

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
ESCUELA DE POSGRADO



DOCTORADO EN CIENCIAS
MENCIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS

TESIS

EFICACIA ANTIHELMÍNTICA DEL CLOSANTEL EN EL CONTROL DE
Fasciola hepatica EN BOVINOS DEL VALLE DE CAJAMARCA

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

**Presentada por:
JUAN DE DIOS ROJAS MONCADA**

**Asesor:
Dr. CORPUS HILDEBRANDO CERNA CABRERA**

CAJAMARCA, PERÚ

2018

COPYRIGHT © 2018 by
JUAN DE DIOS ROJAS MONCADA
Todos los derechos reservados

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

ESCUELA DE POSGRADO



DOCTORADO EN CIENCIAS

MENCIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS

TESIS APROBADA:

EFICACIA ANTIHELMÍNTICA DEL CLOSANTEL EN EL CONTROL DE
Fasciola hepatica EN BOVINOS DEL VALLE DE CAJAMARCA

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

**Presentada por:
JUAN DE DIOS ROJAS MONCADA**

Comité Científico:

Dr. Corpus Cerna Cabrera
Asesor

Dr. Severino Torrel Pajares
Miembro de Comité Científico

Dr. Carlos Rosales Loredo
Miembro de Comité Científico

Dr. Abel García Bazán
Miembro de Comité Científico

Cajamarca - Perú

2018



Universidad Nacional de Cajamarca

Escuela de Pos Grado

CAJAMARCA - PERU

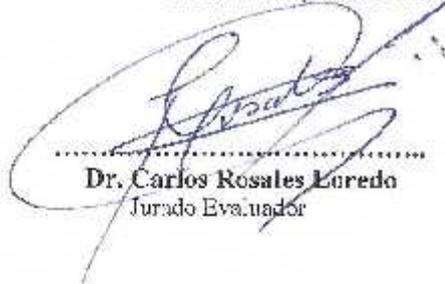
PROGRAMA DE DOCTORADO

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
DOCTORADO EN CIENCIAS
MENCIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS**

Siendo las diez de la mañana del día miércoles diecisiete de enero del año dos mil dieciocho, reunidos en el auditorio de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, el Jurado Evaluador presidido por el Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares; Dr. Carlos Rosales Loredó, Dr. Abel García Bazán, como integrantes del jurado titular; y en calidad de Asesor, el Dr. Corpus Cerna Cabrera. 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 dio inicio a la SUSTENTACIÓN de la tesis titulada: **EFICACIA ANTIHELMÍNTICA DEL CLOSANTEL EN EL CONTROL DE *Fasciola hepatica* EN BOVINOS DEL VALLE DE CAJAMARCA**; presentada por el M.Cs. JUAN DE DIOS ROJAS MONCADA con la finalidad de optar el Grado Académico de **DOCTOR EN CIENCIAS**, Mención **CIENCIAS VETERINARIAS**.

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 ... *SABEREFICIENTE (19)* la mencionada Tesis; en tal virtud, el M.Cs. JUAN DE DIOS ROJAS MONCADA está apto para recibir en ceremonia especial el Diploma que lo acredita como **DOCTOR EN CIENCIAS**, Mención **CIENCIAS VETERINARIAS**.

Siendo las *11:40* horas del mismo día, se dio por concluido el acto.


.....
Dr. Carlos Rosales Loredó
Jurado Evaluador


.....
Dr. Abel García Bazán
Jurado Evaluador


.....
Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares
Presidente Jurado Evaluador

A:

Mi esposa Soquito e hijos Isabel Milagros y Juan Miguel

Mi nuera Milagrito y a mi apreciada nieta Sofía

Juan de Dios

CONTENIDO

Ítem	Página
AGRADECIMIENTOS	xii
LISTA DE ABREVIACIONES	xiii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT	xv
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivos de investigación	4
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	5
2.1. Antecedentes teóricos de la investigación	5
2.2. Bases teóricas	9
CAPÍTULO III: DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS	34
3.1. Hipótesis de la investigación	34
3.2. Diseño metodológico	34
3.3. Localización	35
3.4. Población, tamaño de muestra, unidad de análisis	36
3.5. Descripción del diseño metodológico	37
3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	45
3.7. Análisis estadístico.....	45
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES	55
LISTA DE REFERENCIAS	56
ANEXOS	63

LISTA DE ILUSTRACIONES

Cuadros	Página
Cuadro 1. Registro de datos obtenidos de bovinos del fundo La Victoria-UNC, ubicado en el Sur del valle Cajamarca.....	82
Cuadro 2. Registro de datos obtenidos de bovinos del fundo Los Alpes, ubicado en el Nor- Oeste del valle Cajamarca.....	83
Cuadro 3. Registro de datos obtenidos de bovinos del fundo Tartar-UNC, ubicado en el Este del valle Cajamarca.....	84
Cuadro 4. Registro de datos obtenidos de bovinos del fundo San Vicente, ubicado en el Nor-Este del valle Cajamarca.....	85
Cuadro 5. Homogenización de carga parasitaria (hpg) en el día cero en conejos infectados artificialmente con cepas de <i>Fasciola hepatica</i> procedentes de bovinos del valle Cajamarca para la dosificación con Closantel 10% en dosis de 20 mg/kg	86
Cuadro 6. Datos obtenidos en conejos del grupo Control en el día 15 posdosificación.....	87
Cuadro 7. Datos obtenidos en conejos del grupo Closantel en el día 15 posdosificación.....	88

Tablas

Tabla 1. Eficacia del Closantel 10% a dosis de 10 mg/kg en el control de <i>Fasciola hepatica</i> en bovinos del fundo La Victoria-UNC, ubicado en el Sur del valle Cajamarca; mediante el test de reducción del conteo de huevos (FECRT).....	46
Tabla 2. Eficacia del Closantel 10% a dosis de 10 mg/kg en el control de <i>Fasciola hepatica</i> en bovinos del fundo Los Alpes, ubicado en el Nor- Oeste del valle Cajamarca., mediante el test de reducción del conteo de huevos (FECRT).....	47
Tabla 3. Eficacia del Closantel 10% a dosis de 10 mg/kg en el control de <i>Fasciola hepatica</i> en bovinos del fundo Taratar-UNC, ubicado en el Este del valle Cajamarca., mediante el test de reducción del conteo de huevos (FECRT).....	48
Tabla 4. Eficacia del Closantel 10% a dosis de 10 mg/kg en el control de <i>Fasciola hepatica</i> en bovinos del fundo San Vicente, ubicado en el Nor-Este del valle Cajamarca., mediante el test de reducción del conteo de huevos (FECRT).....	49
Tabla 5. Eficacia del Closantel 10% a dosis de 10 mg/kg en el control de <i>Fasciola hepatica</i> en bovinos del valle Cajamarca, mediante el test de reducción del conteo de huevos (FECRT).....	50
Tabla 6. Eficacia del Closantel 10% a dosis de 20 mg/kg en el control de <i>Fasciola hepatica</i> en conejos infectados experimentalmente con metacercarias obtenidas de cepas de <i>Fasciola hepatica</i> de bovino del valle Cajamarca, mediante la necropsia.....	51

Fotos

Foto 1. Localización Este del valle Cajamarca: Establo Tartar-UNC	64
Foto 2. Localización Nor-Este del valle Cajamarca: Establo San Vicente.....	64
Foto 3. Localización Sur-Este del valle Cajamarca: Establo La Victoria-UNC	64
Foto 4. Localización Nor-Oeste del valle Cajamarca: Establo Los Alpes.....	64
Foto 5. Extracción muestra de heces del recto (primera y tercera visita).....	64
Foto 6. Cálculo del peso vivo con cinta bovinométrica para raza Holstein. 1ra. Visita	64
Foto 7. Dosificación de bovinos vía oral (2da. visita)	65
Foto 8. Instalaciones para la conducción de conejos infectados experimentalmente...	65
Foto 9. Dosificación de conejos suministrado vía oral con Closantel	65
Foto 10. Realizando necropsia en hígado de conejo en el día 15 posdosificación.....	65
Foto 11. Mostrando fasciolas en conductos biliares, conejo del grupo control.....	65
Foto 12. Mostrando desechos de fasciolas en conducto biliar en un conejo del grupo Closantel dosificado.....	65
Foto 13. Selección de caracoles para infectarlos.....	66
Foto 14. Infección de caracoles	66
Foto 15. Obtención de metacercarias.....	66
Foto 16. Preparación de la dosis total de metacercarias para cada conejo.....	66
Foto 17. Infección de conejos con metacercarias vía oral con pipeta Pasteur.....	66
Foto 18. Colectando muestra de heces de cada conejo.....	66
Foto 19. Pesando 1 g de heces.....	67
Foto 20. Batiendo la muestra de heces	67
Foto 21. Filtrando la muestra de heces.....	67

Foto 22. Sedimentando y decantando.....	67
Foto 23. Colocando 3 gotas de lugol fuerte.....	67
Foto 24. Observando en estereoscopio a 16x.....	67

Anexos

Anexo 1. Fotos	64
Anexo 2. Cultivo y mantenimiento de caracoles <i>Lymnaea</i>	68
Anexo 3. Incubación de huevos de <i>Fasciola hepatica</i>	70
Anexo 4. Infección de caracoles	73
Anexo 5. Estimulación de caracoles, obtención de metacercarias y preparación de dosis de metacercarias para infección experimental	75
Anexo 6. Infección experimental a conejos con metacercarias obtenidas in vitro a partir de huevos de cepas de <i>Fasciola hepatica</i> de bovinos de un estado evaluado del valle Cajamarca.....	77
Anexo 7. Dosificación vía oral con Closantel 10% en dosis de 20 mg/kg: Protocolo.....	79
Anexo 8. Obtención de <i>Fasciola hepatica</i> adultas en hígados de conejo.....	81
Anexo 9. Registro de datos obtenidos en la investigación	82
Anexo 10. Análisis estadístico	89
Anexo 11. Encuestas realizadas a los profesionales encargados de los bovinos de los fundos estudiados.....	103

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de Cajamarca, Escuela de Posgrado y Facultad de Ciencias Veterinarias, por brindarme facilidades de estudio, en el objetivo de un ideal de superación y alcanzar un grado académico más alto.

A mis profesores de Posgrado y compañeros de estudio, porque al compartir nuevamente las aulas, hicieron de mí un joven estudiante.

A mi asesor, Dr. Corpus Cerna Cabrera, por su amistad, orientación, sugerencias y aporte profesional, que permitieron culminar este trabajo de tesis.

Al Comité Científico en pleno, por sus valiosos aportes que enriquecieron a la presente investigación.

A mi colega y amigo Dr. Severino Torrel Pajares, por su sincera amistad y compartir la parasitología en la Cátedra de Parasitología Veterinaria.

A mi colega Wilder Quispe Urteaga, por brindarnos un área del galpón de cuyes, para la conducción del experimento en conejos que requirió la presente investigación.

Un agradecimiento especial para Cristian Hobán Vergara, por apoyarnos en la producción de metacercarias para la infección experimental de conejos.

A los propietarios y administradores de los establos: Los Alpes, San Vicente, La Victoria-UNC y Tartar-UNC; por permitirnos la ejecución de la presente investigación.

LISTA DE ABREVIACIONES

ADN:	Ácido desoxirribonucleíco
FECRT:	Faecal Egg Count Reduction Test (Prueba de reducción del número de huevos en heces)
°C:	Grado centígrado
cm:	centímetros
ELISA:	Ensayo inmunoenzimático (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)
g:	Gramo
hpg:	Huevos por gramo de heces
kg:	Kilogramo
mg/kg:	Miligramos por kilo
l:	Litro
mg:	miligramo
mL:	Mililitro
p.d.	Posdosificación
p.i.:	Posinfección
p.v.:	Peso vivo
T.R.C.H.:	Test de Reducción del Conteo de Huevos
UNC:	Universidad Nacional de Cajamarca
µm:	micras
%:	Porcentaje
:	Sumatoria

RESUMEN

La investigación fue realizada entre mayo del 2016 a noviembre de 2017, con el objetivo de determinar la eficacia del Closantel 10% en el control de *Fasciola hepatica* con infección natural en bovinos de cuatro establos del valle de Cajamarca, mediante el test de reducción del conteo de huevos (FECRT) y por necropsia en conejos infectados experimentalmente con metacercarias procedentes de cepas de fasciolas de bovinos de los establos evaluados. Se utilizó un grupo de 15 animales por establo, la dosis fue de 10 mg/kg, suministrado vía oral, las heces fueron colectadas directamente del recto aproximadamente 100 g en el día cero y al día 28 posdosificación. Para realizar la prueba por necropsia, se utilizaron 20 conejos de edades entre 4 a 6 meses, criados en cautiverio, alimentados a base de concentrado, zanahoria y panca de choclo. Se formaron dos grupos de conejos homogenizados mediante hpg, 10 formaron el grupo Control (no dosificados) y 10 el grupo Closantel (dosificados), la dosis fue de 20 mg/kg, suministrada vía oral en el día 70 posinfección. La necropsia se realizó el día 15 posdosificación. En los resultados se determinó que la eficacia en bovinos mediante el FECRT fue de 99,40% en promedio y mediante la necropsia en conejos fue 100%. Se concluye que la *Fasciola hepatica* de bovinos de los cuatro establos evaluados del valle de Cajamarca, es susceptible al Closantel, debido a que la eficacia obtenida fue similar tanto en bovinos como en conejos.

Palabras clave: Bovinos, conejos, Closantel, eficacia, *Fasciola hepatica*.

ABSTRACT

The investigation was carried out between May 2016 and November 2017, with the objective of determining the efficacy of Closantel 10% in the control of *Fasciola hepatica* with natural infection in bovines of four farms of the valley of Cajamarca, by means of the test of reduction of the count of eggs (FECRT) and by necropsy in rabbits experimentally infected with metacercariae from fasciolas strains of cattle of the evaluated farms. A group of 15 animals was used per farm, the dose was 10 mg/kg, given orally, feces were collected directly from the rectum approximately 100 g on day zero and on day 28 postdose. To perform the test by necropsy, 20 rabbits aged 4 to 6 months, reared in captivity, fed with concentrate, carrot and corn husk were used. Two groups of rabbits homogenized by egg were formed, 10 formed the Control group (not dosed) and 10 the Closantel group (dosed), the dose was 20 mg/kg, given orally on day 70 post-infection. The necropsy was performed on the 15th day post-dosing. In the results, it was determined that the efficacy in cattle through the FECRT was 99,40% on average and by necropsy in rabbits it was 100%. It is concluded that the *Fasciola hepatica* of bovines of the four evaluated farms of the Cajamarca Valley is susceptible to Closantel, because the efficacy obtained was similar in both cattle and rabbits.

Key words: Cattle, rabbits, Closantel, efficacy, *Fasciola*.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La Región Cajamarca tiene una población de 724 478 bovinos, que representa el 14,1% del país; de éstos 72 603 son de la raza Holstein, 93 571 Brown swiss, 497 119 criollos; entre otras razas (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 y acompañada de trastornos nutritivos; cuyo agente causal es *Fasciola hepatica*, que afecta a numerosos mamíferos, tanto domésticos como silvestres y aun al hombre (Cordero *et al.*, 1999). Este parásito causa una de las enfermedades parasitarias más preocupantes en los rumiantes domésticos, estimándose que un cuarto de la población total de bovinos y ovinos del mundo pastorean en áreas donde el trematodo está presente y el medio ambiente es favorable para su mantenimiento y dispersión (Nari y Fiel, 1995).

Para el control de la fasciolosis, es necesario que la terapéutica debe ir dirigida, tanto contra las fasciolas adultas localizadas en los conductos biliares y contra las formas inmaduras en migración por el parénquima hepático, con el fin de restaurar la función hepática (Cordero *et al.*, 1999). En un área endémica el uso de antihelmínticos es la práctica más común empleada por el productor. 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 el

espectro de eficacia de la droga a usar sobre los diferentes estadios del trematodo (Kassai, 2002; Olaechea, 2004).

El valle de Cajamarca es una zona ganadera en la que se explota bovinos principalmente de la raza Holstein para producción láctea, bajo crianza extensiva. Sin embargo, las parasitosis, entre ellas la fasciolosis, es endémica, considerada como un problema en la salud animal y salud pública. Los ganaderos utilizan antiparasitarios como única alternativa de control, pero de manera irracional. Los bovinos son dosificados con una frecuencia de dos a tres meses, a veces con la misma base química y sin previo diagnóstico de laboratorio, es decir, hacen mal uso de los antiparasitarios. Todos los antihelmínticos son ampliamente conocidos por su nombre comercial y la industria farmacéutica oferta en el mercado indicando en las etiquetas que tienen una alta eficacia; pero, los ganaderos manifiestan que algunos antiparasitarios poco o nada hacen a su ganado, lo cual habría generado la presentación de resistencia de *Fasciola hepatica* a los antihelmínticos fasciolicidas, fenómeno que es corroborado por (Rojas *et al.*, 2013), quienes señalan que es resistente a Triclabendazol y Closantel en tres distritos de la región Cajamarca, debido a que la eficacia de éstos ha disminuido severamente en su control. Sin embargo, en un establo de bovinos del valle de Cajamarca, la eficacia del Closantel en dosis terapéutica de 10 mg/kg de peso corporal alcanzó el 100% (Urteaga y Rojas, 2015).

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). Este fenómeno 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).

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

Estos antecedentes de resistencia de *Fasciola hepatica* al Closantel en bovinos fuera del valle Cajamarca y la eficacia de 100% en un establo de bovinos del valle de Cajamarca, nos condujo a investigar en mayor profundidad, realizando pruebas de diagnóstico en más de un establo del valle Cajamarca; pero, ubicados en cuatro puntos cardinales; utilizando el test de reducción del conteo de huevos (FECRT) y la prueba por necropsia como técnica más sensible para verificar la susceptibilidad o resistencia de *Fasciola hepatica* al Closantel.

1.1. Objetivos de investigación

Objetivo general: Determinar la eficacia del Closantel en el control de *Fasciola hepatica* por infección natural en bovinos del valle de Cajamarca mediante el test de reducción del conteo de huevos (FECRT) y mediante la prueba por necropsia en conejos por infección experimental.

Objetivos específicos:

- ✓ Determinar la eficacia del Closantel frente a *Fasciola hepatica* por infección natural en bovinos del valle Cajamarca, mediante el test de reducción del conteo de huevos (FECRT).
- ✓ Determinar la eficacia del Closantel frente a *Fasciola hepatica* por infección experimental en conejos con metacercarias de cepas de *Fasciola hepatica* procedentes de bovinos del valle de Cajamarca, mediante la prueba por necropsia.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes teóricos de la investigación

En Holanda, en un grupo de 5 vacas y en otro de 7 novillas, con infección natural a *Fasciola hepatica*, se evaluó al Triclabendazol mediante la reducción del número de huevos, haciendo uso de la técnica coproscópica de Dorsman; se obtuvo una eficacia clínica en el grupo de vacas de -40%, -38.3% y 4.3% en los días 7, 14 y 21; respectivamente y en el grupo de novillas la eficacia clínica fue de 16.9%, 26.8% y 36,6% en los días 7, 14 y 21 posdosificación; respectivamente. Estos resultados indican la presencia de resistencia de *Fasciola hepatica* al Triclabendazol a dosis de 12 mg/kg de peso corporal (Moll *et al.*, 2000).

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 posdosificación indican la presencia de resistencia de *Fasciola hepatica* al Triclabendazol y altamente significativo en la reducción de huevos por parte del Nitroxinil y Closantel (Hanna *et al.*, 2015).

En Australia, se evaluó al Triclabendazol en seis granjas de bovinos localizados en los distritos de Leongatha, Maffra y Bairnsdale durante el año 2013. Para la evaluación se utilizó grupos de 10 bovinos positivos a *Fasciola hepatica* con infección natural, la dosis fue 12 mg/kg de peso corporal. Se aplicó el test de reducción del conteo de huevos (FECRT) y coproantígeno ELISA. La

eficacia obtenida mediante el FECRT fue de 0% al día 17 y 37 posdosificación, respectivamente; confirmándose la presencia del fenómeno de resistencia de *F. hepatica* al Triclabendazol (Elliott *et al.*, 2015).

En otro estudio realizado en el Sureste de Australia, 2013 se detectó resistencia de *Fasciola hepatica* en bovinos en tres localidades de siete localidades evaluados (seis localidades de bovinos productores de carne y una localidad productores de leche). Las técnicas utilizadas para la detección de resistencia antihelmíntica fue el test de reducción del conteo de huevos (FECRT), coproantígeno ELISA y comprobado a la necropsia. Se emplearon dos grupos de 15 bovinos cada uno por localidad con infección natural (un grupo control y otro tratado), la dosis del Triclabendazol fue de 12mg/kg de peso corporal, la evaluación post dosificación fue en el día 21. Seis bovinos con diagnóstico de resistencia positivos fueron sometidos a necropsia para confirmar la presencia de resistencia. Los resultados obtenidos fueron 88.4%, 19.9%, 78.9%; en cada una de las tres localidades; respectivamente y en la necropsia encontraron fasciolas adultas en los conductos biliares (Brockwell *et al.*, 2014).

En España, provincia de León, se determinó resistencia de *Fasciola hepatica* al Albendazol, Triclabendazol y Clorsulón en ovinos; mediante el FECRT; obteniendo eficacias menores al 95% (Vara *et al.*, 2006).

En el suroeste de Suecia, en tres rebaños de ganado vacuno de carne infectados naturalmente con *Fasciola 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 *Fasciola hepatica* al Triclabendazol. En un ensayo clínico, la producción de huevos se controló en los días 14 y 21 posdosificación y en el suero enzimas gamma-glutamil transpeptidasa (GGT) y transaminasa glutámico-oxalacética (GOT) en los días 0 y 21 posdosificación en 36 terneros tratados con Triclabendazol y Closantel. Los resultados mostraron una reducción del 100% en la producción de huevos frente al Closantel en los días 14 y 21 posdosificación, 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 *Fasciola 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 Brasil, Almirante Tamandaré, Paraná, se evaluó al Triclabendazol en ovinos y caprinos con infección natural mediante el FECRT, determinado una eficacia de 66,3% en ovejas y 57% en cabras (Oliveira *et al.*, 2008).

En Perú, Junín, distrito de Huertas, en bovinos se determinó resistencia de *Fasciola hepatica* al Triclabendazol y Albendazol con eficacias de 34,9% para el

Triclabendazol y 0% para Albendazol evaluado al día 28 posdosificación. El método empleado fue el de reducción del conteo de huevos (FECRT) (Chávez *et al.*, 2012)

En Perú, Cajamarca, se reportó por primera vez resistencia de *Fasciola 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 el FECRT 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 posdosificación, respectivamente. Luego, este fenómeno de resistencia fue confirmado en ovinos mediante la prueba controlada que se llevó a cabo en Argentina, para lo cual utilizaron 11 ovinos infectados artificialmente con 200

metacercarias obtenidas in vitro procedentes de un bovino que tuvo un hpg más elevado de *Fasciola hepatica* resistente del grupo experimental evaluado. Al día 106 posinfección, aleatoriamente formaron 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 posdosificación 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).

Sin embargo, en una reciente investigación realizada en el establo Tres Molinos, valle de Cajamarca, en un grupo de 60 bovinos, distribuidos en cuatro grupos de 15 animales cada uno, mediante el FECRT se evaluó cuatro principios activos en el control de *Fasciola hepatica*, encontrando los siguientes resultados: Triclabendazol 18,50%, Clorsulón 100%, Closantel 100% y Nitroxinil 99% de eficacia, respectivamente (Urteaga y Rojas, 2015).

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Fasciolosis

Definición

La fasciolosis es una enfermedad parasitaria que se debe a la presencia y acción de *Fasciola hepatica* en el parénquima y conductos biliares del hígado de los animales afectados. Es un proceso crónico que ocasiona trastornos digestivos y de la nutrición (Cordero *et al.*, 1999; Adams, 2003; Quiroz, 2011). Es una de las parasitosis más difundidas e importantes del ganado vacuno y ovino (Cordero *et al.*, 1999; Urquhart *et al.*, 2001).

Etiología

Fasciola hepatica en sus formas juveniles se localiza en el parénquima hepático y en su estado adulto en los conductos biliares y vesícula biliar (Borchert, 1964; Kassai, 2002), ocasionalmente se les encuentra en los pulmones del ganado y muy rara vez en algún otro órgano (Angus, 1983). Afecta a vacunos, ovinos, caprinos, camélidos sudamericanos, cerdos, equinos, conejos, cuyes, ardilla, venados, hombre y a otros animales silvestres (Borchert, 1964; Leguía, 1991; Quiroz, 2011). Como parásito errático puede estar en pulmones y tejido subcutáneo, principalmente en bovinos, equinos y en el hombre (Angus, 1983; Urquhart *et al.*, 2001; Kassai, 2002; Quiroz, 2011).

Taxonomía

Posición taxonómica de *Fasciola hepatica* (Referencia: Lapage, 1956).

Phylum: Platyhelminthes

Clase: Trematoda

Sub clase: Digenea

Familia: Fasciolidae

Género: *Fasciola*

Especie: *hepatica*

Morfología

El parásito adulto es aplanado, en forma de hoja de laurel, de color gris sucio hasta pardo. La parte anterior está provista de una prolongación cefálica de 3-4 mm de longitud, que hacia atrás se ensancha formando a modo de unos hombros. El cuerpo está revestido de espinas dirigidas hacia atrás, en la cara dorsal aproximadamente hasta la mitad y en la ventral hasta el último tercio. La ventosa bucal es terminal, de 1mm aproximadamente, y la ventral, situada a la altura de los hombros (Borchert, 1964). Su tamaño es variable, llegan a medir hasta 5 cm de largo por 1,5 cm de ancho (Angus, 1983; Urquhart *et al.*, 2001). Los órganos internos (aparato digestivo y reproductor) son ramificados, especialmente los ciegos, que son largos y con numerosos divertículos laterales. Los dos testículos ocupan la parte media corporal. El ovario y el útero están localizados anteriormente a los testículos, las glándulas vitelógenas formadas por finos folículos ocupan las márgenes laterales del trematodo (Soulsby, 1987; Cordero *et al.*, 1999).

Los huevos miden 130 a 150 μm por 63 a 90 μm , y no están embrionados cuando son eliminados (Soulsby, 1987), son operculados, su cáscara es relativamente delgada, está teñida por los pigmentos biliares en tonos amarillos hasta ligeramente pardos y en su interior entre numerosas células vitelinas granuladas, yace el núcleo o cigoto de color claro y descentralizado (Borchert, 1964; Ueno y Gonçalves, 1998). La cáscara está formada de quinona, que es la misma proteína que forma las paredes de la mayor parte de los huevos de los platelmintos y, por lo tanto, es de color amarillento (Angus, 1983; Urquhart *et al.*, 2001).

Ciclo de vida

Fasciola hepatica tiene un ciclo biológico indirecto, necesita de un hospedero intermediario que es un caracol donde se desarrollan y multiplican las etapas asexuadas (Quiroz, 2011). Los parásitos adultos depositan sus huevos en conductos biliares, pasan posteriormente al intestino y salen por las heces (Angus, 1983).

Una fasciola adulta pone entre 20 mil a 50 mil huevos/día. Es necesario un medio hídrico para continuar su desarrollo, como charcos potrereros inundables, canales de curso lento; etc. y preferentemente estar fuera de las heces (Cordero *et al.*, 1999; Urquhart *et al.*, 2001; Quiroz, 2011). En condiciones óptimas de temperatura (22 a 26°C) el miracidio rompe del huevo entre los 9 a 14 días, a los 15°C requiere alrededor de 6 semanas y a los 10°C cesa todo crecimiento. La luz y la hipertonidad del contenido del huevo son estímulos esenciales para que el huevo rompa. Se ha observado que los huevos pueden permanecer sin romper con el miracidio dentro aun a una temperatura de 22°C por más de un mes si están en condiciones de absoluta oscuridad. Cuando se expone a estos huevos a la luz, rompen en masa en pocas horas (Angus, 1983).

Los huevos inhiben su desarrollo por debajo de 10°C y por encima de 30°C y mueren cuando su humedad superficial desaparece (Nari y Fiel, 1995).

El miracidio es ciliado y mide 150 μm x 40 μm , abandona el huevo por el opérculo, para su posterior desarrollo es necesario un huésped intermediario debido a que no puede sobrevivir más de 24 horas en vida

libre. La acción fototrópica pasiva de la mancha ocular atrae al miracidio a la superficie del agua; nada de un lado a otro hasta que llega a un caracol del género *Lymnaea* (Quiroz, 2011). En el momento que el miracidio entra en contacto con el caracol, empieza a girar sobre su eje mayor y mediante de la acción histolítica de una secreción del miracidio, éste se desprende de los cilios que lo cubren durante el proceso de penetración, y una vez dentro del caracol se transforma en esporcisto joven que mide menos de 1 mm de largo, crece en el sistema digestivo del caracol y da origen a un número muy grande de redias, las cuales se trasportan hasta el hígado o hepatopáncreas, órgano de mayor valor nutritivo del caracol. Acá las redias pueden producir redias hijas las cuales llegarán a la fase de cercarias (Angus, 1983).

La cercaria es el último estado larvario que parasita al caracol, abandona el hepatopáncreas, pasa al intestino posterior del caracol y es expulsada. Una vez fuera, requiere una superficie firme, que por lo general es una planta, y se adhiere a ella, inmediatamente forma un quiste y se transforma en metacercaria, luego de dos a tres días de haberse enquistado, ésta estará en condiciones óptimas para infectar al hospedador definitivo (Angus, 1983).

La infección se da durante el pastoreo, también es posible en estabulación, mediante el agua de bebida o al administrar henos o ensilados mal realizados; en vacunos se ha descrito casos de transmisión placentaria. El desenquistamiento de la metacercaria tiene lugar en dos fases. La primera o de activación acontece 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 ocurre en el intestino delgado, por debajo de la desembocadura del conducto colédoco y es desencadenada por la bilis y el propio parásito. Tras el desenquistamiento las jóvenes fasciolas atraviesan la pared intestinal, pasan a la cavidad peritoneal desde allí alcanzan el hígado. A las 90 horas comienzan la penetración de la cápsula de Glisson, en este momento, las fasciolas tienen forma lanceolada y miden de 1-2 mm. El parásito emigra por el parénquima hepático asentándose definitivamente en los conductos biliares a partir de los 40 días aproximadamente, donde alcanzan la madurez sexual. Los primeros huevos aparecen en las heces del hospedador a partir de 55-56 días desde la ingestión de las metacercarias (Cordero *et al.*, 1999). En conejos, a los 56 días post infección (Quispe, 2000).

Epidemiología

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

La epidemiología está estrechamente relacionado con aquellos factores que controlan la dinámica poblacional de los caracoles y la biología del parásito, éstos son: Factores del parásito, factores del hospedero intermediario (caracoles), factores del medio ambiente y factores del hospedador definitivo (Leguía, 1991):

Factores del parásito (*Fasciola hepatica*), éste infecta a un rango amplio de especies domésticas y silvestres. En ovinos puede vivir hasta 11 años y poner de 20 mil a 50 mil huevos/día. Cada miracidio puede generar entre 600-1000 cercarias. La metacercaria es muy resistente a los factores adversos del medio ambiente y bajo condiciones de humedad y bajas temperaturas (0-4°C) son capaces de supervivir hasta un año. Sin embargo, la desecación prolongada o las hidrataciones y deshidrataciones alternadas son letales para su viabilidad. Se ha observado que Rye grass infestado con metacercarias y ensilado bajo condiciones húmedas mantuvo su infectividad (Leguía, 1991; Kassai, 2002; Quiroz, 2003).

Factores del hospedero intermediario. Los caracoles *Lymnaea* tienen una alta capacidad reproductiva que puede producir hasta 25 mil descendientes en 12 semanas si las condiciones son favorables, actúan como hemafroditas, son semianfibios, su hábitat permanente está constituido por las riberas de riachuelos, arroyos, acequias o canales de curso lento, pantanos, puquios, charcadas, oconales, ojos de agua, pastizales húmedos, etc; requieren de suelo arcilloso con pH ligeramente ácido. Los caracoles de todas las edades son susceptibles de ser infectados, siendo los más grandes más eficientes en la producción de cercarias. Bajo condiciones adecuadas de temperatura y humedad ambiental se reproducen rápidamente, pero en situaciones adversas principalmente en sequía, se introducen en el subsuelo húmedo sufriendo periodos prolongados de estivación o hibernación, donde sus procesos metabólicos llegan a paralizarse completamente y en esta forma pueden

supervivir condiciones de sequedad hasta por un año (Leguía, 1991; Cordero *et al.*, 1998).

Factores del medio ambiente. Una temperatura mínima (promedio día/noche) de 10°C es necesario para que: Los huevos incuben y eclosionen, para que los estadios larvarios dentro del caracol desarrollen, para que emerjan las cercarias del caracol, para que los caracoles desarrollen y se reproduzcan; en tanto que temperaturas inferiores a 10°C y superiores a 30°C inhiben o retardan los procesos antes indicados. La humedad expresada como precipitación pluvial o humedad del medio ambiente es también muy importante para la incubación de los huevos, dispersión de los miracidios en busca de los caracoles, salida y dispersión de las cercarias, sobrevivencia de las metacercarias, desarrollo de los estadios larvarios dentro del caracol, desarrollo y reproducción de los caracoles. En general, se puede decir que la temperatura ambiental determina la estacionalidad de la enfermedad y la humedad la rigurosidad o gravedad con que ésta se presenta (Leguía, 1991; Urquhart *et al.*, 2001).

En el Perú abarca todos los pisos altitudinales, pero con menor frecuencia la selva baja. Siendo más frecuente en la región quechua donde se puede encontrar hatos con variada tasa de infección desde pocos casos hasta 100% de infección (Rojas, 1990). En nuestro país, la situación es muy compleja debido a la gran variación de las condiciones climáticas y ambientales en las diferentes regiones, muy distinto a otros países donde es posible con aproximación predecir la incidencia o prevalencia para tomar medidas de control. Así en la sierra, zona endémica de la enfermedad, se han descrito hasta cuatro pisos altitudinales (región yunga, quechua, suni y

puna o altiplano). La región quechua está ubicada entre 2500-3500 msnm, tiene un clima templado con temperaturas medias anuales de 12-15°C, lluvias intensas, se explota mayormente ganado vacuno. En esta región se encuentran los valles de Cajamarca, Mantaro, Urubamba, Vilcanota, Callejón de Huaylas, Huanta, Huamanga, etc. que constituyen zonas endémicas de la distomatosis (Rojas, 1990; Leguía, 1991).

Factores del hospedero definitivo. Los hospederos más importantes de la *Fasciola hepatica* en el Perú son los ovinos y vacunos, tasas de infección entre el 20 al 100% han sido reportadas en varias zonas geográficas de la sierra, especialmente en los departamentos de Junín, Cajamarca, Cuzco, Ayacucho, Abancay, Cerro de Pasco, y Huánuco. El ovino y la alpaca son más susceptibles a la infección que el vacuno por el hábito de pastorear a ras del suelo que favorece la ingestión de metacercarias, el pequeño tamaño del hígado que no soporta infecciones altas y la deficiente respuesta inmune, así mismo animales de toda edad son afectados, siendo los ovinos y terneros más susceptibles a infecciones agudas, en tanto que en vacunos mayores de un año son más resistentes donde el cuadro más común es la fasciolosis crónica. Por otro lado, es frecuente la presentación de infecciones agudas en cuyes y conejos alimentados con pastos infestados en los valles del Mantaro, Cajamarca y Cuzco. También los équidos (caballos, asnos, mulas) son afectados, pero las cifras reportadas de prevalencia son bajas (3%). También contribuyen a la propagación del trematodo en la contaminación del medio ambiente la presencia de reservorios silvestres como el venado, vizcachas, cuyes silvestres, etc. (Leguía, 1991).

Patogenia

El poder patógeno de *Fasciola hepatica* varía de acuerdo con algunos factores; especie de huésped, cantidad de metacercarias ingeridas, si es una primera infección o son reinfecciones (Quiroz, 2011). El curso de la patogenia de la fasciolosis depende del número de fasciolas que invaden al hígado y está asociada con la acción histiófaga de las formas parasitarias inmaduras migrantes en el parénquima hepático y, posteriormente, con la actividad hematófaga de las fasciolas adultas en los conductos biliares. La fasciolosis cursa con anemia, hipoalbuminemia e hiperglobulinemia y, dependiendo de la intensidad y duración de la infección con hiper o hipoproteinemia. La anorexia y la pérdida de peso o el retraso del crecimiento son también características de la infección por *Fasciola hepatica*. El origen hemorrágico de la anemia e hipoalbuminemia se ha comprobado mediante el marcado de glóbulos rojos, con radioisótopos, se ha calculado la pérdida hemática diaria por cada *Fasciola* en aproximadamente 0,5 a 1 mL de sangre, además corroboran los estudios eritrocínicos que demuestran la relación entre la anemia e hipoalbuminemia y el paso de sangre al aparato digestivo por vía biliar, lo que represente una pérdida considerable de glóbulos rojos y proteínas (Cordero *et al.*, 1999).

Lesiones

Fasciola hepatica en el ganado vacuno, la reacción orgánica es más enérgica que en el ovino, produciéndose una intensa reacción tisular, fibrosis y calcificación de los conductos biliares, que actuando como una

barrera mecánica confieren una significativa resistencia frente a futuras reinfecciones. Se ha demostrado que una infección única suele resolverse espontáneamente con un periodo de patencia no superior a 30-40 semanas (Cordero *et al.*, 1999; Nari y Fiel, 1995). Entre las lesiones ocasionadas resaltan la fibrosis hepática y la colangitis hiperplásica.

La fibrosis hepática es un proceso complejo en el que intervienen al menos cuatro mecanismos: La fibrosis posnecrótica se produce como resultado de la reorganización de los trayectos migratorios originados por las fasciolas; se puede observar en todo el hígado, pero es más frecuente en el lóbulo ventral por ser preferentemente éste el lugar de entradas de las fasciolas. Las áreas de fibrosis son irregulares y destruyen la arquitectura hepática. Posiblemente, para compensar la distorsión, existen bandas de fibrosis que conectan los trayectos con los espacios porta adyacentes, las venas hepáticas e incluso la cápsula de Glisson. La fibrosis isquémica es el resultado de la reconstrucción de las áreas de necrosis coagulativa y microtrombos originados por las fasciolas en los sinusoides hepáticos. Se observa con más frecuencia en el lóbulo ventral y se localiza adyacente y paralela a los trayectos producidos por las fasciolas. La fibrosis peribiliar se produce por la intensa erosión de la mucosa que ocasionan las actividades de las fasciolas en los conductos biliares provocando una enérgica reacción inflamatoria. El movimiento de los parásitos extiende la fibrosis a casi todo el árbol biliar. En ocasiones, se observa fibrosis peribiliar en conductos muy pequeños para albergar fasciolas. Y la fibrosis monolobular consiste en la conexión de los espacios porta con tejido fibrótico. Macroscópicamente, se observan filamentos blanquecinos

que demarcan el lóbulo hepático afectado a todo el hígado (Quiroz, 2011; Cordero *et al.*, 1999).

Colangitis hiperplásica es el resultado del traumatismo originado por los trematodos adultos en la mucosa de los conductos biliares. Las fasciolas producen con sus espinas y ventosas una intensa irritación de las células epiteliales, que como reacción defensiva modifican su estructura. Ante la extensa erosión y necrosis de la mucosa biliar se desarrolla una intensa reacción inflamatoria que interesa a la lámina propia adyacente. La mucosa de los conductos biliares, incluso la no asociada directamente con los parásitos, se engrosa y está hiperplásica. La rápida proliferación celular origina células poco diferenciadas que cubren la lámina propia congestiva y edematosa. En estas áreas hay también un marcado infiltrado celular compuesto por células plasmáticas, linfocitos, macrófagos, eosinófilos y mastocitos. La mucosa biliar hiperplásica es hiperpermeable a las macromoléculas. Se ha observado que los complejos de unión entre las células se abren, permitiendo el paso de las proteínas plasmáticas desde la circulación al árbol biliar. En el ganado vacuno, es característica la calcificación distrófica de los conductos biliares que aparecen dilatados, engrosados y calcificados, desde las 20 semanas posinfección aproximadamente (Quiroz, 2011; Cordero *et al.*, 1999).

Clínica

La fasciolosis puede presentar tres formas clínicas: Aguada, subaguda y crónica; cuya aparición está relacionada con la época del año, la disponibilidad de metacercarias en los pastos y el número de metacercarias

ingeridas. Esta clasificación se basa fundamentalmente en los hallazgos de necropsia y depende del número de parásitos que se encuentren en el hígado y de su estado de desarrollo.

En bovinos, la fasciolosis aguda y subaguda también puede presentarse, pero, el síndrome clínico más frecuente es la forma crónica y afecta principalmente a los animales jóvenes. Los síntomas más característicos son pérdida de peso, anorexia y palidez de las mucosas (Cordero *et al.*, 1999). En vacas, también se puede notar diarrea y estreñimiento con apetito variable, disminución de la producción de leche, puede haber abortos. Debido a la disminución del estado nutricional hay reducción del proceso reproductivo y en consecuencia los periodos entre parto y parto son más prolongados (Quiroz, 2011). La intensa diarrea acompañada con pérdida de peso y anemia está relacionada al complejo fasciolosis/ostertagiosis (Cordero *et al.*, 1999).

Diagnóstico

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

1999). La técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel en bovinos tiene una sensibilidad de 93%, especificidad de 91% (Rojas *et al.*, 2013).

Control

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

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

Tratamiento

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

Un antihelmíntico se clasifica como muy eficaz cuando la reducción del conteo de huevos es superior al 98%, es eficaz cuando está entre el 90-98%, moderadamente eficaz cuando está entre 80-89 y es insuficientemente activo cuando está por debajo del 80%; respectivamente (Kassai, 2002).

En Cajamarca, la frecuencia de uso de fasciolicidas es cada tres o cuatro meses sin una adecuada orientación por expertos. Los antihelmínticos fasciolicidas más utilizados son el Clorsulón combinado con Ivermectina, Nitroxinil y Triclabendazol; información emitida por los responsables de los establos estudiados (Anexo 10, Encuestas 1-4).

2.2.2. Closantel

Descripción

El Closantel, pertenece a la familia salicilanilida.

Mecanismo de acción o farmacodinamia

Su mecanismo de acción es 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. En una sola dosis 10 mg/kgpv, vía oral, su eficacia es de 100% contra *Fasciola hepatica* adulta (Basso *et al.*, 1987; Sumano y Ocampo, 1997; Adams, 2003).

Farmacocinética

El Closantel se une a las proteínas del plasma, principalmente a la albúmina, y tiene una prolongada vida media terminal de 14,5 días. Aumenta la eficacia contra *Fasciola 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). Se detecta en plasma hasta 90 días post 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).

Dosis

En bovinos y ovinos la dosis terapéutica es de 10 a 15 mg/kgpv. En conejos 20mg/kgpv, vía oral (Sumano y Ocampo, 2006; Basso *et al.*, 1987; Adams, 2003).

Tolerancia

Puede administrarse a hembras en cualquier etapa de gestación y animales muy debilitados (Sumano, 1996).

Toxicidad

Con una dosis 5 veces mayor que la terapéutica se observan signos de toxicidad.

2.2.3. Resistencia a los antihelmínticos

Los helmintos poseen mecanismos de detoxificación que se basan en procesos oxidativos generados por enzimas de Fase I (Flavin monooxigenasa (FMO) y Citocromo P₄₅₀) aunque inicialmente no debería descartarse la participación de otras enzimas de Fase I y II y/o proteínas de membrana tales como la Glicoproteína P (Gp P). La sobreexpresión de algunos de estos sistemas podrían explicar la manifestación de resistencia a dicha droga. Al respecto, se realizaron estudios que demuestran que en *Fasciola hepatica* la resistencia a Triclabendazol es al menos debida a una respuesta multienzimática con sobreexpresión de varias enzimas detoxificativas tales como FMO (Fase I) y Glutación S-Transferasa, GST

(Fase II). Sin embargo, a pesar de los resultados obtenidos, esto, aún no es concluyente (Solana, 2012).

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 en sistemas pastoriles. En forma periódica, se publican revisiones abarcativas del problema involucrando información de campo, aspectos moleculares y genéticos de la resistencia y, a su vez, sugiriendo medidas y acciones tendientes a disminuir el riesgo en aquellos establecimientos ganaderos 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 trematodos y cestodos 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:

- a) **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;
- b) **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;
- c) **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:

- 1) 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;

- 2) Alteración de sistemas enzimáticos necesarios para que se produzca el efecto farmacológico de la droga;
- 3) 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;
- 4) variaciones en diferentes procesos celulares que compensan o contrarrestan el efecto inducido por un fármaco (Márquez, 2007).

Desarrollo de la resistencia

Para minimizar las consecuencias de los efectos desbastadores 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, ejemplo 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).

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 (FECRT) 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 veterinarios de campo y ganaderos sobre la resistencia frente a los antihelmínticos y su control (Márquez, 2007; Steffan *et al.*, 2014).

2.2.4. Pruebas de evaluación antihelmíntica en *Fasciola hepatica*

a). Prueba coprológica o test de reducción del conteo de huevos (FECRT)

Para realizar esta prueba en fasciolosis bovina se recomienda un número mayor de animales respecto a la prueba crítica o necropsia. Se debe usar entre 15-20 animales de un área contaminada para la aplicación del antihelmíntico y el mismo número como grupo control. La selección de los animales debe ser aquellos que tienen mayor número de huevos por gramo de heces (hpg) determinados por los métodos de sedimentación.

Siete días antes o el mismo día de la administración del antihelmíntico, hacer un hpg tanto del grupo a tratar como al grupo control. Cuatro o cinco semanas posdosificación, 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 4 a 5 semanas de la dosificación (Ueno y Gonçalves, 1998).

b). Prueba crítica o de necropsia

Para la comprobación de eficacia de un antihelmíntico contra la fasciolosis se usa la técnica de necropsia, 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 (Ueno y Gonçalves, 1998).

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

Después de aproximadamente 60 días posinfección con metacercarias de *Fasciola hepatica* comienzan aparecer los huevos de adultos. Siete a diez días después, se aplica el antihelmíntico a los animales del grupo a tratar, previamente debe de registrarse el hpg predosificación.

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

Luego, hacer la necropsia para detectar los parásitos que pueden encontrarse en el hígado. Esto se hace para comprobar la acción antihelmíntica sobre las formas adultas y ver su acción letal de los parásitos (Ueno y Gonçalves, 1998).

CAPÍTULO III

DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS

3.1. Hipótesis de la investigación

El Closantel es eficaz en el control de *Fasciola hepatica* en bovinos del valle de Cajamarca.

Consecuencias contrastables de la hipótesis:

3.1.1. Si se aplica Closantel vía oral en dosis terapéutica de 10 mg/kg a un grupo de bovinos (n =15), naturalmente infectados con *Fasciola hepatica*, entonces su eficacia es igual o mayor al 95%, expresada a través del test de reducción del conteo de huevos (FECRT).

3.1.2. Si se aplica Closantel vía oral en dosis terapéutica de 20 mg/kg a un grupo de conejos (n=10), infectados experimentalmente con metacercarias de cepas de *Fasciola hepatica* provenientes de bovinos de los establos estudiados del valle Cajamarca, entonces su eficacia es igual o mayor al 95% expresada en el número de fasciolas adultas.

3.2. Diseño Metodológico

El estudio es de naturaleza aplicada, con un diseño experimental y de nivel analítico, explicativo y transversal.

3.3. Localización

Con la finalidad de determinar la eficacia del Closantel en la eliminación de *Fasciola hepatica* por infección natural en bovinos mediante el test de reducción del conteo de huevos (FECRT), la investigación se realizó en cuatro establos de bovinos de producción láctea, ubicados en cuatro puntos cardinales del valle de Cajamarca: En el Este, el establo Tartar; en el Sur, el establo La Victoria; en el Nor Oeste, el establo Los Alpes y en el Nor Este, el establo San Vicente (Fotos 1-4, anexo 1).

El manejo de los conejos infectados experimentalmente con metacercarias provenientes de cepas de *Fasciola hepatica* de bovinos del valle de Cajamarca para determinar la eficacia del Closantel mediante la prueba por necropsia, se realizó en el galpón de cuyes de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Ciudad Universitaria (Foto 8, anexo 1).

Las pruebas coproparasitoscópicas y obtención de fasciolas adultas en hígados de conejos, se realizó en el laboratorio de Parasitología Veterinaria - Universidad Nacional de Cajamarca (Fotos 10-12, anexo 1).

Cajamarca, presenta las características geográficas y climatológicas siguientes: (*)

- Altitud : 2 536 msnm
- Latitud sur : 7°10'
- Longitud oeste : 78°30'
- Clima : Templado seco
- Temperatura mínima promedio anual : 8,3°
- Temperatura máxima promedio anual : 22,6°C
- Temperatura promedio anual : 15,6°C
- Precipitación pluvial anual : 707,4 mm
- Humedad relativa promedio anual : 63,9%
- Presión barométrica : 740,5 milibares

3.4. Población, tamaño de muestra, unidad de análisis

Población de estudio:

- ✓ Todos los bovinos positivos a *Fasciola hepatica* por infección natural, de los cuatro establos del valle Cajamarca: La Victoria, San Vicente, Tartar y Los Alpes.
- ✓ Todos los conejos positivos a *Fasciola hepatica* por infección experimental con metacercarias de cepas de fasciolas provenientes de bovinos de uno de los establos evaluados del valle Cajamarca, manejados en el galpón de cuyes de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Cajamarca.

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

Tamaño de muestra:

- ✓ Una muestra de 60 bovinos positivos por infección natural a *Fasciola hepatica*, distribuidos a razón de 15 animales por establo.
- ✓ Una muestra de 20 conejos positivos por infección experimental a *Fasciola hepatica*, distribuidos a razón de 10 animales grupo control y 10 grupo medicados con Closantel.

Unidad de análisis:

- ✓ Todas las muestras de heces provenientes de bovinos positivos por infección natural a *Fasciola hepatica*, para determinar el número de huevos por gramo de heces, mediante la prueba del conteo de huevos por gramo de heces (FECRT).
- ✓ Todos los hígados provenientes de conejos positivos por infección experimental a *Fasciola hepatica*, para determinar el número de fasciolas adultas mediante la prueba por necropsia.

3.5. Descripción del diseño metodológico:

Prueba coprológica: Test de reducción del conteo de huevos (FECRT)

Para ello, se utilizó 15 bovinos por grupo/establo (n = 15). En el mismo grupo se registró un hpg predosificación que se consideró el día cero y otro en el día 28 posdosificación.

Prueba por necropsia. Se utilizaron 20 conejos, de los cuales aleatoriamente se formaron dos grupos positivos a *Fasciola hepatica* mediante infección experimental, con hpg homogéneos estadísticamente (Anexo 10). Diez

animales conformaron el grupo control no medicado, con un hpg total de 797 y diez animales grupo medicado con Closantel, con un hpg total de 797 (Cuadro 5, anexo 9).

En relación a la descripción del diseño de contrastación de la hipótesis, la investigación se desarrolló con dos experimentos:

Primer experimento:

Prueba coprológica: Test de reducción del conteo de huevos = FECRT

En cada establo donde se investigó, el test se realizó en dos etapas de trabajo: En campo y en laboratorio:

Trabajo en Campo: Se llevó a cabo tres visitas: (Fotos 5-7, anexo 1)

Primera visita. Se realizaron las siguientes actividades:

- ✓ **Identificación de los animales.** Se lo obtuvo del arete (nombre o código).
- ✓ **Estimación del peso vivo.** Se determinó con cinta bovinométrica para ganado Holstein.
- ✓ **Recolección de muestras de heces.** Se extrajo directamente del recto en aproximadamente 100 g y fue en primeras horas de la mañana después del ordeño.

Segunda visita. En la segunda visita, se dosificó con Closantel en dosis de 10 mg/kg de peso vivo, vía oral, por única vez (día cero).

Tercera visita. Se realizó el día 28 posdosificación. La extracción de la muestra de heces fue similar al primer muestreo predosificación.

Trabajo de Laboratorio:

La carga parasitaria se determinó mediante la técnica de Sedimentación Natural Modificada por Rojas y Torrel (Fotos 19-24, anexo 1).

Materiales y equipo:

- ✓ Balanza de precisión.
- ✓ Mortero de madera (utilizado solamente para triturar heces de conejo).
- ✓ 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 ½pulg.).

Protocolo:

- ✓ De la muestra total de heces de bovino (aproximadamente 100 g), en un vaso de plástico de 400 mL de capacidad, pesar 1 g de heces. En conejos del total de la muestra de heces obtenida, aproximadamente 20 g fue triturada en un mortero de madera y de esta muestra se pesó 1 g.
- ✓ 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 260 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. Fuente: (Rojas, *et al.*, 2013).

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, teniendo en cuenta que para realizar el análisis coproparasitológico se utilizó como muestra de heces 1 g.

Formación del grupo experimental a evaluar por establo. Fueron seleccionados 15 bovinos que tuvieron un hpg mayor a 1.

Cálculo de la dosis terapéutica del Closantel. Se obtuvo multiplicando el peso vivo y el resultado se dividió entre la concentración del fasciolicida. La cantidad del antiparasitario para dosificar fue en mL.

Registro de datos. Los datos obtenidos de la investigación fueron registrados en un formato (Cuadros 1-7, anexo 9).

Cálculo del porcentaje de eficacia del Closantel (Ueno y Gonçalves, 1998).

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

$$(C = A - B)$$

Donde:

E: Eficacia (expresada en porcentaje).

C: Es la diferencia de huevos que resultan de la predosificación y posdosificación.

A: Es el número de huevos encontrados antes de la aplicación del antihelmíntico (predosificación).

B: Es el número de huevos encontrados día 28 posdosificación.

Segundo experimento:

Prueba de Necropsia. (Conteo de fasciolas adultas obtenidas en conductos biliares del hígado de conejos).

El desarrollo de este experimento tuvo dos etapas: Preexperimental y experimental:

Etapas preexperimental

Se adquirieron 20 conejos con edades entre 4 a 6 meses. Individualmente fueron criados en jaulas con malla metálica con un área de 0,35 m² (0,5 m x 0,7m) con una altura de 0,5 m; la base de la jaula fue con malla metálica y estuvo a una altura de 0,5 metro al piso (Foto 8, anexo 1).

Su alimentación diaria fue a base de 125 g de concentrado, una zanahoria mediana, 5 pancas de choclo y agua aproximadamente 200 mL; desde el inicio hasta el final del experimento, para asegurar la no reinfección con cepas de fasciolas distintas a las evaluadas en los bovinos de establos del valle Cajamarca.

En la primera semana de esta etapa, fueron evaluados mediante análisis coprológico para saber si están o no con infección natural a *Fasciola hepatica*; además se tomó la decisión de dosificarlos con Clorsulón+Ivermectina (dosis de 2 mg/kg para Clorsulón y de 0,2 mg/kg para Ivermectina), para eliminar posibles fasciolas adultas en periodo prepatente localizadas en conducto biliar y nematodos. Esta etapa tuvo un periodo de tiempo de 10 semanas para garantizar que los animales estuvieran libres de *Fasciola hepatica*; lo cual fue corroborado mediante el análisis coproparasitológico en el día 70.

Paralelamente, en esta etapa también se realizó la producción *in vitro* de metacercarias de cepas de fasciolas del ganado bovino del establo Los Alpes del valle de Cajamarca. Se inició con la extracción de heces de bovinos que habían sido evaluados con Closantel después de tres meses posdosificación, previo análisis coprológico mediante la técnica de sedimentación, se eligió al animal que tuvo mayor carga parasitaria (hpg=156), a este bovino en primeras horas de la mañana se extrajo directamente del recto aproximadamente 1000 g. En el laboratorio se realizó el aislamiento de miles de huevos de *Fasciola hepatica* e incubados a 27°C por 10 días (Anexo 3). Luego, se procedió a infectar caracoles *Lymnaea* con los miracidios obtenidos (Anexo 4), transcurridos dos meses posinfección se realizó la obtención de metacercarias (Anexo 5).

Etapa experimental.

En el día 71 de la etapa preexperimental (día cero para la etapa experimental), se procedió a la infección experimental de todos los conejos. Previamente, por un periodo de siete días todos los animales fueron adiestrados para tomar agua suministrado con la pipeta Pasteur.

Cada conejo recibió vía oral 32 metacercarias mezcladas con 0,5 mL de agua que estuvieron colocadas en un microtubo de polietileno con tapa, este procedimiento se realizó haciendo uso de la pipeta Pasteur (Foto 17, Anexo 1).

Las metacercarias fueron obtenidas en el Laboratorio de Inmunología e Investigación “Grupo de investigación de trematodos” Facultad de Ciencias Veterinarias-Universidad Nacional de Cajamarca (Fotos 15-16, anexo 1). La procedencia de los huevos fue de cepas de fasciolas de bovinos del establo Los Alpes del valle de Cajamarca.

A los 48 días posinfección (p.i), comenzaron aparecer los huevos de fasciolas en el 20% de conejos. En el día 57 (p.i), todos los conejos estuvieron positivos a la presencia de huevos del trematodo. Se esperó 13 días más (día 70 p.i), con la finalidad que todas las fasciolas llegarían a los conductos biliares. En este momento fueron homogenizados estadísticamente dos grupos de 10 conejos cada uno, mediante carga parasitaria medida en huevos por gramo de heces (hpg total de 797 para cada grupo). Al azar se designó un grupo para el control y otro grupo para evaluar al Closantel (Cuadro 5, anexo 9). Este protocolo se adecuó al referido por (Ueno y Gonçalves, 1998).

En el grupo designado para evaluar al Closantel 10%, se aplicó una dosis de 20 mg/kg, vía oral, y los otros 10 conejos (Grupo control) no recibieron medicación (Foto 9, anexo 1).

En el día 15 posdosificación se hizo la necropsia de los 20 conejos, para obtener fasciolas adultas que se encontraron en conductos biliares del hígado, para lo cual se practicó cortes longitudinales en conductos biliares (Protocolo referido por Ueno y Gonçalves, 1998). (Anexo 8. Fotos 10-12, anexo 1).

Los análisis coprológicos se realizaron mediante la técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel, en bovinos tiene una sensibilidad de 93% y una especificidad de 91% (Rojas, *et al.*, 2013).

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

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

Donde:

E= Porcentaje de eficacia

C= promedio de vermes adultos en el grupo control

T= promedio de vermes adultos en el grupo tratado

Fuente: (Kassai, 2002).

3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos. (Cuadros 5-7, anexo 9).

- 3.6.1. Análisis de registros: - Reportes de datos obtenidos en campo.
- Reportes de laboratorio.
- 3.6.2. Observación: - Guía de observación (protocolos: Anexos 2-8).
- Pruebas estandarizadas de Laboratorio:
) Técnica de sedimentación natural modificada por Rojas y Torrel para determinar el número de huevos por gramo de heces (Pág. 40).
) Técnica de necropsia para contar el número de fasciolas adultas presentes en conductos biliares hepáticos (Anexo 8).
- 3.6.3. Encuesta: - Cuestionario, éste está dividido en dos aspectos: Manejo de animales y manejo de antiparasitarios (Encuestas 1-4, anexo 11).

3.7. Análisis estadístico

Los datos obtenidos de la investigación fueron analizados mediante una estadística descriptiva, para lo cual se utilizó: Media aritmética, prueba de Z de proporciones, Prueba de T de Student, tablas, cuadros (Anexo 10). Se utilizó el paquete estadístico SPS versión 25.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1. Eficacia del Closantel 10% a dosis de 10 mg/kg en el control de *Fasciola hepatica* en bovinos del establo La Victoria-UNC, ubicado en el Sur del valle Cajamarca; mediante el FECRT

N° Animales	Identificación	Día 0	Día 28
		Pre-dosificación hpg	Pos-dosificación hpg
1	210 - 22	2	0
2	908	2	0
3	210 - 25	7	0
4	210 - 5	3	0
5	210 - 20	2	0
6	210-3	7	0
7	210 - 11	3	0
8	210 - 6	10	0
9	210 - 17	5	0
10	607	5	0
11	411	4	0
12	213-12	5	0
13	214-5	4	0
14	214-12	4	0
15	211-18	9	0
hpg:		72	0
% Eficacia:		100	

Tabla 2. Eficacia del Closantel 10% a dosis de 10 mg/kg en el control de *Fasciola hepatica* en bovinos del establo Los Alpes, ubicado en el Nor-Oeste del valle Cajamarca., mediante el FECRT

N° Animales	Identificación	Día 0	Día 28
		Pre-dosificación hpg	Post-dosificación hpg
1	Karen	13	0
2	Esther	7	0
3	Ines	3	0
4	Mirian	2	0
5	Marcela	4	0
6	Teresita	2	0
7	Raquel	3	0
8	Jakie	2	0
9	Danixa	41	2
10	Alena	2	0
11	Olinda	27	0
12	Valentina	3	1
13	Luna	2	0
14	Anny	2	0
15	Alma	2	0
hpg:		115	3
% Eficacia:		97,40	

Tabla 3. Eficacia del Closantel 10% a dosis de 10 mg/kg en el control de *Fasciola hepatica* en bovinos del establo Taratar-UNC, ubicado en el Este del valle Cajamarca., mediante el FECRT

N° Animales	Identificación	Día 0 Predosificación hpg	Día 28 Postdosificación hpg
1	Pinta barrosa	3	0
2	Rosa	12	0
3	Julia	5	0
4	July	7	0
5	Juliana	2	0
6	Jovita	4	0
7	Nancy	8	0
8	Emilia	7	0
9	Joana	2	0
10	Jaira	8	0
11	Nila	13	0
12	Dana	13	0
13	Maya	12	0
14	Noelia	31	0
15	Nona	5	0
hpg:		132	0
% Eficacia:		100	

Tabla 4. Eficacia del Closantel 10% a dosis de 10 mg/kg en el control de *Fasciola hepatica* en bovinos del establo San Vicente, ubicado en el Nor-Este del valle Cajamarca., mediante el FECRT

N° Animales	Identificación	Día 0	Día 28
		Pre dosificación hpg	Post dosificación hpg
1	Paula	17	0
2	Shole	12	0
3	Karen	10	0
4	Yulu	8	0
5	Judit	7	0
6	Sofia	6	0
7	Fedra	4	0
8	Ternera Negra	4	0
9	Detallosa	6	0
10	Dayana	3	0
11	Sara	3	0
12	Gaby	2	0
13	Gitana	2	0
14	Toña	2	0
15	Nayu	2	0
hpg:		88	0
% Eficacia:		100	

Tabla 5. Eficacia del Closantel 10% a dosis de 10 mg/kg en el control de *Fasciola hepatica* en bovinos del valle Cajamarca, mediante el FECRT

Establo	Animales (N°)	Día 0 Predosificación hpg	Día 28 Posdosificación hpg	Eficacia (%)
La Victoria	15	72	0	100.00
San Vicente	15	115	3	100.00
Tartar	15	132	0	100.00
Los Alpes	15	88	0	97,40
Eficacia Promedio:				99,40

Tabla 6. Eficacia del Closantel 10% a dosis de 20 mg/kg en el control de *Fasciola hepatica* en conejos infectados experimentalmente con metacercarias obtenidas de cepas de fasciolas de bovinos del valle Cajamarca, mediante la prueba por necropsia en el día 15 posdosificación

Animales (N°)	Grupo control		Grupo tratado	
	hpg	Fasciolas en hígado (N°)	hpg	Fasciolas en hígado (N°)
1	168	6	0	0
2	286	10	1	0
3	68	3	1	0
4	184	4	0	0
5	206	3	0	0
6	14	1	0	0
7	85	2	0	0
8	7	1	0	0
9	99	3	0	0
10	89	3	0	0
:	1 206	36	2	0
Promedio:		3,6		0
Eficacia:			100%	

La elección del fármaco, debe basarse en el conocimiento de su eficacia frente a las diferentes fases del desarrollo de *Fasciola hepatica* y la epidemiología local, que nos permite conocer cuándo es mayor el riesgo de infección (Cordero *et al.*, 1999). Sin dudas, el más simple, efectivo, económico y práctico de todas las técnicas de

diagnóstico es el test de reducción del conteo de huevos (FECRT) en materia fecal; puede ser utilizado en rumiantes, equinos y porcinos, con todo tipo de antihelmínticos cuyos huevos sean eliminados con la materia fecal. Este test 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).

Los resultados del FECRT en los cuatro establos del valle de Cajamarca obtenidos en la presente investigación nos muestra que la eficacia del Closantel 10% en dosis de 10 mg/kg vía oral fue de 99,40% en promedio, $p < 0,05$ (Tabla 5); debido a que en los establos La Victoria, San Vicente, Tartar y Los Alpes; la eficacia fue de 100%, 100%, 100% y 97,40%; respectivamente $p < 0,05$ (Tablas 1, 2, 3 y 4). Esta eficacia promedio, se confirmó mediante la prueba por necropsia en animales de experimentación (conejos) que fueron infectados experimentalmente con metacercarias provenientes de cepas de fasciolas de bovinos de un establo anteriormente citado del valle de Cajamarca (Los Alpes) y dosificados con 20 mg/kg de Closantel, suministrado vía oral, cuyo resultado nos indica que *Fasciola hepatica* de bovinos de los establos evaluados, son susceptibles a este principio activo, puesto que no se encontró fasciola alguna en conductos biliares del hígado de todos los conejos tratados ($n=10$), obteniendo una eficacia de 100% $p < 0,05$ (Tabla 6). Esta clasificación de eficacia está de acuerdo con lo señalado por Kassai, (2002), quien menciona que un antihelmíntico se clasifica como “muy eficaz” cuando la reducción del conteo de huevos o de parásitos adultos, es superior al 98%.

La eficacia del Closantel en el control de *Fasciola hepatica* se debe a que su mecanismo de acción de este principio activo es bloquear las rutas energéticas en especial el de desacoplar la fosforilación oxidativa por aumentar la permeabilidad de las mitocondrias causando graves trastornos en el metabolismo del parásito, que muere en

uno o dos días posdosificación. En las fasciolas sobrevivientes maduras o inmaduras produce un efecto atrófico que imposibilita sus funciones de crecimiento y reproducción (Adams, 2003).

El fármaco también daña el tegumento del trematodo, causando erosiones en las fasciolas adultas. En una sola dosis de 10 mg/kg en bovinos y de 20 mg/kg en conejos, vía oral, su eficacia es de 100% contra *Fasciola hepatica* adulta (Basso *et al.*, 1987; Sumano y Ocampo, 1997; Adams, 2003).

La drástica reducción en el conteo de huevos y la eliminación de fasciolas adultas, probablemente se debe a que los propietarios del ganado de los establos motivo de estudio no han utilizado Closantel en el control de *Fasciola hepatica* en los cinco últimos años, sino otros principios activos como el Clorsulón, Nitroxinil y Triclabendazol; datos obtenidos en la encuesta por los responsables de los establos investigados (Anexo 11, encuestas 1, 2, 3 y 4).

Kassai (2002) indica que un antihelmíntico es insuficientemente activo cuando su eficacia está por debajo del 80%. Botana *et al.*, (2002); Vara *et al.*,(2006); señalan que este fenómeno se da cuando el helminto es resistente al principio activo y está relacionado con el empleo frecuente de antihelmínticos, infradosificaciones, persistencia de los mismos principios activos antiparasitarios, etc.

La eficacia del Closantel obtenida en la presente investigación concuerda con Hanna *et al* (2015), quienes en el Norte de Irlanda, en 13 explotaciones de ovinos, en un grupo de 20 animales de cada granja, mediante el test de reducción del conteo de huevos (FECRT) y coproantígeno ELISA al día 21 posdosificación encontraron que el Closantel alcanzó un resultado altamente significativo. Del mismo con Olaechea *et al* (2011), en Argentina, en un rebaño de bovinos en la provincia de Neuquén, llevaron a

cabo un ensayo clínico, mostrando una reducción del 100% en la producción de huevos en los días 14 y 21 posdosificación.

A nivel local, concuerda con Urteaga y Rojas (2015), quienes evaluaron a este antihelmíntico en el establo Tres Molinos del valle Cajamarca, mediante el FECRT en un grupo de 15 bovinos, en el día 28 posdosificación, obteniendo una eficacia de 100%.

Sin embargo, nuestro resultado es opuesto al referido por Novobilský y Höglund (2015), en el suroeste de Suecia, en dos de tres rebaños de ganado vacuno de carne infectados naturalmente con *Fasciola hepatica*, mediante las pruebas de reducción de recuento de huevos fecales (FEC) y exámenes de ELISA coproantígenos evaluaron un antihelmíntico combinado Closantel e Ivermectina (Closamectin Pour On) con una dosis mínima de 20mg/kg, encontraron una deficiente eficacia de 72% y -157%; en dos rebaños respectivamente, lo cual evidenciaba la presencia del fenómeno de resistencia del trematodo a este principio activo.

Igualmente, a nivel local, no concuerda con Rojas *et al.*, (2013) quienes en tres distritos de Cajamarca, mediante el FECRT determinaron eficacias de 25% en el predio Santa Elvira-distrito San Juan, 0% en el predio San Luis-distrito Gregorio Pita, y 85% en el predio Quebrada Honda–distrito Tumbadén. Estas diferencias podría deberse a que el fármaco que aplicaron no habría tenido la concentración que indica en la etiqueta o podría deberse a otras razones que serían motivo de estudiarlas, por ejemplo realizar nuevamente un test de eficacia a este principio activo en los mismos predios referidos y con diferentes marcas de laboratorios.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

Se concluye que:

1. La eficacia del Closantel 10% en dosis de 10 mg/kg vía oral en el control de *Fasciola hepatica* por infección natural en bovinos del valle de Cajamarca medida mediante el test de reducción del conteo de huevos (FECRT), fue en promedio 99,40% ($p < 0,05$); que corresponde a un grado de eficacia “muy eficaz”.
2. La eficacia del Closantel 10% en dosis de 20 mg/kg vía oral en el control de *Fasciola hepatica* en conejos por infección experimental con metacercarias obtenidas de cepas de fasciolas de bovinos de los establos estudiados del valle de Cajamarca medida mediante necropsia, fue 100% ($p < 0,05$), confirmando la susceptibilidad de las fasciolas frente a este principio activo.

LISTA DE REFERENCIAS

- Adams, H., 2003. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. 2^{da} Edición, Editorial Acribia, S.A., Zaragoza-España. pp1055-1060.
- Angus, M. 1983. Helminología Veterinaria. 2^{da} Edición, Editorial El Manual Moderno, S.A. México. pp112-115.
- Anziani, O.; Fiel, C., 2004. Resistencia de los Nematodos 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. Resúmenes del 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. 1^{ra}. Edición, Editorial Hemisferio Sur S.A., Buenos Aires-Argentina. pp3-61.
- 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%20A> [consulta: 20 julio 2015].
- Borchert, A. 1964. Parasitología Veterinaria, 3^{ra} Edición, Editorial Acribia, S.A. Zaragoza-España. pp45-81.

- Botana, L.; Landoni, F.; Jimenez, T., 2002. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. 1^{ra} 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.
- Chávez, A.; Sánchez, L.; Arana, C.; Suárez, F., 2012. Resistencia a antihelmínticos y prevalencia de fasciolosis bovina en la ganadería lechera de Jauja, Perú. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 23, pp.90–97.
- Cordero, M.; Rojo, F.; Martínez, A.; Sánchez, M.; Hernández, S.; Navarrete, I.; Diez, P.; Quiroz, H.; Carvalho, M., 1999. Parasitología Veterinaria. 1^{ra} Edición, Editorial McGraw-Hill. Interamericana, Madrid-España. pp260-271.
- Elliott, T.; Kelley, J.; Rawlin, G.; Spithill, T., 2015. High prevalence of fasciolosis and evaluation of drug efficacy against *Fasciola hepatica* in dairy cattle in the Maffra and Bairnsdale districts of Gippsland, Victoria, Australia. Veterinary parasitology, 209(1-2),pp.117–24.
- 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 Peru Med Exp Salud Pública, 27(4), pp.604–612.
- FAO, 2003. Resistencia a los antiparasitarios Estado actual con énfasis en América Latina. In Roma-Italia, p. 2. Disponible en <<https://www.google.com.pe/search?q=Resistencia+a+los+Antiparasitarios.+Estado+actual+con+%C3%A9nfasis+en+Am%C3%A9rica+Latina.+Estudio+FAO+Prod>

ucci%C3%B3n+y+Sanidad+Animal+157&oq=Resistencia+a+los+Antiparasitarios.
+Estado+actual+con+%C3%A9nfasis+en+Am%C3%A> [consulta: 30 julio 2015].

Fiel, C.; Steffan, P.; Ferreyra, D., 2011. Diagnóstico de las parasitosis más frecuentes de los rumiantes. 1^{ra}. Edición, Editorial U. N. C. P. B. A. TANDIL, Buenos Aires-Argentina. pp108-111.

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, nitroxylin 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.

INEI, 2012. Resultados definitivos del IV Censo Nacional Agropecuario. p46.
Disponible en
<<http://proyectos.inei.gob.pe/web/DocumentosPublicos/ResultadosFinalesIVCENA GRO.pdf>> [consulta: 20 julio 2015].

Kassai, T., 2002. *Helmintología Veterinaria*. 1^{ra} Edición. Editorial Acibia, S.A, Zaragoza- España. pp147-161.

Lapage, G. 1956. *Veterinary Helminthology and Entomology*, 4^{ta} Edición, Editorial Bailliére, Tindall and Cox, London – Inglaterra. pp29-51.

Leguía, G. 1991. *Distomatosis hepática en el Perú: Epidemiología y control*. 2^{da} Edición, Editorial Hoechst. Lima - Perú. 42pp.

Márquez, D., 2007. *Resistencia a los antihelmínticos en nematodos de rumiantes y estrategias para su control*. Bogotá-Colombia. 166pp. Disponible

en<https://books.google.com.pe/books?id=ENxJzXBzhNQC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false> [consulta: 10 agosto 2015].

Merck; CO., 1988. El Manual de Merck de Veterinaria. 3^{ra}. Edición, Editorial Centrum, Madrid-España. pp244-246.

Moll, L.; Gaasenbeek, C.; Vellema, P.; Borgsteede, F., 2000. Resistance of *Fasciola hepatica* against triclabendazole in cattle and sheep in The Netherlands. *Veterinary Parasitology*, 91(1-2), pp.153–158.

Nari, A.; Fiel, C., 1995. 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.

Olaechea, F., 2004. Comunicación Técnica N° 449. Área producción animal - *Fasciola hepatica*; Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, argentina 2004. Disponible en <www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/parasitarias/parasitarias_bovinos/81-hidatidosis.pdf> [consulta: 10 agosto 2015].

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.

- Oliveira, D.; Ferreira, D.; Stival, C.; Romero, F.; Cavagnoli, F.; Kloss, A.; Araújo, F.; Molento, M., 2008. Triclabendazole resistance involving *Fasciola hepatica* in sheep and goats during an outbreak in Almirante Tamandare, Parana, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*, 17(Supl 1), pp.149–153.
- 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.
- Quiroz, H., 2011. *Parasitología y Enfermedades Parasitarias de Animales Domésticos*. Editorial LIMUSA, S.A., México. pp232-251.
- Rojas, J., 2007. Efectividad y resistencia antihelmíntica de *Fasciola hepatica* a triclabendazol en el fundo “El Cortijo”, distrito Baños del Inca- Cajamarca, Perú 2006. Disponible en <<http://www.engormix.com/MA-ganaderia-carne/sanidad/articulos/efectividad-resistencia-antihelmintica-fasciola-t1421/p0.htm>> [consulta: 18 agosto 2015].
- Rojas, J., 2012. Resistencia de *Fasciola hepatica* al triclabendazol en bovinos de la campiña de Cajamarca – Perú. Disponible en<<http://www.veterinariargentina.com/revista/2012/07/resistencia-de-fasciola-hepatica-al-triclabendazol-en-bovinos-de-la-campina-de-cajamarca-%E2%80%93-peru/>> [consulta: 18 agosto 2015].
- Rojas, J.; Palacios, S., 2009. Impacto económico por decomiso de hígados infectados con *Fasciola hepatica* en camales de la Región Cajamarca, 2008. Trabajo de investigación docente, Universidad Nacional de Cajamarca, Perú. 24p.

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. Disponible en <http://www.produccionbovina.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/parasitarias/parasitarias_bovinos/74-Resistencia_Antihelmintica_de_Fasciola.pdf> [consulta: 20 agosto 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. 1^{ra} Edición, Editorial MAIJOSA, Lima-Perú. pp112-130.

Solana, H. 2012. Resistencia a antihelmínticos: La situación de los fasciolicidas Rev. Univ. Ind. Santander. Salud [online]. 2012, vol.44, n.3,pp.71-71.ISSN0121-0807.

Soulsby, E. 1987. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos, 7^a edición, editorial Interamericana, México. pp4-48.

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. Disponible en <<http://helminto.inta.gob.ar/pdf%20Resistencia/Steffan.pdf>>[consulta:18 setiembre 2015].

- Sumano, H., 1996. Farmacología clínica en bovinos. 1^{ra} Edición, Editorial Trillas, México. pp124-148.
- Sumano, H.; Ocampo, L., 1997. Farmacología Vetrinaria. 2^{da} Edición, Editroial McGraw-Hill Interamericana, México. 291-300.
- Sumano, H.; Ocampo, L., 2006. Farmacología Veterinaria. 3^{ra} Edición, Editorial McGraw-Hill. Interamericana, México. 489-498.
- Ueno, H.; Gonçalves, P., 1998. Manual para Diagnóstico de las helmintosis de rumiantes. 4^{ta} Edición. Editorial. Japan International Cooperation Agency (JICA), Tokyo, Japan. pp127-135.
- Urquhart, G.; Armour, J.; Duncan, J.; Dunn, A.; Jennings, F., 2001. Parasitología Veterinaria. 2^{da} Edición, Editorail Acribia S.A., Zaragoza- España. pp117-127.
- Urteaga, R.; Rojas, J., 2015. Eficacia de cuatro fasciolícidias de uso común en el control de *Fasciola hepatica* en bovinos evaluados mediante el test de reducción del conteo de huevos en el fundo Tres Molinos, distrito Cajamarca, 2014. Tesis para optar el título profesional de Médico Veterinario, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Cajamarca. Cajamarca, Perú. 59pp.
- Vara, M.; Martínez, M.; Martínez, A.; Rojo, F., 2006. Prevalencia de la fasciolosis ovina y estudios de resistencia a fasciolícidias en la provincia de León.
- Disponible en
- <http://www2.vet.unibo.it/staff/gentile/Femesprum/Pdf%20Congressi/XIV%20congresso%20Lugo/PDFs/PostersS/00Vara_MP.pdf> [consulta: 20 setiembre 2015]

ANEXOS

Anexo 1. Fotos



Foto 1. Localización Este del valle Cajamarca:
Establo Tartar-UNC



Foto 2. Localización Nor-Este del valle
Cajamarca: Establo San Vicente



Foto 3. Localización Sur-Este del valle
Cajamarca: Establo La Victoria-UNC



Foto 4. Localización Nor-Oeste del valle
Cajamarca: Establo Los Alpes



Foto 5. Extracción muestra de heces del recto
(1ra. y 3ra. visita)



Foto 6. Cálculo del peso vivo con cinta
bovinométrica para raza Holstein (1ra. visita)



Foto 7. Dosificación vía oral (2da. visita)



Foto 8. Instalaciones para la conducción de conejos infectados experimentalmente



Foto 9. Dosificación vía oral con Closantel a los conejos



Foto 10. Realizando necropsia en hígado de conejo en el día 15 post dosificación

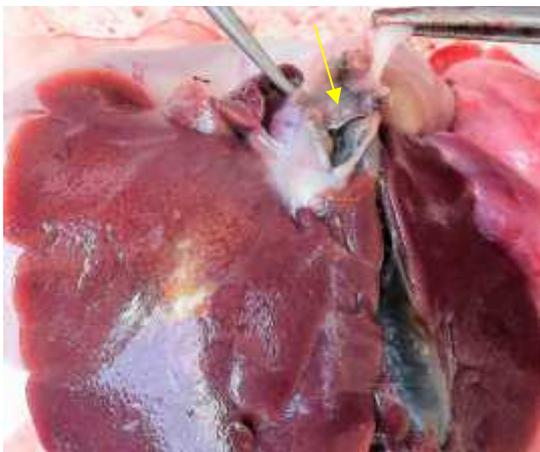


Foto 11. Mostrando fasciolas adultas en conductos biliares (conejos del grupo control)



Figura 12. Mostrando desechos de fasciolas en conducto biliar (conejos del grupo dosificados)



Foto 13. Selección de caracoles para infectarlos



Foto 14. Infección de caracoles



Foto 15. Obtención de metacercarias



Foto 16. Preparación de la dosis total de metacercarias para cada conejo



Foto 17. Infección de conejos con metacercarias vía oral con pipeta Pasteur



Foto 18. Colectando muestra de heces de cada conejo



Foto 19. Pesando 1 g de heces



Foto 20. Batiendo la muestra de heces



Foto 21. Filtrando la muestra de heces



Foto 22. Sedimentando y decantando



Foto 23. Colocando 3 gotas de lugol fuerte



Foto 24. Observando en estereoscopio a 16x

Anexo 2. Cultivo y mantenimiento de caracoles *Lymnaea* (Laboratorio de Inmunología e Investigación “Grupo de investigación de trematodes” UNC)

Materiales y equipos:

- ✓ Pipetas Pasteur de plástico.
- ✓ Pinza de plástico.
- ✓ Pinceles de diferentes tamaños.
- ✓ Placas Petri.
- ✓ Estereoscopio.
- ✓ Agua destilada y deionada.
- ✓ Caracoles *Lymnaea*.
- ✓ Cajas de plástico de 5 litros de capacidad.
- ✓ Cajas de plástico pequeñas que miden 20 cm x 15 cm x 5 cm.
- ✓ Calcio.
- ✓ Oxigenadores.
- ✓ Mangueras transparentes de 5mm de diámetro.
- ✓ Piedras difusoras.
- ✓ Válvulas y uniones pequeñas.

Protocolo:

- 1.- Recolectar caracoles dextrógiros del campo y llevarlos al laboratorio para su identificación.
2. Colocar los caracoles en un tamiz y lavarlos con agua corriente por tres a cuatro

- veces, luego pasarlos a una o varias placas petri para identificarlos en el estereoscopio.
3. Preparar cajas de plástico con agua de cloro en un volumen de 4 litros y agregarle sulfato de calcio a razón de 35 mg/l, de similar forma 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 tamaño y colocarlos en el medio a razón de 15 a 25 caracoles por caja. La alimentación es 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 (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, sólo agregar calcio y la cantidad que se evapore.
 9. A las 6 semanas de edad, los caracoles están óptimos para ser infectados con miracidios de *Fasciola hepatica*.

Anexo 3. Incubación de huevos de *Fasciola hepatica* (Laboratorio de Inmunología e Investigación “Grupo de investigación de trematodes” UNC)

Materiales y equipos:

- ✓ Tamiz metálico de 20 cm de diámetro x 4,5 cm de altura, con orificios de 500 μm .
- ✓ Tamiz metálico de 20 cm de diámetro x 4,5 cm de altura, con orificios de 250 μm .
- ✓ Tamiz metálico de 20 cm de diámetro x 4,5 cm de altura, con orificios de 38 μm .
- ✓ Vasos cónicos de vidrio de 260 mL de capacidad.
- ✓ Vasos de plástico estériles de 100 mL de capacidad.
- ✓ Papel aluminio.
- ✓ Agua de caño sin cloro.
- ✓ Agua destilada.
- ✓ Estereoscopio.
- ✓ Incubadora.
- ✓ Baldes de plástico de 4 litros de capacidad.
- ✓ Bandeja de porcelana de 25 cm de ancho x 30 cm de largo x 4 cm de altura.
- ✓ Espátula de metal con mango de madera.
- ✓ Balanza digital.
- ✓ Cronómetro.
- ✓ Placa Petri de 10 cm de diámetro x 1 cm de altura.
- ✓ Probeta de 1000 mL de capacidad.

Protocolo:

- ✓ Tres meses posdosificación con Closantel, se extrajo heces directamente del recto de 10 bovinos del establo Los Alpes, para elegir al animal que tuviera mayor carga parasitaria medida en hpg.
- ✓ Se eligió a la vaquillona de nombre “Alma” que tuvo un hpg=156, de este animal se la extrajo del recto aproximadamente 1000 g de heces.
- ✓ En un balde de plástico de 4 litros de capacidad se colocó 50 g de heces, se añadió 1000 mL de agua, se mezcló con una espátula metálica y se filtró en un tamiz con orificios de 500 μm . Este filtrado se recibió en un balde plástico de 4 litros de capacidad, se añadió 1000 mL más de agua, se removió y se volvió a filtrar en otro tamiz con orificios de 250 μm ; este filtrado se recibió a otro balde plástico de 4 litros de capacidad y finalmente se filtró en un tamiz con orificios de 38 μm donde los huevos de *Fasciola* quedaron retenidos. Se agregó más agua a chorro para obtener un material libre de pigmento color verde propio de las heces. El mismo procedimiento se realizó para los 950 g de heces restantes.
- ✓ Este material lavado que estuvo en el tamiz de 38 μm fue vaciado a una bandeja de porcelana. Esta actividad se realizó volteando el tamiz y colocando agua por el reverso de éste.

De la bandeja de porcelana fue vaciado a varios vasos cónicos de vidrio de 260 mL de capacidad, se dejó reposar por 5 minutos para permitir la sedimentación de huevos, luego se decantó, se volvió a añadir agua hasta el borde del vaso, se dejó reposar por 5 minutos, se decantó. Esta actividad se realizó por 5 veces, lo que permitió eliminar muchas partículas vegetales pequeñas.

- ✓ El sedimento obtenido en cada vaso fue evaluado al estereoscopio a 16x. Se observó

muchos huevos *de Fasciola hepatica* y pocas partículas vegetales. Este material (15 mL de sedimento lavado) fue transferido a un vaso plástico estéril de 100 mL de capacidad, se agregó agua destilada hasta la marca de 70 mL y se cubrió totalmente con papel aluminio, se etiquetó con nombre y fecha; así fue colocado en la incubadora a una temperatura de 27°C por un periodo de tiempo de 9 días, tiempo que fue suficiente para obtener miracidios.

- ✓ Los huevos fértiles incubados se mostraron con un miracidio en su interior. Estos huevos expuestos a la luz natural, el miracidio sólo tardó aproximadamente 10 minutos para que salga del interior del huevo. Esta actividad fue realizada en una placa Petri y observado al estereoscopio a 16x.

Anexo 4. Infección de caracoles (Laboratorio de Inmunología e Investigación “Grupo de investigación de trematodes” UNC)

Materiales y equipos:

- ✓ Placa ELISA de 96 pozos.
- ✓ Caracoles *Lymnaea* criados en bioterio.
- ✓ Vasos con huevos incubados.
- ✓ Pipeta Pasteur de vidrio con punta curva adaptada para coleccionar miracidios.
- ✓ Pipeta Pasteur de plástico con punta recta.
- ✓ Pincel con pelos.
- ✓ Agua destilada.
- ✓ Estereoscopio.
- ✓ Placa Petri de 10 cm de diámetro x 1 cm de altura.

Protocolo:

- ✓ De la incubadora se sacaron los vasos que contenían huevos incubados. Con una pipeta Pasteur de plástico punta recta se sacó aproximadamente 2 mL del material incubado hacia una placa Petri, se expuso a la luz natural por unos 10 minutos para que los miracidios se estimulen y salgan del huevo hacia el agua contenida en la placa Petri.
- ✓ De los acuarios respectivos (cajas de plástico), se sacaron 20 caracoles que midieron entre 3 mm a 7 mm de tamaño, fueron lavados cuidadosamente para estar limpios

libre de sus heces.

- ✓ En una placa ELISA de 96 pozos, se utilizaron 20 pozos. En cada pozo se colocó 0,5 mL de agua destilada, dos miracidios y un caracol. El manejo de los caracoles *Lymnaea* se realizó con pincel de pelo y los miracidios fueron trasladados de la placa Petri a los pozos de la placa ELISA mediante una pipeta Pasteur de vidrio punta curva adaptada para este trabajo.
- ✓ Durante cuatro horas se estuvo observando que los caracoles estén sumergidos en los pozos de la placa ELISA, para lograr que al menos un miracidio infecte al caracol. Esto fue confirmado al observar con el estereoscopio que en cada pozo ya no había miracidio nadando.
- ✓ Luego de esta actividad, los caracoles fueron trasladados al acuario de crianza (caja de plástico), por un periodo de tiempo de 8 semanas posinfección.

Anexo 5. Estimulación de caracoles, obtención de metacercarias y preparación de dosis de metacercarias para infección experimental (Laboratorio de Inmunología e Investigación “Grupo de investigación de trematodes” UNC)

Materiales y equipos:

- ✓ Bolsas de polietileno de 56 mm x 116 mm (70 mL de capacidad).
- ✓ Caracoles *Lymnaea* positivos a cercarias.
- ✓ Pincel con pelos.
- ✓ Pipeta Pasteur.
- ✓ Agua destilada refrigerada (4°C).
- ✓ Guantes quirúrgicos.
- ✓ Tijera recta.
- ✓ Pinza punta roma.
- ✓ Estereoscopio.
- ✓ Placa Petri de 10 cm de diámetro x 1 cm de altura.
- ✓ Microtubo de polietileno con tapa rosca, con capacidad de 2 mL.

Protocolo:

- ✓ Con el pincel de pelos sacar a los caracoles de su acuario (caja de plástico) y colocarlos en placa Petri.
- ✓ Hacer limpieza de los caracoles con el pincel de pelos agregando agua sobre la concha de los caracoles (eliminar heces y partículas extrañas del cuerpo). Observar las cercarias presentes en el interior de los caracoles.
- ✓ Con un pincel de pelos colocar 5 a 10 caracoles por bolsa de polietileno (56 mm x

116 mm). Añadir agua refrigerada a 4°C.

- ✓ Torcer el extremo abierto de la bolsa hasta eliminar toda burbuja de aire. Amarrar este extremo haciendo un lazo y colocarlo en una bandeja expuesta a la luz natural por unas 24 horas.
- ✓ Observar la presencia de metacercarias pegadas en la superficie de la bolsa.
- ✓ Cortar el extremo amarrado de la bolsa, eliminar el agua a un vaso para la salida de los caracoles.
- ✓ La bolsa húmeda con las metacercarias colocarla en una placa Petri, taparla y refrigerarla (4°C). Aquí pueden estar viables por un año.
- ✓ Un día antes de la infección experimental a los animales se procedió a despegar a las metacercarias de la superficie de la bolsa (cuidadosamente), esto se realizó con un pincel de cerdas y fueron colocadas 32 metacercarias en un microtubo (dosis por conejo).

Anexo 6. Infección experimental a conejos con metacercarias obtenidas in vitro a partir de huevos de cepas de *Fasciola hepatica* de bovinos del valle Cajamarca

Materiales:

- ✓ Pipeta Pasteur de plástico punta recta.
- ✓ Microtubos de 2 mL de capacidad (dosis de 32 metacercarias contenidas en 0,5 ml de agua destilada).
- ✓ Agua destilada.

Protocolo:

- ✓ Todos los días, por siete días antes de la infección, se los adiestró a todos los animales para tomar agua suministrada con una pipeta Pasteur de plástico punta recta.
- ✓ Un día antes de la infección experimental los conejos no recibieron agua de bebida, con la finalidad de que los conejos estén de sed.
- ✓ La infección experimental se llevó a cabo en la tarde.
- ✓ Sujeción del conejo. Una persona sujetó al conejo; con la mano derecha agarró la piel del dorso del cuello y con la mano izquierda sostuvo la grupa en posición de sentado.
- ✓ Suministro de las metacercarias a los conejos. Una persona cargó en la pipeta Pasteur la dosis de 32 metacercarias contenidas en 0,5 mL de agua destilada que estuvieron almacenadas en un microtubo. Con los dedos de la mano izquierda, el dedo pulgar se

fijó entre el espacio interalveolar de la maxila y mandíbula lado derecho y con el dedo índice se fijó entre en el espacio interalveolar de la maxila y mandíbula lado izquierdo, luego se colocó la punta de la pipeta a nivel de la base de la lengua y se procedió a suministrar la respectiva dosis de metacercarias. Finalmente, se cargó 2 mL más de agua destilada en la misma pipeta Pasteur y se lo volvió a suministrar vía oral para asegurar que el conejo haya ingerido todas las metacercarias posibles que quedaron adheridas en la cavidad bucal o adheridas en la pared de la pipeta Pasteur.

Anexo 7. Dosificación a conejos con Closantel 10% en dosis de 20 mg/kg, suministro vía oral

Materiales y equipos:

- ✓ 10 conejos positivos a *Fasciola hepatica* infectados experimentalmente.
- ✓ Closantel 10% en suspensión.
- ✓ Jeringa de tuberculina con capacidad de 1 mL.
- ✓ Balanza digital.
- ✓ Bolsa de malla.
- ✓ Guantes quirúrgicos.
- ✓ Mascarillas.

Protocolo:

- ✓ Conejos positivos a *Fasciola hepatica*, a 10 semanas posinfección artificial con metacercarias de *Fasciola hepatica* de bovino del valle Cajamarca.
- ✓ Pesar individualmente a los conejos.
- ✓ Calcular la dosis terapéutica en mL para cada conejo en base a dosis de mg/kg. Se consideró el peso vivo y concentración del Closantel 10%.
- ✓ Cargar en la jeringa de tuberculina una dosis en mL de Closantel 10%.
- ✓ Sujeción del conejo. Una persona sujetó al conejo; con la mano derecha agarró la piel del dorso del cuello y con la mano izquierda sostuvo la grupa en posición de sentado.

- ✓ Suministro de la dosis de Closantel vía oral a cada conejo. Una persona con la mano izquierda fijó el dedo índice entre el espacio interalveolar de la maxila y mandíbula lado izquierdo y con el dedo pulgar entre el espacio interalveolar de la maxila y mandíbula lado derecho, con la mano derecha colocó la punta de la jeringa a nivel de la base de la lengua y procedió a suministrar vía oral la respectiva dosis, observando que haya deglutido.

Anexo 8. Obtención de *Fasciola hepatica* adultas en hígados de conejo 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).
- ✓ Placas Petri de vidrio.
- ✓ Guantes quirúrgicos.
- ✓ Mascarillas.
- ✓ Lupa.
- ✓ Estereoscopio.
- ✓ Táper de polietileno de 5 mL de capacidad, con tapa a presión.
- ✓ Alcohol comercial.
- ✓ Bandeja de porcelana.

Protocolo:

- ✓ Sacrificio de los conejos mediante degüello.
- ✓ Obtener el hígado, colocarlo cada uno en una bandeja de porcelana color blanco.
- ✓ Colocar el hígado en vista de superficie visceral, con una tijera de punta recta cortar longitudinalmente los conductos biliares, coleccionar fasciolas adultas con una pinza punta roma y contarlas. Almacenar las fasciolas en el pequeño táper de polietileno, colocando 2 mL de alcohol comercial y taparlo.

Anexo 9. Registro de datos obtenidos en la investigación

Cuadro 1. Registro de datos obtenidos de bovinos del establo La Victoria-UNC, ubicado en el Sur del valle Cajamarca

Animales	Identidad	Peso vivo	Dosis	Día 0 Predosif.	Día 28 Posdosif.
N°	Códigos	(kg)	(mL)	(hpg)	(hpg)
1	210 - 22	550	55	2	0
2	908	450	45	2	0
3	210 - 25	500	50	7	0
4	210 - 5	460	46	3	0
5	210 - 20	550	55	2	0
6	210-3	500	50	7	0
7	210 - 11	550	55	3	0
8	210 - 6	470	47	10	0
9	210 - 17	500	50	5	0
10	607	600	60	5	0
11	411	550	55	4	0
12	213-12	350	35	5	0
13	214-5	400	40	4	0
14	214-12	350	35	4	0
15	211-18	450	45	9	0

Cuadro 2. Registro de datos obtenidos de bovinos del establo Los Alpes, ubicado en el Nor- Oeste del valle Cajamarca

Animales	Identidad	Peso vivo	Dosis	Día 0 Predosif.	Día 28 Posdosif.
N°	Nombres	(kg)	(mL)	(hpg)	(hpg)
1	Karen	350	35	13	0
2	Esther	470	47	7	0
3	Ines	450	45	3	0
4	Mirian	470	47	2	0
5	Marcela	530	53	4	0
6	Teresita	530	53	2	0
7	Raquel	460	46	3	0
8	Jakie	540	54	2	0
9	Danixa	420	42	41	2
10	Alena	250	25	2	0
11	Olinda	340	34	27	0
12	Valentina	480	48	3	1
13	Luna	130	13	2	0
14	Anny	470	47	2	0
15	Alma	130	13	2	0

Cuadro 3. Registro de datos obtenidos de bovinos del establo Taratar-UNC, ubicado en el Este del valle Cajamarca

Animales	Identidad	Peso vivo	Dosis	Día 0 Predosif.	Día 28 Posdosif.
N°	Nombres	(kg)	(mL)	(hpg)	(hpg)
1	Barrosa	330	33	3	0
2	Rosa	160	16	12	0
3	Julia	400	40	5	0
4	July	350	35	7	0
5	Juliana	240	24	2	0
6	Jovita	220	22	4	0
7	Nancy	170	17	8	0
8	Emilia	400	40	7	0
9	Joana	370	37	2	0
10	Jaira	250	25	8	0
11	Nila	250	25	13	0
12	Dana	180	18	13	0
13	Maya	490	49	12	0
14	Noelia	300	30	31	0
15	Nona	350	35	5	0

Cuadro 4. Registro de datos obtenidos de bovinos del establo San Vicente, ubicado en el Nor-Este del valle Cajamarca

Animales	Identidad	Peso vivo	Dosis	Día 0 Predosif.	Día 28 Posdosif.
N°	Nombres	(kg)	(mL)	(hpg)	(hpg)
1	Paula	400	40	17	0
2	Shole	400	40	12	0
3	Karen	370	37	10	0
4	Yulu	400	40	8	0
5	Judit	420	42	7	0
6	Sofia	450	45	6	0
7	Fedra	420	42	4	0
8	Negrita	350	35	4	0
9	Detallosa	420	42	6	0
10	Dayana	420	42	3	0
11	Sara	370	37	3	0
12	Gaby	370	37	2	0
13	Gitana	430	43	2	0
14	Toña	460	46	2	0
15	Nayu	450	45	2	0

Cuadro 5. Homogenización de carga parasitaria (hpg) en el día cero en conejos infectados artificialmente con cepas de *Fasciola hepatica* procedentes de bovinos de un establo del valle Cajamarca para la dosificación con Closantel 10% en dosis de 20 mg/kg

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

Cuadro 6. Datos obtenidos en conejos del grupo Control en el día 15 posdosificación

Animales (N°)	Jaula (Código)	Peso vivo (kg)	Dosis (mL)	Día 0 Predosif. (hpg)	Día 15 Posdosif. (hpg)	Día 15 Posdosif. Fasciolas (N°)
1	06	3.06	No	131	168	6
2	07	3.02	No	103	286	10
3	08	3.15	No	16	68	3
4	11	3.48	No	65	184	4
5	12	3.33	No	210	206	3
6	13	3.43	No	7	14	1
7	16	3.68	No	44	85	2
8	21	3.93	No	12	7	1
9	22	3.46	No	133	99	3
10	24	3.46	No	76	89	3
:				797	1206	36

Cuadro 7. Datos obtenidos en conejos del grupo Closantel en el día 15 posdosificación

Animales (N°)	Jaula (código)	Peso vivo (kg)	Dosis (mL)	Día 0 Predosif. (hpg)	Día 15 Posdosif. (hpg)	Día 15 Posdosif. Fasciolas (N°)
1	01	3.56	0.7	80	0	0
2	02	3.00	0.6	131	1	0
3	03	3.17	0.7	131	1	0
4	04	2.76	0.6	8	0	0
5	05	3.37	0.7	36	0	0
6	09	3.52	0.7	179	0	0
7	10	3.82	0.8	77	0	0
8	17	2.74	0.6	10	0	0
9	18	3.24	0.7	139	0	0
10	23	2.72	0.6	6	0	0
:				797	2	0

Anexo 10. Análisis estadístico

- **Prueba de Z de proporciones para determinar la eficacia del Closantel 10% en dosis de 10 mg/kg en bovinos del valle Cajamarca, mediante el test de reducción del conteo de huevos (FECRT)**

✓ **Establo La Victoria**

Hipótesis:

Ho: Si se aplica Closantel vía oral en dosis de 10 mg/kg de peso corporal en un grupo de bovinos (n=15) del establo La Victoria- UNC, naturalmente infectada con *Fasciola hepatica*, entonces su eficacia es igual o mayor al 95% expresada a través del test de reducción del conteo de huevos (FECRT).

Ha: Si se aplica Closantel vía oral en dosis de 10 mg/kg en un grupo de bovinos (n=15) del establo La Victoria- UNC, naturalmente infectada con *Fasciola hepatica*, entonces su eficacia es menor al 95% expresada a través del test de reducción del conteo de huevos (FECRT).

Ho 0.95

Ha<0.95

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

Donde

X Ourrencias

n Observaciones

$\frac{x}{n}$ Proporción de la muestra

p_0 Proporción propuesta

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

Reemplazando:

$$Z = \frac{1 - 0.95}{\sqrt{\frac{0.95(0.05)}{72}}} = 1.95$$

Interpretación. El valor de Z (1,95) es mayor a -1,96 entonces aceptamos la hipótesis nula, en lo concluimos que si se aplica Closantel vía oral en dosis de 10 mg/kg en un grupo de bovinos (n=15) del establo La Victoria- UNC, naturalmente infectados con *Fasciola hepatica*, entonces su eficacia es igual o mayor al 95% expresada a través del test de reducción del conteo de huevos (FECRT).

✓ **Establo Los Alpes**

Hipótesis:

Ho: Si se aplica Closantel vía oral en dosis de 10 mg/kg en un grupo de bovinos (n=15) del establo Los Alpes, naturalmente infectados con *Fasciola hepatica*, entonces su eficacia es igual o mayor al 95% expresada a través del test de reducción del conteo de huevos (FECRT).

Ha: Si se aplica Closantel vía oral en dosis de 10 mg/kg en un grupo de bovinos (n=15) del Establo Los Alpes, naturalmente infectada con *Fasciola hepatica*, entonces su eficacia es menor al 95% expresada a través del test de reducción del conteo de huevos (FECRT).

Ho 0.95

Ha<0.95

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

Donde

X Ourrencias

n Observaiones

$\frac{x}{n}$ Xproporción de la muestra

p_0 Xproporción propuesta

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

Reemplazando:

$$Z = \frac{0,974 - 0,95}{\sqrt{\frac{0,95(0,05)}{115}}} = 1,18$$

Interpretación. El valor de Z (1,18) es mayor a -1,96 entonces aceptamos la hipótesis nula, en lo concluimos que si se aplica Closantel vía oral en dosis de 10 mg/kg en un grupo de bovinos (n=15) del establo Los Alpes, naturalmente infectados con *Fasciola hepatica*, entonces su eficacia es igual o mayor al 95% expresada a través del test de reducción del conteo de huevos (FECRT).

✓ **Establo Tartar-UNC.**

Hipótesis:

Ho: Si se aplica Closantel vía oral en dosis de 10 mg/kg en un grupo de bovinos (n=15) del establo Tartar- UNC, naturalmente infectados con *Fasciola hepatica*, entonces su eficacia es igual o mayor al 95% expresada a través del test de reducción del conteo de huevos (FECRT).

Ha: Si se aplica Closantel vía oral en dosis de 10 mg/kg en un grupo de bovinos (n=15) del establo Tartar - UNC, naturalmente infectados con *Fasciola hepatica*, entonces su eficacia es menor al 95% expresada a través del test de reducción del conteo de huevos (FECRT).

Ho 0.95

Ha<0.95

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

Donde

X Ourrencias

n Observaiones

$\frac{x}{n}$ Xproporcion de la muestra

p_0 Xproporción propuesta

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

Reemplazando:

$$Z = \frac{1 - 0.95}{\sqrt{\frac{0.95(0.05)}{132}}} = 2.64$$

Interpretación. El valor de Z (2,64) es mayor a -1,96 entonces aceptamos la hipótesis nula, en lo concluimos que si se aplica Closantel vía oral en dosis de 10 mg/kg en un grupo de bovinos (n=15) del establo Tartar- UNC, naturalmente infectados con *Fasciola hepatica*, entonces su eficacia es igual o mayor al 95% expresada a través del test de reducción del conteo de huevos (FECRT).

✓ **Establo San Vicente**

Hipótesis:

Ho: Si se aplica Closantel vía oral en dosis de 10 mg/kg en un grupo de bovinos (n=15) del establo San Vicente, naturalmente infectados con *Fasciola hepatica*, entonces su eficacia es igual o mayor al 95% expresada a través del test de reducción del conteo de huevos (FECRT).

Ha: Si se aplica Closantel vía oral en dosis de 10 mg/kg en un grupo de bovinos (n=15) del establo San Vicente, naturalmente infectados con *Fasciola hepatica*, entonces su eficacia es menor al 95% expresada a través del test de reducción del conteo de huevos (FECRT).

Ho 0.95

Ha<0.95

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

Donde

X Ourrencias

n Observaiones

$\frac{x}{n}$ Xproporcion de la muestra

p_0 Xproporción propuesta

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

Reemplazando:

$$Z = \frac{1 - 0.95}{\sqrt{\frac{0.95(0.05)}{15}}} = 2.15$$

Interpretación. El valor de Z (2,15) es mayor a -1,96 entonces aceptamos la hipótesis nula, en lo concluimos que si se aplica Closantel vía oral en dosis de 10 mg/kg en un grupo de bovinos (n=15) del establo San Vicente, naturalmente infectados con *Fasciola hepatica*, entonces su eficacia es igual o mayor al 95% expresada a través del test de reducción del conteo de huevos (FECRT).

Establos del valle Cajamarca: La Victoria, San Vicente, Tartar y Los Alpes

Hipótesis:

Ho: Si se aplica Closantel vía oral en dosis de 10 mg/kg en un grupo de bovinos (n=60) de los establos La Victoria, San Vicente, Tartar y Los Alpes; naturalmente infectados con *Fasciola hepatica*, entonces su eficacia es igual o mayor al 95% expresada a través del test de reducción del conteo de huevos (FECRT).

Ha: Si se aplica Closantel vía oral en dosis de 10 mg/kg en un grupo de bovinos (n=60) de los establos La Victoria, San Vicente, Tartar y Los Alpes; naturalmente infectados con *Fasciola hepatica*, entonces su eficacia es menor al 95% expresada a través del test de reducción del conteo de huevos (FECRT).

Ho 0.95

Ha<0.95

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

Donde

X Ourrencias

n Observaciones

$\frac{x}{n}$ Proporción de la muestra

p_0 Proporción propuesta

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

Reemplazando:

$$Z = \frac{0,9926 - 0,95}{\sqrt{\frac{0,95(0,05)}{407}}} = 3,94$$

Interpretación. El valor de Z (3,94) es mayor a -1,96 entonces aceptamos la hipótesis nula, en lo concluimos que si se aplica Closantel vía oral en dosis de 10 mg/kg en un grupo de bovinos (n=60) de los establos La Victoria, San Vicente, Tartar y Los Alpes; naturalmente infectados con *Fasciola hepatica*, entonces su eficacia es igual o mayor al 95% expresada a través del test de reducción del conteo de huevos (FECRT).

- **Prueba de T Student de muestras independientes para la homogenización de huevos por gramo de heces (hpg) en el grupo Control y grupo Closantel antes de dosificar con Closantel a los conejos positivos a fasciolas mediante infección experimental (día cero)**

Formulación de hipótesis:

Ho: El número de hpg en el día cero en conejos infestados con metacercaria de *Fasciola hepatica* son similares en ambos grupos (control y experimental)

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

Nivel de significancia:= 5% = 0,05

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

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

Prueba de muestras independientes

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
								Inferior	Superior
Se han asumido varianzas iguales	0,002	0,966	0,000	18,000	1,000	0,000	28,754	-60,410	60,410
hpg No se han asumido varianzas iguales			0,000	17,981	1,000	0,000	28,754	-60,415	60,415

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

- **Prueba de Z de proporciones para la eficacia del Closantel en el control de *Fasciola hepatica* en el hígado en conejos mediante el conteo de fasciolas adultas obtenidas a través de la necropsia**

Ho: Si se aplica Closantel vía oral en dosis de 20 mg/kg en un grupo de conejos (n=10) infectados experimentalmente con metacercarias de cepas de *Fasciola hepatica* susceptibles al Closantel provenientes de bovinos de un establo evaluado del valle de Cajamarca, entonces su eficacia es igual o mayor al 95% expresada en el número de fasciolas adultas.

Ha: Si se aplica Closantel vía oral en dosis de 20 mg/kg en un grupo de conejos (n=10) infectados experimentalmente con metacercarias de cepas de *Fasciola hepatica* resistentes al Closantel provenientes de bovinos de un establo evaluado del valle de Cajamarca, entonces su eficacia es menor al 95% expresada en el número de fasciolas adultas.

Ho 0.95

Ha<0.95

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

Donde

X Ourrencias

n Observaciones

$\frac{x}{n}$ Proporción de la muestra

p_0 Proporción propuesta

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

Reemplazando

$$Z = \frac{\bar{X} - \mu_0}{\sqrt{\frac{\sigma^2}{n}}} = \frac{0,60 - 0,95}{\sqrt{\frac{0,05}{36}}}$$

Interpretación. El valor de Z (0,60) es mayor a -1,96 entonces aceptamos la hipótesis nula, en lo concluimos que si se aplica Closantel vía oral en dosis de 20 mg/kg en un grupo de conejos (n=10) infectados experimentalmente con metacercarias de cepas de *Fasciola hepatica* susceptibles al Closantel provenientes de bovinos de un establo evaluado del valle de Cajamarca, entonces su eficacia es igual o mayor al 95% expresada en el número de fasciolas adultas.

**Anexo 11. Encuestas realizadas a los profesionales encargados de los bovinos de los
fundos estudiados**

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

ENCUESTA N° 1

**“EFICACIA ANTIHELMÍNTICA DEL CLOSANTEL EN EL CONTROL DE
Fasciola hepatica EN BOVINOS DEL VALLE DE CAJAMARCA”**

El presente instrumento será aplicado para obtener los datos que se relacionan a resistencia antihelmíntica de *Fasciola hepatica* al Closantel en bovinos, en tal sentido solicitamos a usted, estimado señor (a), joven, señorita; tenga la amabilidad de darnos la mejor información al respecto, cuya investigación tiene la finalidad de analizar los posibles causales relacionados a resistencia antihelmíntica de *Fasciola hepatica* al Closantel en bovinos.

Toda información de usted será importante y servirá para analizarla.

I. Datos informativos:

Nombre del estable: San Vicente-valle de Cajamarca

Lugar: Nor-Este Valle Cajamarca

Propietario: Jorge Díaz

II. Preguntas:

Respecto a Manejo:

✓ Qué especies animales cría junto a sus bovinos: Ovinos(), porcinos ()
equinos (), camélidos (), otras....., ninguna especie (x).

✓ Qué manejo realiza con las heces de las instalaciones del estable. Estercolero

para compus (), para lumbricultura (), esparce las heces frescas en el potrero (x), deposita en estercolero y esparce al potrero (x), ninguna ().

- ✓ En estos últimos cinco años ha, incorporado a su establo bovinos procedentes de otros lugares: Nacional (x), internacional (), ninguna incorporación ().

Respecto a la quimioterapia:

- ✓ Qué razones determinan el uso de antiparasitario fasciolicida: Observación de: Diarrea (x), pelo hirsuto (), disminución de la producción de leche (x), presencia de huevos de *Fasciola* diagnosticado en laboratorio (), época de lluvia (), costumbre (x).

- ✓ Qué criterios determinan la elección de un antiparasitario: Marca del producto (), Nombre del producto (), calme la diarrea (x), sube la producción de leche (x).

- ✓ Qué antiparasitarios fasciolicidas utilizó en los últimos cinco años: Triclabendazol (), closantel (), nitroxinil (), clorsulón (x), otro.....

- ✓ En los cinco últimos años, qué nombres comerciales de los antiparasitarios fasciolicidas utilizó: Iver drog® (Clorsulón 10% + Ivermectina 1%), Laboratorios Drogavet.

- ✓ Cuántas veces al año dosifica: 1 vez (), dos veces (), tres veces (), cuatro veces () cinco veces (x).

- ✓ Cada qué tiempo dosifica: Dos meses (x), tres meses (), cuatro meses (), cinco meses (), seis meses (), una vez al año ().

- ✓ En qué meses dosifica: Ene (), Feb (x), Mz (), Ab (x), My (), Jun (x)

Jul (), Ag (x), Set (), Oct (x), Nov (), Dic (x).

- ✓ Para dosificar, pesa a los animales: sí () no (x).
- ✓ Cómo estima el peso de los animales para dosificar: Estima al ojo (x), pesa con cinta bovinométrica (), pesa con balanza ().
- ✓ La dosis del antiparasitario de dónde lo obtiene: Del inserto (x), del Médico Veterinario (), de la Farmacia Veterinaria (), otro.....
- ✓ Le da la dosis exacta (), un poco menos (), un poco más(x).
- ✓ Cómo sabe que el antiparasitario es eficaz: Calma la diarrea (x), sube la producción de leche (x), ausencia de huevos de *Fasciola* diagnosticado en el laboratorio ().
- ✓ Quién dosifica: El Médico Veterinario (x), el técnico (), el obrero ().
- ✓ Tiene conocimiento de resistencia de los parásitos a los antiparasitarios: Sí (x), no ().
- ✓ Tiene registro de dosificaciones del año en curso: Sí (x) No ().
- ✓ Tiene registro de dosificaciones de los últimos 5 años: Sí () No (x).

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

ENCUESTA N° 2

**“EFICACIA ANTIHELMÍNTICA DEL CLOSANTEL EN EL CONTROL DE
Fasciola hepatica EN BOVINOS DEL VALLE DE CAJAMARCA”**

El presente instrumento será aplicado para obtener los datos que se relacionan a resistencia antihelmíntica de *Fasciola hepatica* al Closantel en bovinos, en tal sentido solicitamos a usted, estimado señor (a), joven, señorita; tenga la amabilidad de darnos la mejor información al respecto, cuya investigación tiene la finalidad de analizar los posibles causales relacionados a resistencia antihelmíntica de *Fasciola hepatica* al Closantel en bovinos.

Toda información de usted será importante y servirá para analizarla.

III. Datos informativos:

Nombre del establo: Tartar-valle de Cajamarca

Lugar: Este Valle Cajamarca

Propietario: Facultad de Ciencias Veterinarias -Universidad Nacional de
Cajamarca

IV. Preguntas:

Respecto a Manejo:

✓ Qué especies animales cría junto a sus bovinos: Ovinos(), porcinos ()
equinos (), camélidos (), otras....., ninguna especie (x).

- ✓ Qué manejo realiza con las heces de las instalaciones del establo. Estercolero para compus (), para lumbricultura (), esparce las heces frescas en el potrero (x), deposita en estercolero y esparce al potrero (x), ninguna ().
- ✓ En estos últimos cinco años, ha incorporado a su establo bovinos procedentes de otros lugares: Nacional (), internacional (), ninguna incorporación (x).

Respecto a la quimioterapia:

- ✓ Qué razones determinan el uso de antiparasitario fasciolicida: Observación de: Diarrea (x), pelo hirsuto (), disminución de la producción de leche (), presencia de huevos de *Fasciola* diagnosticado en laboratorio (), época de lluvia (), costumbre (x).
- ✓ Qué criterios determinan la elección de un antiparasitario: Marca del producto (), Nombre del producto (x), calme la diarrea (x), sube la producción de leche ().
- ✓ Qué antiparasitarios fasciolicidas utilizó en los últimos cinco años: Triclabendazol (), closantel (), nitroxinil (), clorsulón (x), otro.....
- ✓ En los cinco últimos años, qué nombres comerciales de los antiparasitarios fasciolicidas utilizó: Iver drog® (Clorsulón 10% + Ivermectina 1%), Laboratorios Drogavet.
- ✓ Cuántas veces al año dosifica: 1 vez (), dos veces (), tres veces (), cuatro veces (x) cinco veces ().
- ✓ Cada qué tiempo dosifica: Dos meses (), tres meses (x), cuatro meses (), cinco meses (), seis meses (), una vez al año ().
- ✓ En qué meses dosifica: Ene (x), Feb (), Mz (), Ab (x), My (), Ju

() Jul (x), Ag (), Set (), Oct (x), Nov (), Dic ().

- ✓ Para dosificar, pesa a los animales: sí () no (x).
- ✓ Cómo estima el peso de los animales para dosificar: Estima al ojo (x), pesa con cinta bovinométrica (), pesa con balanza ().
- ✓ La dosis del antiparasitario de dónde lo obtiene: Del inserto (x), del Médico Veterinario (), de la Farmacia Veterinaria (), otro.....
- ✓ Le da la dosis exacta (), un poco menos (), un poco más(x).
- ✓ Cómo sabe que el antiparasitario es eficaz: Calma la diarrea (x), sube la producción de leche (), ausencia de huevos de *Fasciola* diagnosticado en el laboratorio ().
- ✓ Quién dosifica: El Médico Veterinario (x), el técnico (), el obrero ().
- ✓ Tiene conocimiento de resistencia de los parásitos a los antiparasitarios: Sí (x), no ().
- ✓ Tiene registro de dosificaciones del año en curso: Sí (x) No ().
- ✓ Tiene registro de dosificaciones de los últimos 5 años: Sí () No (x).

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

ENCUESTA N° 3

“EFICACIA ANTIHELMÍNTICA DEL CLOSANTEL EN EL CONTROL DE *Fasciola hepatica* EN BOVINOS DEL VALLE DE CAJAMARCA”

El presente instrumento será aplicado para obtener los datos que se relacionan a resistencia antihelmíntica de *Fasciola hepatica* al Closantel en bovinos, en tal sentido solicitamos a usted, estimado señor (a), joven, señorita; tenga la amabilidad de darnos la mejor información al respecto, cuya investigación tiene la finalidad de analizar los posibles causales relacionados a resistencia antihelmíntica de *Fasciola hepatica* al Closantel en bovinos.

Toda información de usted será importante y servirá para analizarla.

V. Datos informativos:

Nombre del estable: Los Alpes -valle de Cajamarca

Lugar: Nor Oeste Valle Cajamarca

Propietario: Rosa Zambrano

VI. Preguntas:

Respecto a Manejo:

- ✓ Qué especies animales cría junto a sus bovinos: Ovinos(), porcinos (x) equinos (), camélidos (), otrasNinguna especie ().
- ✓ Qué manejo realiza con las heces de las instalaciones del estable. Estercolero

para compus (), para lumbricultura (), esparce las heces frescas en el potrero (), Deposita en estercolero y esparce al potrero (x), ninguna ().

- ✓ En estos últimos cinco años, ha incorporado a su establo bovinos procedentes de otros lugares: Nacional (), internacional (), ninguna incorporación (x).

Respecto a la quimioterapia:

- ✓ Qué razones determinan el uso de antiparasitario fasciolicida: Observación de: Diarrea (x), pelo hirsuto (x), disminución de la producción de leche (x), presencia de huevos de *Fasciola* diagnosticado en laboratorio (), época de lluvia (), costumbre (x).

- ✓ Qué criterios determinan la elección de un antiparasitario: Marca del producto (), Nombre del producto (x), calme la diarrea (x), sube la producción de leche (x).

- ✓ Qué antiparasitarios fasciolicidas utilizó en los últimos cinco años: Triclabendazol (), Closantel (), Nitroxinil (x), Clorsulón (x), otro.....

- ✓ En los cinco últimos años, qué nombres comerciales de los antiparasitarios fasciolicidas utilizó: Ivomec F® (Clorsulón 10% + Ivermectina 1%), Nitromic ® (Nitroxinil 34%).

- ✓ Cuántas veces al año dosifica: 1 vez (), dos veces (), tres veces (x), cuatro veces () cinco veces ().

- ✓ Cada qué tiempo dosifica: Dos meses (), tres meses (), cuatro meses (x), cinco meses (), seis meses (), una vez al año ().

- ✓ En qué meses dosifica: Ene (x), Feb (), Mz (), Ab (x), My (), Ju () Jul (), Ag (x), Set (), Oct (), Nov (x), Dic ().

- ✓ Para dosificar, pesa a los animales: sí (x) no ().
- ✓ Cómo estima el peso de los animales para dosificar: Estima al ojo (), pesa con cinta bovinométrica (x), pesa con balanza ().
- ✓ La dosis del antiparasitario de dónde lo obtiene: Del inserto (x), del Médico Veterinario (), de la Farmacia Veterinaria (), otro.....
- ✓ Le da la dosis exacta (x), un poco menos (), un poco más().
- ✓ Cómo sabe que el antiparasitario es eficaz: Calma la diarrea (x), sube la producción de leche (x), ausencia de huevos de Fasciola diagnosticado en el laboratorio (), otro: Mejora la condición corporal.
- ✓ Quién dosifica: El Médico Veterinario (x), el técnico (), el obrero ().
- ✓ Tiene conocimiento de resistencia de los parásitos a los antiparasitarios: Sí (x), no ().
- ✓ Tiene registro de dosificaciones del año en curso: Sí (x) No ().
- ✓ Tiene registro de dosificaciones de los últimos 5 años: Sí () No (x).

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

ENCUESTA N° 4

“EFICACIA ANTIHELMÍNTICA DEL CLOSANTEL EN EL CONTROL DE *Fasciola hepatica* EN BOVINOS DEL VALLE DE CAJAMARCA”

El presente instrumento será aplicado para obtener los datos que se relacionan a resistencia antihelmíntica de *Fasciola hepatica* al Closantel en bovinos, en tal sentido solicitamos a usted, estimado señor (a), joven, señorita; tenga la amabilidad de darnos la mejor información al respecto, cuya investigación tiene la finalidad de analizar los posibles causales relacionados a resistencia antihelmíntica de *Fasciola hepatica* al Closantel en bovinos.

Toda información de usted será importante y servirá para analizarla.

VII. Datos informativos:

Nombre del estable: La Victoria -valle de Cajamarca

Lugar: Sur Valle Cajamarca

Propietario: Facultad Ciencias Agrarias-UNC

VIII. Preguntas:

Respecto a Manejo:

- ✓ Qué especies animales cría junto a sus bovinos: Ovinos(x), porcinos ()
equinos (), camélidos (), otras: Pavos, cuyes, conejos (alimentados con alfalfa) Ninguna especie ().

- ✓ Qué manejo realiza con las heces de las instalaciones del establo. Estercolero para compus (x), para lumbricultura (x), esparce las heces frescas en el potrero (x), Deposita en estercolero y esparce al potrero (x), ninguna (). Heces de establo para lumbricultura empírica, heces de corral sin tratamiento para potrero ().
- ✓ En estos últimos cinco años, ha incorporado a su establo bovinos procedentes de otros lugares: Nacional (), internacional (), ninguna incorporación (x).

Respecto a la quimioterapia:

- ✓ Qué razones determinan el uso de antiparasitario fasciolicida: Observación de: Diarrea (x), pelo hirsuto (), disminución de la producción de leche (x), presencia de huevos de *Fasciola* diagnosticado en laboratorio (), época de lluvia (), costumbre () inicio y final de lluvias (x).
- ✓ Qué criterios determinan la elección de un antiparasitario: Marca del producto (x), Nombre del producto (), calme la diarrea (x), sube la producción de leche (x).
- ✓ Qué antiparasitarios fasciolicidas utilizó en los últimos cinco años: Triclabendazol (x), Closantel (), Nitroxinil (x), Clorsulón (x), otro.....
- ✓ En los cinco últimos años, qué nombres comerciales de los antiparasitarios fasciolicidas utilizó: Ivomec F® (Clorsulón + Ivermectina), Nitromic® (Nitroxinil), Trisan® (Triclabendazol 12%).
- ✓ Cuántas veces al año dosifica: 1 vez (), dos veces (x), tres veces (x), cuatro veces () cinco veces ().
- ✓ Cada qué tiempo dosifica: Dos meses (), tres meses (), cuatro meses (x),

cinco meses (), seis meses (), una vez al año ().

- ✓ En qué meses dosifica: Ene (x), Feb (), Mz (), Ab (x), My (), Ju ()
Jul (), Ag (), Set (), Oct (), Nov (x), Dic ().
- ✓ Para dosificar, pesa a los animales: sí () no (x).
- ✓ Cómo estima el peso de los animales para dosificar: Estima al ojo (x), pesa con cinta bovinométrica (x), pesa con balanza ().
- ✓ La dosis del antiparasitario de dónde lo obtiene: Del inserto (x), del Médico Veterinario (), de la Farmacia Veterinaria (), otro.....
- ✓ Le da la dosis exacta (), un poco menos (), un poco más(x).
- ✓ Cómo sabe que el antiparasitario es eficaz: Calma la diarrea (x), sube la producción de leche (x), ausencia de huevos de Fasciola diagnosticado en el laboratorio (), mejora la condición corporal (x).
- ✓ Quién dosifica: El Médico Veterinario (x), el técnico (), el obrero ().
- ✓ Tiene conocimiento de resistencia de los parásitos a los antiparasitarios: Sí (x), no ().
- ✓ Tiene registro de dosificaciones del año en curso: Sí (x) No ().
- ✓ Tiene registro de dosificaciones de los últimos 5 años: Sí () No (x).