamente en forma

sistemática y a cortos intervalos (Anziani y Fiel, 2004). Con esta metodología empírica y simplificada de control, se produce una “alta presión de selección” donde la progenie de los parásitos sobrevivientes a los tratamientos genéticamente resistentes comienza a ser paulatina y proporcionalmente más importantes y así, conformar la mayor proporción de parásitos resistentes en las poblaciones en “refugio” presentes en el medio ambiente, ej. deposiciones fecales, pastura y suelo (Steffan *et al.*, 2014).

El surgimiento y la velocidad de desarrollo de la resistencia es un fenómeno complejo que involucra factores internos (propios del parásito) y externos controlados por el ser humano. Dentro de los primeros se encuentran las características genéticas de los parásitos como el tipo de heredabilidad, dominancia, nivel de resistencia, habilidad biológica, potencial biótico, intervalo entre generaciones, estado expuesto a la droga y la proporción de la población en refugio.

Los factores externos u operacionales tienen que ver con el mecanismo de acción de las drogas, su grado de eficacia, frecuencia de tratamientos, dosis, rotaciones y formas de manejo de los animales (Márquez, 2007).

Detección de la resistencia antihelmíntica. Cualquiera sea el método utilizado para la detección de resistencia antihelmíntica, la correcta anamnesis se impone como un elemento imprescindible para establecer la posibilidad cierta de resistencia. Es primordial la información acerca de categoría animal, manejo del pastoreo, plan sanitario, pero sobre todo resulta fundamental el historial de desparasitaciones de los últimos 2-3 años, con un detalle minucioso de la frecuencia de uso, los principios activos, el nombre comercial y las dosis

utilizadas (Fiel *et al.*, 2011). Se sospecha que en un rebaño hay resistencia cuando la respuesta clínica después de un tratamiento es menor al 95% de efectividad; y antes de que la falla de un antihelmíntico sea detectada por los signos clínicos, la selección para resistencia ya ha ocurrido. Existen varias técnicas para detectar resistencia, pero la prueba de reducción de huevos fecales, es la más común, la cual provee una estimación de la eficacia antihelmíntica mediante la comparación de recuentos de huevos en heces de animales antes y después de los tratamientos (Márquez, 2007). Sin dudas el más simple, efectivo, económico y práctico de todas las técnicas de diagnóstico es el Test de Reducción del Conteo de Huevos (T.R.C.H.) en materia fecal, puede ser utilizado en rumiantes, equinos y porcinos, con todo tipo de antihelmínticos y con todas las especies de nematodos cuyos huevos sean eliminados con la materia fecal. Provee una estimación de la eficacia antihelmíntica clínica ante infecciones naturales a través de la comparación de los conteos de huevos por gramo de materia fecal en animales, antes y después del tratamiento antihelmíntico (Fiel *et al.*, 2011).

Control de la resistencia. El control de la resistencia, para retardar su inicio o para disminuir su velocidad, está desarrollado con los métodos diseñados para el control de helmintos, los cuales están siendo enfocados cada vez más en mantener bajos los niveles de la población de parásitos que no afecten la producción de los rumiantes, y menos en eliminar los parásitos adultos de los huéspedes, siendo la adopción de medidas que reduzcan la frecuencia de los tratamientos el eje central de las recomendaciones.

A pesar de los importantes avances alcanzados en la caracterización molecular y genética poblacional de la resistencia de parásitos a la acción de

drogas antihelmínticas, tenemos aún muchas dificultades para proponer soluciones concretas, tendientes a frenar el desarrollo del fenómeno de resistencia en condiciones prácticas. En general se pueden hacer las siguientes recomendaciones: Rotación de antihelmínticos con mecanismos de acción diferentes a intervalos de uno a dos años, utilización mínima de antihelmínticos dosificación exacta de animales basada en el peso individual, tratamiento inmediato de animales recientemente adquiridos, fomentar la cría de animales que han resultado ser genéticamente resistentes, manejo del pastoreo, diagnóstico adecuado, control de calidad del fármaco, medidas de cuarentena, educar a los médicos veterinarios de campo y ganaderos sobre la resistencia frente a los antihelmínticos y su control (Márquez, 2007; Steffan *et al.*, 2014).

2.4 Pruebas de diagnóstico de resistencia de *Fasciola hepatica* a los antihelmínticos (Ueno y Gonçalves, 1998).

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

Prueba crítica:

Después de aproximadamente 60 días de haber sido confinados los animales, se espera que las últimas metacercarias de *F. hepatica* que pudieran haber ingresado ya pasaron a ser adultas y empiecen a poner huevos. Siete a diez

días después, se aplica el antihelmíntico a los animales del grupo a tratar, previamente debe de registrarse el hpg pre dosificación.

Entre 5-7 días pos dosificación, realizar el hpg diariamente hasta un día de la necropsia. Este control coprológico tiene la finalidad de observar la fluctuación de la producción de huevos. Luego, hacer la necropsia para detectar los parásitos que pueden encontrarse en el hígado. Esto se hace para comprobar la acción antihelmíntica sobre las formas adultas y ver su acción letal sobre los parásitos.

Prueba coprológica

Para realizar esta prueba en Fasciolosis se recomienda un número mayor de animales respecto a la prueba crítica. Se debe usar entre 6 y 7 ovinos en un área contaminada para la aplicación del antihelmíntico y el mismo número como grupo control. Para la conformación de los grupos se seleccionará los animales cuya suma de huevos por gramo de heces (hpg) determinados por los métodos de sedimentación, sean similares.

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

La evaluación de la prueba coprológica es determinada por la comparación del número de huevos encontrados en las heces de los animales tratados, antes de la aplicación antihelmíntica y después de 2 semanas de la dosificación.

CAPÍTULO III

DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS

3.1 Localización

La investigación se realizó en la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional de Cajamarca, en las instalaciones de la Facultad de Ciencias Veterinarias, las pruebas coproparasitoscópicas en el Laboratorio de Parasitología Veterinaria, el sacrificio y necropsia en el Camal Municipal de la ciudad y el análisis de hígado en el Laboratorio de Inmunología de la Facultad de Ciencias Veterinarias, que presenta las características geográficas y climatológicas siguientes: ¹(*)

Altitud	:	2 536 msnm
Latitud sur	:	7°10'
Longitud oeste	:	78°30'
Clima	:	Templado seco
Temperatura mínima promedio anual	:	8,4°
Temperatura máxima promedio anual	:	20,0°C
Temperatura promedio anual	:	15,2°C
Precipitación pluvial anual	:	629 mm
Humedad relativa promedio anual	:	62,58%
Presión barométrica	:	740,5 milibares

¹ Datos proporcionados por SENAMHI-Cajamarca 2018

3.2 Tipo de Investigación

Aplicada, experimental, explicativa y transversal.

3.3 Unidad de análisis, población y muestra

La población en estudio estuvo conformada por un total de 10 ovinos de los cuales, 05 (A) como grupo control y los otros 05 (B) como grupo experimental, según lo recomendado por la Asociación Mundial para el Avance de la Parasitología Veterinaria (W. A. A. V. P.) segunda edición de directrices para evaluar la eficacia de los antihelmínticos en rumiantes (bovinos, ovinos, caprinos).

3.1 Tipo y descripción del diseño de contrastación

La investigación se desarrolló en dos experimentos: Uno, mediante la prueba coprológica (test de reducción del conteo de huevos =TRCH) y otro con la prueba crítica por necropsia.

Prueba coprológica FECRT (Test de Reducción del Conteo de Huevos):

Para ello, se utilizaron 10 ovinos homogenizados y se conformaron dos grupos (A y B) de 5 animales cada uno. En los mismos grupos se registraron un Hpg pre tratamiento que se consideró el día cero y otro en el día 16 pos tratamiento.

Prueba crítica por necropsia:

Se utilizó los 10 ovinos, con los cuales aleatoriamente se conformaron los dos grupos de 5 animales cada uno (n=5 tratados o grupo experimental y n=5 no tratados o grupo control).

METODOLOGÍA

Prueba coprológica (Test de Reducción del Conteo de Huevos = FECRT): Este test se llevó a cabo en dos etapas de trabajo, una en campo y otra en el laboratorio:

Trabajo de Campo: Se llevó a cabo en tres etapas:

Primera etapa. Se realizaron las siguientes actividades:

- **Identificación de los animales.** Se llevó a cabo mediante el aretado de todos los ovinos.
- **Primera recolección de muestras de heces.** Se extrajo del recto aproximadamente 50 g y se les realizó un examen coproparasitológico, con la finalidad de cerciorarnos de que todos los animales se encontraban parasitados naturalmente con *F. hepatica*, como no fue así, se procedió a infectar los ovinos negativos en forma artificial con metacercarias obtenidas en el Laboratorio de Inmunología, Grupo de Investigación en Trematodes.
- **Permanencia y alimentación.** Todos los ovinos permanecieron en las instalaciones un total de 94 días y fueron alimentados exclusivamente con heno de alfalfa, a partir del día 73 con la finalidad de estar seguros de que no volverán a re infectarse; y se esperó un total de 77 días para asegurarnos que

las fases larvarias de *F. hepatica* que pudieran encontrarse en ellos, llegaron a su fase adulta en los conductos biliares.

- **Formación de los grupos A y B.** A las 11 semanas de permanencia de los ovinos pos infección se formaron los grupos, para lo cual se les realizó un HPG (Recuento de huevos) a cada uno, de modo que cada grupo tenga una sumatoria de huevos similares y sean homogéneos. Así, el grupo control tuvo una sumatoria de 45 huevos de *Fasciola hepatica* y el tratado 44.

Segunda etapa. Se llevarán a cabo las siguientes actividades:

- **Estimación del peso vivo.** Se realizó con ayuda de una balanza eléctrica.
- **Dosificación con Closantel.** Se efectuó al día siguiente de haberse conformado los grupos y solo para los ovinos del grupo B (tratado).

Tercera etapa. Se realizó un hpg a los 16 días pos dosificación. La extracción de la muestra de heces fue similar al muestreo pre dosificación, tanto para el grupo A como para el B.

- **Trabajo de Laboratorio:** La carga parasitaria se determinó mediante la técnica de Sedimentación Natural Modificada por Rojas y Torrel, que tiene una sensibilidad en ovinos del 79% y una especificidad del 83% (Rojas *et al.*, 2015) y que se lleva a cabo mediante el siguiente protocolo:

Materiales y equipo:

- Balanza de precisión.
- Vasos plásticos de 400 mL de capacidad.
- Vasos de vidrio cónico de 260 mL de capacidad.

- Embudo con malla metálica de 80 hilos/pul.
- Placas Petri de 10 centímetros de diámetro, con líneas paralelas de 1 centímetro de separación.
- Estereoscopio con luz incorporada.
- Agitador eléctrico (batidora de mano).
- Estilete (aguja N° 22 x ½ pulg.).
- Mortero de madera.

Técnica:

- De la muestra total de heces (aproximadamente 50 g), se tritura en un mortero de madera y luego se pesa 1 g de heces, lo que es llevado a un vaso de plástico de 400 mL de capacidad.
- Agregar aproximadamente 200 mL de agua de caño, homogenizar la muestra con un agitador eléctrico (batidora de mano), por un tiempo aproximado de 10 segundos.
- Pasar por un embudo con malla metálica de 80 hilos por pulgada hacia otro vaso de vidrio de forma cónica de 250 mL de capacidad, agregar más agua de caño hasta llenar a 1 cm del borde del vaso.
- Dejar reposar por 5 minutos.
- Decantar el sobrenadante dejando aproximadamente 15 mL de sedimento en el vaso.
- Trasladar el sedimento a una placa petri con rayas paralelas a 10 mm de distancia entre ellas.

- Colocar 3 gotas de lugol fuerte, esperar 5 minutos para colorear los huevos.
- Observar el sedimento en el esteroscopio a 16 aumentos. Es necesario separar las fibras vegetales con un estilete (aguja N° 22 x ½ pulgada) para mejor observación.

Cálculo del Hpg

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

- **Cálculo de la dosis terapéutica del Closantel.** Se obtuvo multiplicando el peso vivo del animal por la dosis de 10 mg/kg y el resultado se dividió entre la concentración del fasciolicida, teniendo en consideración que un cc del producto comercial contenía 10 mg de Closantel, el cual tenía una concentración del 10%. El antiparasitario para su dosificación se proporcionó en mL.
- **Registro de datos.** Cada animal fue registrado con los siguientes datos: Identificación, edad aproximada, peso vivo, huevos por gramo de heces (Hpg pre dosificación y pos dosificación), dosis terapéutica.

GRUPO CONTROL

N° animales	Identidad	Peso vivo (kg)	Dosis (mL)	(Hpg) Dia 0 pre dosif.	(Hpg) Dia 16 pos dosif.
1					
...					
5					

GRUPO TRATADO

N° animales	Identidad	Peso vivo (kg)	Dosis (mL)	(Hpg) Dia 0 pre dosif.	(Hpg) Dia 16 pos dosif.
1					
...					
5					

- **Cálculo del porcentaje de eficacia del Closantel.** Se aplicó la fórmula de Porcentaje de Eficacia según lo señalado por Ueno y Gonçalves, (1998).

$$\%E = \frac{C}{A} \times 100$$

$$C = A - B$$

Dónde:

%E : Es el Porcentaje de eficacia.

C : Es la diferencia de A – B.

A :	Es el número de huevos encontrados en el grupo control.
B :	Es el número de huevos encontrados día 16 pos dosificación.

Prueba crítica por Necropsia, (conteo de *Fasciola hepatica* adultas en el hígado).

En el día 19 pos dosificación se realizó la necropsia de los 10 ovinos, con la intención de recolectar los parásitos que pudieran encontrarse en cada hígado.

En la necropsia, se obtuvo el hígado, en el cual se practicaron cortes longitudinales a través de los conductos biliares con la finalidad de recuperar las fasciolas adultas.

La eficacia absoluta fue calculada mediante la siguiente fórmula:

$$\%E = \frac{C - T}{C}$$

Dónde:

C = Promedio de vermes en el grupo control;

T = Promedio de vermes en el grupo tratado (Kassai, 2002).

3.4 Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Los datos obtenidos serán procesados mediante una prueba de z de proporciones.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1. Eficacia del Closantel en el control de *Fasciola hepatica* en ovinos evaluada mediante la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel en el día 16 pos dosificación. Cajamarca 2018.

No. Animales	Grupo control HPG día 16 p.d.	Grupo tratado HPG día 16 p.d.
1	30	00
2	02	00
3	14	02
4	92	00
5	13	00
Total	151	02
Eficacia		98,7%

Tabla 2. Eficacia del Closantel en el control de *Fasciola hepatica* en ovinos evaluada mediante la prueba por necropsia, día 19 post dosificación Cajamarca 2018.

Animales No.	Grupo control Fasciolas adultas No.	Grupo tratado Fasciolas adultas No.
1	17	00
2	01	00
3	17	00
4	23	00
5	02	00
Total	60	00
Eficacia		100%

Los resultados encontrados en el presente trabajo de investigación demuestran que la eficacia del Closantel 10% en el control de *Fasciola hepatica* en ovinos encontrado mediante la aplicación de la técnica de Sedimentación Natural modificada por Rojas y Torrel fue del 98,7% (Tabla 1), y mediante la prueba Crítica por Necropsia fue del 100% (Tabla 2); no existiendo diferencia significativa estadísticamente, lo cual pueda deberse a que la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel tiene una alta sensibilidad (93%) y una alta especificidad (92%) (Rojas *et al*, 2013).

Como se aprecia en la tabla 1 y 2, todos los ovinos del grupo control que dieron positividad al contaje de huevos, también salieron positivos al contaje de fasciolas adultas, sin embargo de los 05 ovinos que conformaron el grupo tratado con Closantel 10% uno resultó positivo a la presencia de huevos (2 hpg) en el día 16 pos tratamiento (Tabla 1), aunque a la necropsia ninguno presentó fasciolas adultas en los conductos biliares ni en la vesícula biliar, este hallazgo de huevos nos inclina a pensar que en el futuro debería seguirse la recomendación de Ueno y Gonçalves (1998), quienes recomiendan que un nuevo Hpg debería realizarse a las cuatro o cinco semanas pos dosificación.

La eficacia del Closantel, obtenida en la presente investigación concuerda con lo reportado por Rojas, (2017), quien mediante infección artificial en conejos determinó una eficacia del 100%, del mismo modo es similar al trabajo realizado por Guerrero (1984), quien indica haber encontrado un 99,5% de efectividad en ovinos.

De igual manera nuestro resultado es similar a lo obtenido por Lee *et al*. (1996), quienes utilizando la misma dosis en cabras, encontró 97,8 % de eficacia al examen fecal a la tercera semana postratamiento.

Sin embargo, en lo referente al recuento de fasciolas adultas al post mortem, nuestros resultados son diferentes a lo hallado por Montes *et al*. (1987), quien reporta

una eficacia del 92,2%, diferente al 100% de eficacia hallada en la presente investigación, lo cual podría deberse a que en el trabajo del autor referido se utilizó como dosis 5 mg/Kg, la mitad de la dosis usada por nosotros.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

Se concluye que:

La eficacia obtenida con Closantel 10% en dosis de 10 mg/kg pv vía oral en el control de *Fasciola hepatica* en ovinos del valle de Cajamarca medida mediante el test de reducción de conteo de huevos (T.R.C.H.) fue del 98,7%.

La eficacia obtenida con Closantel 10% en dosis de 10 mg/kg pv vía oral en el control de *Fasciola hepatica* en ovinos del valle de Cajamarca medida mediante la necropsia fue del 100%.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams, H. 2003. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Segunda edición. Editorial Acribia, S.A., Zaragoza-España. pp1055-1060.

Anziani, O., Fiel, C. 2004. Resistencia de los Nematodes Gastrointestinales a los Antihelmínticos: Un problema emergente y relevante para la producción bovina nacional. Documento de trabajo, pp.4-40.

Ayaqui, R., Miranda, E. 2002. Fasciolosis en la localidad de Uchumayo-Arequipa. V Congreso Nacional de Parasitología. Trujillo.

Basso, N., Calzetta, E., Dughetti, R., Gimenez, R., Pérez, G., Rosa, A., Welch, E. 1987. Fundamentos de Parasitología Veterinaria. Primera edición. Editorial Hemisferio Sur S.A., Buenos Aires-Argentina. pp 53-61.

Benavides, O. 2001. Control de las pérdidas ocasionadas por los parásitos del ganado. Carta Fedegan 69: 52-63 (Anexo coleccionable “Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades en explotaciones ganaderas 6”). Disponible en <https://www.google.com.pe/search?q=Resistencia+a+los+Antiparasitarios.+Estado+actual+con+énfasis+en+América+Latina.+Estudio+FAO+Producción+y+Sanidad+Animal+157&oq=Resistencia+a+los+Antiparasitarios.+Estado+actual+con+énfasis+en+Am> A

Becerra, M. 2001. Consideraciones sobre estrategias sostenibles para el control de *Fasciola hepatica* en Latinoamérica. Rev. Col. Cienc. Pec. 2001; 14: 1.

Boray, J. 1986. Trematode infections of domestic animals. In Chemotherapy of Parasitic Diseases, ed. W.C. Campbell & R.S. Rew, pp. 401-25. New York: Plenum Press.

Botana, L., Landoni, F., Jimenez, T. 2002. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Primera edición. Editorial McGraw-Hill. Interamericana, Madrid-España. pp564-570.

Brockwell, Y., Elliott, T., Anderson, G., Stanton, R., Spithill, T., Sangster, N. 2014. Confirmation of *Fasciola hepatica* resistant to triclabendazole in naturally infected Australian beef and dairy cattle. International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance, 4(1), pp.48–54. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211320713000213>.

Cordero, M., Rojo, F., Martínez, A., Sánchez, M., Hernández, S., Navarrete, I., Diez, P., Quiroz, H., Carvalho, M. 1999. Parasitología Veterinaria. Primera edición. Editorial McGraw-Hill. Interamericana, Madrid-España. pp260-271.

Espinoza, J., Terashima, A., Herrera, P., Marcos, L. 2010. Fasciolosis Humana y Animal en el Perú : Impacto en la Economía de las Zonas Endémicas. Rev Perú Med Exp Salud Pública, 27(4), pp.604–612.

Fairweather, I. 1997. The quest for an understanding of fasciolicidal action: Holy Grail or poisoned chalice?, In: AGVET, M. (Ed.) Immunology, Pathobiology and Control of Fasciolosis. Rahway, New Jersey, pp. 99-130.

Fairweather, I., Boray, J. 1999. Fasciolicides: Efficacy, Actions, Resistance and its Management. The Veterinary Journal 1999, 158, 81–112. Article No. tvjl.1999.0377, available online at <http://www.idealibrary.com> on

Fairweather, I., Boray, J. 1999. Mechanisms of fasciolicide action and drug resistance in *Fasciola hepatica*, In: Dalton, J.P. (Ed.) Fasciolosis. CABI Publishing, Wallingford, Ox, pp. 225-276.

FAO. 2003. Resistencia a los antiparasitarios Estado actual con énfasis en América Latina. In Roma-Italia, p. 2. Available at://www.google.com.pe/search?q=Resistencia+a+los+Antiparasitarios.+Estado+actual+con+%C3%A9nfasis+en+Am%C3%A9rica+Latina.+Estudio+FAO+Producci%C3%B3n+y+Sanidad+Animal+157&oq=Resistencia+a+los+Antiparasitarios.+Estado+actual+con+%C3%A9nfasis+en+Am%C3%A

Fiel, C., Steffan, P., Ferreyra, D. 2011. Diagnóstico de las parasitosis más frecuentes de los rumiantes. Primera edición. Editorial U. N. C. P. B. A. TANDIL, Buenos Aires-Argentina. pp108-111.

Guerrero, J. 1984. Closantel: a review of its antiparasitic activity. *Prev. Vet. Med.*, 2: 317-327.

Hanna, R., McMahon, C., Ellison, S., Edgar, H., Kajugu, P., Gordon, A., Irwin, A., Barley, J., Malone, F., Brennan, G., Fairweather, I. 2015. *Fasciola hepatica*: A comparative survey of adult fluke resistance to triclabendazole, nitroxylnil and closantel on selected upland and lowland sheep farms in Northern Ireland using faecal egg counting, coproantigen ELISA testing and fluke histology. *Veterinary Parasitology*, 207(1-2), pp.34-43. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401714006153>.

INEI. 2012. Resultados definitivos del IV Censo Nacional Agropecuario. p46.

Disponible:

<Http://proyectos.inei.gob.pe/web/DocumentosPublicos/ResultadosFinalesIVCENAGRO.pdf>. Consultado el 22 de junio 2019.

Kane, H., Behm, C., Bryant, C. 1980. Metabolic studies on the new fasciolicidal drug, closantel. *Molec. Biochem. Parasitol* 1, 347-355.

Kassai, T. 2002. *Helmintología Veterinaria*. Primera edición. Editorial Acribia, S.A, Zaragoza- España. pp155-161.

Lee, C., Cho, S., Kim, J., Lee, Y. 1996. Efficacy of closantel against *Fasciola hepatica* in Korean native goats *Veterinary Parasitology* 65 (1996) 307-311.

Márquez, D. 2007. Resistencia a los antihelmínticos en nematodos de rumiantes y estrategias para su control. Bogotá-Colombia. 166pp. https://books.google.com.pe/books?id=ENxJzXBzhNQC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

Merck CO. 1988. *El manual de Merck de Veterinaria*. Tercera edición, Editorial Centrum, Madrid-España. pp244-246.

Montes, G., González, H., Schmidt, R., Pérez, P. 1987. *Fasciola hepatica* in sheep: effects of treatment with closantel on some biological and productives variables. *Avances en Ciencias Veterinarias - Vol. 2, N 2: 110-115, 1987*

Nari, A., Fiel, C. 2001. *Enfermedades Parasitarias de Importancia Económica en Bovinos: Bases epidemiológicas para su prevención y control*. Editorial Hemisferio Sur, S.A., Montevideo- Uruguay. p232-252.

Novobilský, A., Höglund, J. 2015. First report of closantel treatment failure against *Fasciola hepatica* in cattle. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 5(3), pp.172–177. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211320715300075>.

Olaechea, F., Lovera, V., Larroza, M., Raffo, F., Cabrera, R. 2011. Resistance of *Fasciola hepatica* against triclabendazole in cattle in Patagonia (Argentina). *Veterinary*

Parasitology, 178(3-4), pp.364–366. Available at:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304401711000161>.

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

Ortiz, P., Scarcella, S., Cerna, C. Rosales, C. Cabrera, M., Guzmán, M., Lamenza, P., Solana, H. 2013. Resistance of *Fasciola hepatica* against Triclabendazole in cattle in Cajamarca (Peru): A clinical trial and an in vivo efficacy test in sheep. *Veterinary Parasitology*, 195(1–2), pp.118–121. Available at:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401713000149>.

Pax, R., Bennett, J. 1989. Effect of Closantel on Intrategumental pH in *Schistosoma mansoni* and *Fasciola hepatica*. Allen Press on behalf of American Society of Parasitologists. *The Journal of Parasitology*, Vol. 75, No. 1 (Feb., 1989), pp. 169-171.

Quiroz, H. 2011. *Parasitología y Enfermedades Parasitarias de Animales Domésticos*. Editorial LIMUSA, S.A., México. pp232-251.

Rohrer, S., Saz, H., Nowak, T. 1986. ³¹P-NMR studies of the metabolisms of the parasitic helminths *Ascaris suum* and *Fasciola hepatica*. *Arch. Biochem. Biophys* 248, 200-209.

Rojas, J. 2017. Eficacia antihelmíntica del Closantel en el control de *Fasciola hepatica* en conejos del valle de Cajamarca. Tesis para optar el Grado de Doctor en Ciencias Veterinarias, Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca. Cajamarca-Perú p 115.

Rojas, J. 2007. Efectividad y Resistencia Antihelmíntica de *Fasciola hepatica* a Triclabendazol en el fundo “El Cortijo”, distrito Baños del Inca- Cajamarca, Perú 2006. <http://www.engormix.com/MA-ganaderia-carne/sanidad/articulos/efectividad-resistencia-antihelmintica-fasciola-t1421/p0.htm>

Rojas, J. 2012. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Cajamarca (Perú). <http://www.veterinariargentina.com/revista/2012/07/resistencia-de-fasciola-hepatica-al-triclabendazol-en-bovinos-de-la-campina-de-cajamarca-%E2%80%93-peru/>

Rojas, J., Palomino, G., Calderón, T., Terán, J. 2013. Diagnóstico de resistencia antihelmíntica de *Fasciola hepatica* a los antiparasitarios de uso más común en bovinos de cuatro distritos de Cajamarca, Perú. http://www.produccionbovina.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/parasitarias/parasitarias_bovinos/74-Resistencia_Antihelmintica_de_Fasciola.pdf

Rojas, J., Palacios, S. 2009. Impacto económico por decomiso de hígados infectados con *Fasciola hepatica* en camales de la Región Cajamarca, 2008.

Rojas, J., Torrel, S., Navarro, R. 2015. Validación de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel en el diagnóstico de fasciolosis crónica en bovinos, Cajamarca. Perú. (Resúmenes de la XXXVIII Reunión Científica Anual de la Asociación Peruana de Producción Animal (APPA). Ayacucho - Perú, 2015).

Rojas, J., Torrel, S., Raico, M. 2013. Validación de la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel en el diagnóstico de fasciolosis crónica en bovinos, Cajamarca. Perú. (Resúmenes de la XXIII Reunión de la Asociación

Latinoamericana de Producción Animal (ALPA) y IV Congreso Internacional de Producción Animal. La Habana- Cuba, 2013).

Rojas, M. 1990. Parasitismo de los Rumiantes Domésticos: Terapia, prevención y modelos para su aprendizaje. Primera edición. Editorial MAIJOSA, Lima-Perú. pp112-130.

Scarcella, S., Hanna, R., Brennan, G., Solana, H., Fairweather, I. 2015. *Fasciola hepatica*: histological changes in the somatic and reproductive tissues of liver fluke following closantel treatment of experimentally-infected sheep. Veterinary Parasitology <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.10.029>.

Skuce, P. 1987. The effects of selected ionophores upon the pharmacology and ultrastructure of the liver fluke, *Fasciola hepatica* L. PhD Thesis, The Queen's University of Belfast.

Skuce, P., Fairweather, I. 1990. The effect of the hydrogen ionophore Closantel upon the pharmacology and ultrastructure of the adult liver fluke *Fasciola hepatica*. Parasitol. res 76, 241-250.

Skuce, P., Fairweather, I. 1990. The effect of the hydrogen ionophore closantel upon the pharmacology and ultrastructure of the adult liver fluke *Fasciola hepatica*. Parasitology Research 76, 241–50.

Steffan, P., Fiel, C., Saumell, C., Fusé, C., Iglesias, L. 2014. El uso de antihelmínticos en los programas de control y el riesgo potencial de resistencia. pp.85–94. <http://helminto.inta.gob.ar/pdf%20Resistencia/Steffan.pdf>.

Stromberg, B., Schlotthauer, J., Conboy, G. 1984. The efficacy of closantel against *Fascioloides magna* in sheep. J. Parasitol., 70: 446-447.

Sumano, H. 1996. Farmacología Clínica en Bovinos. Primera edición. Editorial Trillas, México. pp124-148.

Sumano, H., Ocampo, L. 1997. Farmacología Veterinaria. Segunda edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana, México. 291-300.

Sumano, H., Ocampo, L. 2006. Farmacología Veterinaria. Tercera edición. Editorial McGraw-Hill. Interamericana, México. 489-498.

Ueno, H., Gonçalves, P. 1998. Manual para Diagnóstico de las Helminosis de Rumiantes. Cuarta edición. Editorial. Japan International Cooperation Agency (JICA), Tokyo, Japan. pp127-135.

Urquhart, G., Armour, J., Duncan, J., Dunn, A., Jennings, F. 2001. Parasitología Veterinaria. Segunda edición. Editorial Acribia S.A., Zaragoza- España. pp117-127.

Van Den Bossche, H., Verhoeven, H., Vanparijs, O. 1979. Closantel, a new antiparasitic hydrogen ionophore. Arch. Int. Physiol. Biochem., 87: 851-852.

Van Den Bossche, H. 1985. How anthelmintics help us to understand helminths. Parasitology 90: 675-685.

Verheyen, A., Vanparijs, O., Lauwers, H., Thienpont, D. 1980. The influence of closantel administration to sheep on the ultrastructure of the adult liver fluke *Fasciola hepatica* L. In The Host-Invader Interplay, ed. H. Van den Bossche, pp. 705-8. Amsterdam: Elsevier/North-Holland Biomedical Press.

ANEXO

Anexo 1. Fotografías



Fig 1. Dilución de heces para Hpg



Fig 2. Homogenizando diluciones



Fig 3. Observando metacercarias antes de la infección



Fig 4. Proporcionando cápsula con metacercarias



Fig 5. Administrando agua para pasar la cápsula



Fig 6. Pesaje de ovinos pre dosificación



Fig 7. Vista ventral de hígado de un testigo



Fig 8. Vista ventral de hígado de un tratado



Fig 9. Tesista realizando el corte hepático



Fig 10. Fasciola recuperada después del tratamiento con agua caliente.



Fig 11. Fasciolas recuperadas del hígado del testigo de arete n° 107

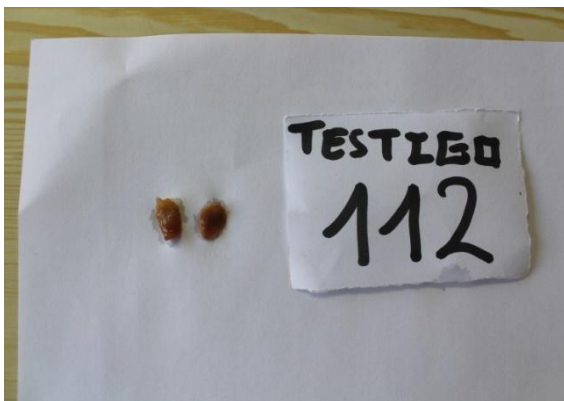


Fig 12. Fasciolas recuperadas del hígado del testigo de arete n° 112



Fig 13. Fasciolas recuperadas del hígado del testigo de arete n° 05

Anexo 2.

Infección experimental de ovinos con metacercarias obtenidas invitro a partir de huevos de cepas de *Fasciola hepatica* de bovinos del valle Cajamarca por Cristian Hobán Vergara.

Materiales:

- Cápsulas de gelatina
- Guantes
- Placas Petri rayadas.
- Estereoscopio
- Pinzas
- Bisturí

Protocolo:

1. Las metacercarias enquistadas en bolsas de polipropileno y guardadas en agua destilada en refrigeración son trasladadas a placas Petri plásticas y llevadas a observación bajo estereoscopio.
2. Se posicionan de tal manera que las líneas de la placa nos sirvan para poderlas contar.
3. Una vez obtenido el número de metacercarias se presiona con la pinza la bolsa, de modo que no se mueva y con el bisturí se procede a realizar un corte evitando tocar las metacercarias siempre con la ayuda del estereoscopio.
4. Con ayuda de una pinza se sostiene el retazo de plástico cortado conteniendo las metacercarias y este es colocado en una cápsula de gelatina.
5. Las cápsulas son trasladadas al lugar en donde se encuentran los ovinos. Con ayuda de una pinza mayo se sostiene con cuidado la cápsula, se sujeta al animal, se le abre la boca con cuidado y se coloca la cápsula sobre la lengua, al fondo de la boca y se deja deglutir, inmediatamente se le proporciona agua con una jeringa de 60 mL. Finalmente se confirma que la cápsula haya sido tragada por el ovino.

Anexo 3.

Dosificación de ovinos vía oral con Closantel 10% en dosis de 10 mg/kg pv

Materiales y equipos:

- 05 ovinos positivos a *F. hepática* infectados natural o experimentalmente.
- Closantel 10% en suspensión.
- Jeringa de 10 mL de capacidad
- Jeringa de tuberculina con capacidad de 1 mL.
- Balanza digital.
- Guantes quirúrgicos.

Protocolo:

1. Ovinos positivos a *F. hepatica*,
2. Pesar individualmente a los ovinos.
3. Calcular la dosis terapéutica en mL para cada ovino en relación a dosis de mg/kg pv, peso vivo y concentración del Closantel 10%.
4. Cargar en la jeringa de 10 ml la dosis de Closantel 10% que corresponda en mL.
5. Cargar en la jeringa de tuberculina la dosis en décimas de mL de Closantel 10% que correspondía.
6. Sujeción del ovino. Una persona sujeta al ovino y lo coloca en posición de sentado y con las dos manos le abre la boca.
7. Suministro de la dosis de Closantel vía oral a cada ovino. Una persona introduce la jeringa entre el espacio interalveolar del maxilar a nivel de la base de la lengua y se procede a suministrar vía oral la respectiva dosis, observando que haya deglutido.

Anexo 4.

Obtención de *Fasciola hepatica* adultas en hígados de ovinos mediante necropsia

Materiales y equipos:

- Cuchillo.
- Equipo de disección (tijeras punta recta, mango y hoja de bisturí, pinzas punta roma y punta diente de ratón, estilete).
- Papel y plumón punta fina.
- Placas Petri de vidrio.
- Baldes.

Protocolo:

1. Sacrificio de los ovinos previamente identificados, mediante degüello en el Camal Municipal.
2. Obtener el hígado, colocarlo cada hígado en una bolsa plástica de color blanco previamente identificado con plumón de color negro.
3. Llevar las vísceras al Laboratorio de Inmunología de la F.C.V.
4. Colocar el hígado con su identificación en una fuente metálica mostrando su superficie visceral y con un bisturí cortar a través de los conductos biliares y coleccionar las fasciolas adultas con una pinza punta roma.
5. Abrir con un bisturí la vesícula biliar y vaciar su contenido en búsqueda de fasciolas adultas.
6. Siempre con el bisturí, trozar en cuadrados pequeños el resto del hígado y depositarlo en un balde con agua tibia, en donde se procede a presionarlo con cierta fuerza a fin de obtener las fasciolas adultas que hayan podido quedar, para lo cual todo el contenido del recipiente es vaciado en una fuente metálica.

Anexo 5.

Cuadros

Cuadro 1. Recuento de huevos de *Fasciola hepatica* en ovinos del grupo control en la pre y pos dosificación

No. Animales	Identificación	H.P.G.	
		Día 0 Pre dosificación	Día 16 Pos dosificación
1	111	13	30
2	103	02	02
3	05	03	14
4	107	24	92
5	112	03	13
Total		45	151

Cuadro 2. Recuento de huevos de *Fasciola hepatica* en ovinos del grupo tratado en la pre y pos dosificación con Closantel 10%.

No. Animales	Identificación	H.P.G.	
		Día 0 Pre dosificación	Día 16 Pos dosificación
1	083	09	00
2	04	03	00
3	06	04	02
4	01	16	00
5	03	12	00
Total		47	00

Cuadro 3. Recuento de *Fasciola hepatica* en ovinos del grupo control en el día 19 pos dosificación con Closantel 10%.

Animales	Identificación No.	No Fasciolas
1	111	17
2	103	01
3	05	17
4	107	23
5	112	02

Total		60
-------	--	----

Cuadro 4. Recuento de *Fasciola hepatica* en ovinos del grupo tratado en el día 19 pos dosificación con Closantel 10%.

No. Animales	Identificación	Fasciolas No.
1	083	00
2	04	00
3	06	00
4	01	00
5	03	00
Total		00

Cuadro 5. Registro de datos del grupo tratado en relación a peso y dosis de Closantel.

No. ARETE	PESO Kg	DOSIS (mg)	FASINTEL (10%) (ml)
01	27,2	272	2,7
03	29,3	293	2,9
04	37,6	376	3,8
06	28,5	285	2,9
083	40,2	402	4,0

Anexo 6.

Análisis estadístico

Prueba de Z

Análisis 1: Eficacia del Closantel frente a la Fasciola hepatica en ovinos

Hipótesis Nula: La eficacia del closantel frente a *fasciola hepatica* en ovinos es menor al 90%

Hipótesis alternativa: La eficacia del Closantel frente a *Fasciola hepatica* en ovinos es igual o mayor al 90%

Ho: <90 Ha: ≥90

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

Donde

X = Ocurrencias

n = observaiones

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

p_0 = proporción propuesta

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

Reemplazando:

$$Z = \frac{\frac{149}{151} - 0.90}{\sqrt{\frac{0.90(1-0.90)}{151}}} = 3.55$$

Z= 3,55

El valor de 3,55 es mayor a 1,96, entonces Acepto la hipótesis nula y concluyo la eficacia del Closantel vía oral frente a *Fasciola hepatica* en ovinos es mayor o igual al 90%.

HIGADO * HPG Crosstabulation					
			HPG		Total
			Positivo	negativo	
HIGADO	Positivo	Count	0	0	0
		% within HIGADO	0%	0,0%	0%
	negativo	Count	1	4	5
		% within HIGADO	20%	80,0%	100%

Análisis 2:

Hipótesis Nula: La eficacia del Closantel frente a *Fasciola hepatica* mediante el conteo de HPG es igual a la eficacia del Closantel frente a la *Fasciola hepatica* mediante la necropsia.

Hipótesis alternativa: La eficacia del Closantel frente a *Fasciola hepatica* mediante el conteo de HPG es diferente a la eficacia del Closantel frente a la *Fasciola hepatica* mediante la necropsia.

Ho: Ho: hpg = *Fasciola*

Ha hpg ≠ *Fasciola*

$$DS = \sqrt{\frac{p1q1}{n1} + \frac{p2q2}{n2}}$$
$$Z = \frac{(\hat{p}1 - \hat{p}2) * (p1 - p2)}{\sqrt{\frac{p1q1}{n1} + \frac{p2q2}{n2}}}$$
$$(\hat{p}1 - \hat{p}2) - Z\alpha/2 \left[\sqrt{\frac{p1q1}{n1} + \frac{p2q2}{n2}} \right] < p1 - p2 < (\hat{p}1 - \hat{p}2) + Z\alpha/2 \left[\sqrt{\frac{p1q1}{n1} + \frac{p2q2}{n2}} \right]$$

Z= -1,42

Z= 3,55

El valor de Z -1,42 es mayor a -1,96 y menor a 1,96, entonces Acepto la hipótesis nula y concluyo la eficacia del Closantel mediante el conteo de hpg frente a *Fasciola hepatica* en ovinos es igual a la presencia de *Fasciolas hepáticas* a la necropsia.