

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**



**ANTIHELMÍNTICOS EN EL CONTROL DE NEMATODOS ESTRONGILÍDEOS  
GASTROENTÉRICOS EN VACUNOS EN LA COOPERATIVA AGRARIA DE  
TRABAJADORES ATAHUALPA JERUSALÉN, GRANJA PORCÓN-  
CAJAMARCA, 2014.**

**TESIS**

**Para optar el Título Profesional de**

**MÉDICO VETERINARIO**

**Presentada por la Bachiller**

**LIZETH PORTAL CHICOMA**

**ASESOR**

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

**CAJAMARCA - PERÚ**

**2014**



## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Cajamarca, siendo las once horas con treinta y cinco minutos de la mañana del diecisiete de noviembre del dos mil catorce, se reunieron en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Veterinarias “**César Bazán Vásquez**” de la Universidad Nacional de Cajamarca, los integrantes del Jurado Calificador, designados por el Consejo de Facultad, con el objeto de evaluar la sustentación de Tesis Titulada “**ANTIHELMÍNTICOS EN EL CONTROL DE NEMATODOS ESTRONGILÍDEOS GASTROENTÉRICOS EN VACUNOS EN LA COOPERATIVA AGRARIA DE TRABAJADORES ATAHUALPA JERUSALÉN, GRANJA PORCÓN – CAJAMARCA 2014**”, presentada por la Bachiller en Medicina Veterinaria: **Lizeth Portal Chicoma**.

Acto seguido el Presidente del Jurado procedió a dar por iniciada la sustentación y para los efectos del caso se invitó a la sustentante a exponer su trabajo.

Concluida la exposición de la Tesis, los miembros del Jurado Calificador formularon las preguntas que consideraron convenientes, relacionadas con el trabajo presentado; asimismo, el Presidente invitó al público asistente a formular preguntas concernientes al tema.

Después de realizar la calificación de acuerdo a las Pautas de Evaluación señaladas en el Reglamento de Tesis, el Jurado Calificador acordó: **APROBAR** la sustentación de Tesis para optar el Título Profesional de **MÉDICO VETERINARIO**, con el Calificativo Final obtenido de **QUINCE (15)**.

Siendo las doce horas con cuarenta minutos del mismo día, el Presidente del Jurado Calificador dio por concluido el proceso de sustentación.

  
Dr. TEÓFILO SEVERINO TORREL PAJARES  
PRESIDENTE

  
M.Cs. M.V. ABEL MELCHOR GARCÍA BAZÁN  
SECRETARIO

  
M.Sc. M.V. JOSÉ FERNANDO CORONADO LEÓN  
VOCAL

## **DEDICATORIA**

A Dios; por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida. Por los triunfos y los momentos difíciles que me han enseñado a valorarlo cada día más.

A mis padres: Roberto y María, por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional.

A mis hermanos Ronald y Silvana que hicieron un sacrificio personal mientras lo realizaba.

**LA AUTORA**

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional de Cajamarca, Facultad de Ciencias Veterinarias, Alma Máter, que me dio la oportunidad de formarme en lo personal y profesional.

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

Al señor Alejandro Quispe Chilón, Gerente de la Cooperativa Agraria de Trabajadores Atahualpa Jerusalén Granja Porcón, por permitirnos manipular a los bovinos Jersey y realizar la presente investigación.

Al señor Jesús Quispe Castrejón, por su amable amistad y su valiosa ayuda en la coordinación del trabajo de campo de la investigación.

Al Médico Veterinario Róger Bueno Cabrera, por su apoyo permanente y su noble amistad.

A mis amigos por su participación, sus sugerencias y sobre todo su apoyo. Sin ellos este trabajo de investigación no habría sido posible.

**LA AUTORA**

## RESUMEN

La investigación se realizó en la Cooperativa Agraria de Trabajadores Atahualpa Jerusalén Granja Porcón, durante el mes de agosto del 2014, con la finalidad de determinar la eficacia del Fenbendazol, Levamisol e Ivermectina en el control de nematodos estrombilídeos gastrointestinales en vacunos. Se utilizó 30 vacunos hembras, crianza al pastoreo, alimentados con Rye grass más Trébol. Los animales fueron distribuidos en tres grupos de 10 animales cada uno, cuatro meses sin medicación antiparasitaria, homogenizados por hpg. La dosis terapéutica de Fenbendazol y Levamisol fue 7,5mg/kg e Ivermectina de 0,2mg/kg, la dosis se calculó de acuerdo al peso corporal individual. Las heces se recolectaron directamente del recto, 3 días antes y al día 14 post dosificación. La resistencia antihelmíntica, se declaró cuando la eficacia fue menor al 95% y se determinó mediante el Test de Reducción del Conteo de Huevos por gramo de heces (T.R.C.H.) y cultivo de larvas. En los resultados se determinó que el porcentaje de eficacia de los tres antihelmínticos estuvo por debajo del 95%, Fenbendazol 70%, Levamisol 52% e Ivermectina 88% y al cultivo de larvas se encontró *Trichostrongylus spp* en el grupo Levamisol, *Ostertagia spp* y *Trichostrongylus spp* en los grupos Fenbendazol e Ivermectina; respectivamente. Se concluye que *Trichostrongylus spp* es resistente al Fenbendazol, Levamisol e Ivermectina, por lo tanto presenta resistencia múltiple y *Ostertagia spp* es resistente a Fenbendazol e Ivermectina, lo cual indica que presenta resistencia cruzada.

**Palabras clave:** Antihelmínticos, antiparasitarios, eficacia, nematodos, resistencia.

## ABSTRACT

This research was carried out in the Cooperativa Agraria de Trabajadores Atahualpa Jerusalen Granja Porcon during the month of August of 2014, with the aim of determining the efficacy of Fenbendazole 10%, Levamisole 15% and Ivermectina 1% in the control of nematodes in cattle gastrointestinal strongilideos. We used 30 female cattle animals, of the race Jersey, breeding pastoralists, fed with Rye grass more clover. Animals were divided into three groups 10 animals each, four months without antiparasitic medication, homogenized by hpg. The therapeutic dosage of Fenbendazole and Levamisole was 7,5mg/kg and 0,2mg/kg Ivermectina, dose was calculated according to individual body weight. Feces were collected directly from the rectum, 3 days before and the day 14 post dosing. The anthelmintic resistance was declared when efficiency was less than 95% and was determined by the Test of reduction of the count of eggs per gram of feces (FECRT) and cultivation of larvae. The results determined that the efficacy of anthelmintics three percentage was below 95%, Fenbendazole 70%, Levamisole 52% and Ivermectina 88% and cultivation of larvae found *Trichostrongylus spp* in the Group Levamisole, *Ostertagia spp* and *Trichostrongylus spp* Ivermectin and Fenbendazole groups. It is concluded to *Trichostrongylus spp* is the Fenbendazole, Levamisole and Ivermectina resistant, therefore presents multiple resistance and *Ostertagia spp* is resistant to Fenbendazole and Ivermectina, which indicates that you there are cross-resistant.

**Keywords:** Anthelmintics, antiparasitic, efficiency, nematodes, resistance.

# ÍNDICE

Pág.

**DEDICATORIA**

**AGRADECIMIENTO**

**RESUMEN**

**ABSTRACT**

## **CAPÍTULO I**

Introducción .....	1
Objetivos .....	3

## **CAPÍTULO II**

<b>MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>4</b>
2.1. Antecedentes de la investigación .....	4
2.2. Base teórica .....	6
2.2.1. Nematodos .....	6
2.2.2. Antihelmínticos .....	12
2.2.2.1. Fenbendazol .....	13
2.2.2.2. Levamisol .....	16
2.2.2.3. Ivermectina .....	19

2.2.3. Resistencia a los antihelmínticos .....	23
 <b>CAPÍTULO III</b>	
<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>28</b>
3.1. Localización .....	28
3.2. Materiales y equipos .....	29
3.2.1. Material biológico .....	29
3.2.2. Material químico.....	29
3.2.3. Material de trabajo de campo .....	29
3.2.4. Material y equipo de laboratorio .....	30
3.3. Metodología .....	31
3.3.1. Actividades realizadas en el trabajo de campo .....	31
3.3.2. Trabajo de escritorio .....	32
3.3.3. Trabajo de laboratorio .....	33
3.3.4. Interpretación de resultados .....	34
3.3.5. Cálculo del porcentaje de eficacia de los antihelmínticos .....	34
3.3.6. Análisis estadístico .....	34
 <b>CAPÍTULO IV</b>	
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>35</b>
 <b>CAPÍTULO V</b>	
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>40</b>
 <b>CAPÍTULO VI</b>	
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>42</b>



## CAPÍTULO VII

<b>REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>43</b>
<b>ANEXO .....</b>	<b>47</b>
Anexo 1. Figuras que registran la localización del trabajo de tesis y la metodología utilizada. ....	47
Figura 5. Localización del trabajo de investigación.....	47
Figura 6. Material biológico utilizado.....	47
Figura 7. Estimación del peso vivo.....	48
Figura 8. Recolección de muestra de heces .....	48
Figura 9. Dosificación de los animales.....	49
Anexo 2. Formación de grupos experimentales para evaluar los antiparasitarios .....	50
Cuadro 3. Grupo Levamisol .....	50
Cuadro 4. Grupo Fenbendazol .....	50
Cuadro 5. Grupo Ivermectina .....	51
Anexo 3. Registro de datos: Identificación, carga parasitaria (hpg antes de la dosificación y post dosificación, peso vivo, dosis terapéutica de cada antiparasitario.....	52
Cuadro 6. Grupo Levamisol .....	52
Cuadro 7. Grupo Fenbendazol.....	53
Cuadro 8. Grupo Ivermectina .....	54
Anexo 4. Técnica Mc Máster modificada por Roberts y O'Sullivan, con cámara INTA (Fiel y col, 2011).....	55
Figuras: 10,11,12,13,14; registran los pasos de la técnica Mc Máster y cámara INTA .....	56

Anexo5. Cultivo de larvas utilizando la técnica de Roberts y O'Sullivan...	57
Figuras: 15, 16; registran los pasos de la técnica .....	58
Anexo 6. Técnica Baermann para sedimentar y colectar larvas L3 .....	59
Figuras: 17, 18, 19, 20; registran los pasos de la técnica.....	60
Anexo 7. Identificación de géneros de nematodos .....	61
Cuadro 9. Medidas ( $\mu\text{m}$ ) de larvas infectivas de nematodos gastrointestinales de bovinos (Resumen del trabajo de Keith, R.K. 1953 .....	61
Anexo 8. Interpretación de resultados .....	62
Cuadro 10. Interpretación de la eficacia en relación a resistencia antihelmíntica de tres grupos químicos en el control de nematodos strongilídeos gastroentéricos en bovinos de la Cooperativa Agraria de Trabajadores Atahualpa Jerusalén Granja Porcón. Provincia Cajamarca, 2014.....	62
Anexo 9. Análisis estadístico: Prueba de "Z" de proporciones aplicado a los resultados de eficacia de Fenbendazol, Levamisol e Ivermectina en relación a la hipótesis planteada.....	63

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

La gastroenteritis verminosa de los rumiantes es una enfermedad parasitaria de curso agudo o crónico que afecta primariamente a animales jóvenes, producida por un complejo etiológico de nematodos estromgilídeos, que se caracteriza por emaciación progresiva, disturbios digestivos, produciendo serios perjuicios económicos en la explotación pecuaria (Núñez, 1987). Generalmente las infecciones son mixtas, participando dos o más géneros y varias especies. Lo que explica la denominación general de "gastroenteritis parasitarias", aunque son más frecuentes los trichostrongilidos (Cordero y col., 1999).

En diferentes zonas de la región Cajamarca, se explota ganado vacuno de raza especializada a la producción láctea y también vacunos criollos para producir trabajo, carne y leche. Sin embargo, la estromgilosis gastroentérica disminuyen la producción; y en el intento de controlarla se opta por la quimioterapia indiscriminada como única alternativa de control parasitario, basándose en el diagnóstico clínico o al obtener un resultado positivo a la presencia de huevos de nematodos en un análisis coproparasitológico cualitativo, que algunas veces daría lugar a dosificaciones innecesarias, acortando la vida útil de un antiparasitario por la generación de resistencia antihelmíntica.

La resistencia antihelmíntica se presenta debido a la alta frecuencia de desparasitaciones, subdosificaciones, uso indiscriminado de antiparasitarios y la falta de rotación de principios activos (Fiel y col. 2001; Botana y

col, 2002); y es influenciada por la eficacia de la droga, deposición de huevos, manejo de pasturas y condiciones pluviométricas (Barnes, 1995).

El fenómeno de la resistencia a los fármacos es esencialmente un cambio en la frecuencia de genes de una población de vermes 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). La evolución de la resistencia es determinada por el grado en que los supervivientes a un tratamiento contribuyen con sus genes a futuras generaciones (Barnes, 1995).

En la Cooperativa Agraria de Trabajadores "Atahualpa Jerusalén, Granja Porcón", los bovinos son dosificados con antiparasitarios con una frecuencia de cuatro meses lo cual es probable que los antihelmínticos de uso común como el levamisol, fenbendazol e ivermectina hayan generado resistencia antihelmíntica en los nematodos.

- **OBJETIVOS**

**Objetivo general.**

Evaluar la eficacia de Fenbendazol, Levamisol e Ivermectina; en el control de Nematodos estrombilídeos gastroentéricos en vacunos, mediante el test de reducción del conteo de huevos y cultivo de larvas, en la Cooperativa Agraria de Trabajadores Atahualpa Jerusalén, Granja Porcón – Cajamarca.

**Objetivos específicos:**

- ✓ Determinar si los Nematodos estrombilídeos gastroentéricos en vacunos de la Cooperativa Agraria de Trabajadores Atahualpa Jerusalén-Granja Porcón, son resistentes a Levamisol, Fenbendazol, e Ivermectina.
- ✓ Identificar los géneros de nematodos estrombilídeos gastroentéricos resistentes a Levamisol, Fenbendazol e Ivermectina.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

El primer informe de resistencia de *Haemonchus contortus* a Fenotiazina se dio en Estados Unidos 1957, en 1987 eran muy pocos los países que presentaban datos de resistencia a los antihelmínticos, en tanto que en 1999 la Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y agricultura (FAO), señala evidencias de resistencia en 48 países de 161 investigados donde se puede observar que el problema se ha generalizado a escala mundial. Hoy se sabe que los helmintos parásitos han desarrollado resistencia a todos los grupos antiparasitarios disponibles para ovinos, caprinos, bovinos, equinos, porcinos y aun en el hombre. En bovinos los nematodos parásitos resistentes notificados son *Haemonchus* y *Ostertagia* a Bencimidazoles e Imidazotiazoles, *Trichostrongylus* a Imidazotiazoles y Lactonas Macroclínicas, y *Cooperia* a Bencimidazoles (Botana y col., 2002).

En Perú, se ha reportado el fenómeno de resistencia en cinco predios de la campiña de Cajamarca, a Levamisol en todos los predios por alcanzar bajos porcentajes de reducción en el conteo de huevos; en el predio "La Argentina" (58%); "ABC"(54%); "El Cortijo"(73%) y "Tartar-UNC"(31%). Así como también al Albendazol y Fenbendazol en el predio "La Argentina" (79 % y 63%), y en el predio "Tartar-UNC" (79 % y 86%); respectivamente. Sin embargo, no hubo indicios de resistencia frente a la ivermectina dado a que alcanzó el 100% de eficacia en todos los predios antes indicados, y al cultivo de larvas, se encontró *Haemonchus* resistente al Levamisol en todos los predios investigados, y *Haemonchus* y *Trichostrongylus* en el predio ABC (Rojas, 2008).

En Chile, en bovinos se detectó resistencia antihelmíntica de nematodos estrogilídeos: *Trichostrongylus*, *Cooperia* y *Nematodirus* frente a ivermectina al 1% a dosis de 0.2mg/kgpv mediante el test de reducción del conteo de huevos y cultivo de larvas. La eficacia encontrada fue de 73,5% en un predio y de 90,3% en otro predio (Sievers y Alocilla, 2007).

En Venezuela, mediante el test de reducción del conteo de huevos (T.R.C.H.), determinaron eficacia antihelmíntica en becerros bajo tres sistemas de explotación: Tradicional, intermedio y especializado. En el sistema especializado detectaron eficacias de 70% para Ivermectina, Albendazol con 92% y 73% de eficacia para Levamisol; estos porcentajes muestran la presentación de resistencia antihelmíntica a los tres antiparasitarios (Sandoval y col., 2001).

## 2.2 BASE TEÓRICA

### 2.2.1. Nematodos

- **Definición.** Los nematodos son gusanos redondos, no segmentados, especies libres y parásitas, cuya morfología es básicamente semejante. El cuerpo es filiforme, con simetría bilateral, pero las hembras de algunas especies desarrollan dilataciones corporales más o menos globulosas. Tienen un tracto digestivo completo y una cutícula resistente, elástica y semejante a la piel. El área bucal puede estar especializada para pegársele al huésped y alimentarse de él. El tamaño de los nematodos varía desde pocos milímetros hasta más de un metro de longitud. Poseen sexos separados y ciclos vitales directos o indirectos (Cordero y col., 1999).
- **Nematodiasis gastrointestinal en vacunos.** Es una infección del estómago y los intestinos, de curso generalmente subclínico, considerada como un importante factor sanitario en la producción de los animales de pastoreo. En el mundo es el parasitismo más frecuente y más importante (Rojas, 1990).
- **Etiología.** Los nematodos gastrointestinales parásitos de los rumiantes pertenecen a diversas familias y géneros, destacando las siguientes: **Trichostrongylidae** (*Haemonchus*, *Ostertagia*, *Trichostrongylus*, *Cooperia*, *Nematodirus*). **Ancylostomatidae** (*Bunostomum*); **Strongylidae** (*Chabertia* y *Oesophagostomum*). Generalmente las infecciones son mixtas, participando dos o más géneros y varias especies. Lo que explica la denominación general de “gastroenteritis parasitarias”, aunque son más frecuentes los *trichostrongílicos* (Cordero y col., 1999).



- **Ciclo de vida.** Es directo, los animales parasitados excretan con sus heces huevos prácticamente indiferenciables. Los huevos tienen forma ovoide, son incoloros y de cáscara fina. Su tamaño oscila entre 70-100 micras de longitud por 40-60 micras de anchura. Excepto los de *Nematodirus* que miden más de 130 micras de longitud. Salen con las heces en fase de blástula con un número variable de blastómeros, según la especie. *Nematodirus* se reconoce fácilmente por su tamaño y por tener 8 blastómeros.

La excreción de huevos es variable y depende del hospedador (edad, estado inmunitario, consistencia fecal) y del parásito (prolificidad de las hembras). Al respecto, algunos parásitos son muy prolíficos (*Haemonchus*: 5000 – 10 000 huevos/día); moderadamente prolíficos (*Trichostrongylus* y *Ostertagia*: 100 – 200 huevos/día); y poco prolíficos (*Nematodirus*: 50 huevos/día) (Cordero y col., 1999).

El periodo prepatente de *Trichostrongylus axei* es de unos 20 días, *Ostertagia* sp 18-21 días, *Cooperia* sp 14 días, *Haemonchus placei* 26 a 28 días, *Bunostomum* sp de 30 a 56 días, *Chabertia ovina* 49 días, *Oesophagostomum radiatum* 32 días, *Nematodirus* sp 15 a 21 días (Soulsby, 1987).

- **Epidemiología.** Uno de los factores más relevantes en la epidemiología de las *tricostrongilidosis* es la elevación periparto, que constituye una importante fuente de contaminación de los animales. Consiste en un incremento en la excreción fecal de huevos; hay evidencias que indican que es resultado de una ruptura inmunitaria temporal que puede estar relacionada con cambios endocrinos. En el exterior, el desarrollo y la supervivencia dependen, sobre todo, de la temperatura y la humedad. La temperatura crítica para el

desarrollo de los parásitos se estima en 5°C para *Ostertagia*, 12°C para *Haemonchus*. A medida que la temperatura aumenta lo hace también la velocidad de desarrollo hasta alcanzar el máximo alrededor de los 26 – 27°C en la mayoría de las especies. Las larvas son capaces de desarrollarse en pequeño número si la humedad relativa oscila entre el 70 y 100%, pero en general se requiere un mínimo de 96% para el desarrollo (Cordero y col., 1999).

Son también una de las causas más importantes de daño para la producción animal porque provoca pérdidas en la ganancia de peso corporal, particularmente en animales de engorde, disminuye el aprovechamiento del recurso forrajero disponible debido a la pérdida de apetito de los animales parasitados, deterioran la salud general del hato con posibilidad de depresión de la respuesta inmune y posibilidad de infecciones microbianas secundarias, aumentan los costos de producción por gastos en tratamientos antiparasitarios y provocan mortalidad de animales severamente afectados (Eddi, 1996).

El Perú tiene un territorio que presenta diversidad de climas y por lo tanto diferentes patrones epidemiológicos de dispersión de los parásitos. Así, las condiciones climáticas óptimas para *Haemonchus* es de 50mm de precipitación pluvial y temperatura ambiental mayor de 15°C; para *Ostertagia* y *trichostrongylus*, 50 mm de precipitación y temperatura ambiental entre 6° a 20°C (Rojas, 1990).

- **Patogenia.** Tanto las larvas en desarrollo como los nematodos adultos pueden ser patógenos; el curso de la infección depende del número de los nematodos, la composición genérica de la carga parasitaria (ejemplo; *Haemonchus* es hematófago y por lo tanto más patógeno), la edad y nutrición del hospedador (Kassai, 2002). Las especies que se localizan

en el cuajar producen lesiones en las glándulas gástricas, lo que origina su dilatación y una marcada protrusión sobre la superficie de la mucosa. La parasitosis en el abomaso da lugar a la disminución de la secreción de ácido clorhídrico (HCl) lo cual repercute negativamente en la digestión proteica. También aumenta la síntesis de gastrina que conlleva al aumento de la contractibilidad del cuajar y del peristaltismo intestinal (Cordero y col., 1999). Además de lo anteriormente mencionado, las larvas en la cuarta fase como los adultos de *Haemonchus* son fuertes chupadores de sangre, originando pérdidas de los componentes sanguíneos incluyendo eritrocitos y proteína plasmática (Blood y col., 1988).

En la nematodiasis intestinal las lesiones más frecuentes son: Alargamiento de las criptas, engrosamiento de la lámina propia, atrofia de las vellosidades, deterioro de las uniones celulares con incremento de la permeabilidad, edema (Rojas, 1990).

- **Síntomas clínicos.** La gastroenteritis verminosa de los rumiantes, es una infección de curso agudo a crónico y que puede cursar en forma clínica o subclínica y está asociada a una serie de signos clínicos relacionados con factores del parásito (ciclo endógeno de las especies implicadas, hábitos alimenticios, dosis infectante) y del hospedador (edad, receptividad, estado nutritivo). La mayoría de las infecciones son leves y no producen signos clínicos manifiestos. Sin embargo, sobre todo en los animales más jóvenes, que pueden albergar cargas parasitarias mucho más elevadas que los adultos, las tricostrongilidosis dan lugar a signos clínicos cuya intensidad es variable. En este sentido, se pueden considerar dos formas clínicas: aguda y crónica. En la forma aguda es frecuente en los animales jóvenes, consiste en una gastroenteritis catarral con diarrea, deshidratación y ligera

anemia; en la forma crónica es más frecuente en los adultos, se caracteriza básicamente por emaciación; los animales pierden progresivamente el apetito con disminución del peso corporal hasta llegar a una atrofia de la musculatura esquelética (Cordero y col., 1999). La diarrea puede ser profusa acuosa que normalmente es persistente (Merck & CO, 1988), en otros casos puede tener un olor pútrido, de color oscuro, frecuente o intermitente, con cuadros de deshidratación marcada que en terneros puede ser mortal (Kassai, 2002). Concurrentemente con la diarrea y la anemia, hay a menudo hipoproteinemia y edema, especialmente debajo de la mandíbula inferior (mandíbula en botella) y algunas veces a lo largo del abdomen ventral. Las infecciones severas pueden producir la muerte antes de que aparezcan los signos clínicos. Otros signos variables incluyen debilidad, pelo áspero y anorexia (Merck & CO, 1988).

- **Diagnóstico.** El diagnóstico puede realizarse mediante la observación de la sintomatología clínica, la utilización de técnicas específicas (biopatológicas, parasitológicas e inmunológicas) y los hallazgos de necropsia (Cordero y col., 1999). El método coproparasitológico más utilizado es el de flotación fecal que se basan en las diferencias existentes en la densidad de los huevos, en relación de los residuos fecales; el mismo que permite concentrar al material parasitario en las muestras fecales; para lo cual se debe usar soluciones de flotación (saturadas con azúcar o sales). El resultado de utilizar una solución de flotación es que los huevos de parásito flotan en la superficie del líquido y las partículas de material fecal quedan en el fondo, lo que facilita la detección de los huevos de parásitos; siendo las soluciones de flotación más utilizada en veterinaria es la solución de Sheather compuesta por azúcar (Hendrix, 1999). El diagnóstico puede ser basado

en el conteo de huevos por gramo de heces expresado en hpg (Ueno y Gonçalves, 1998), la técnica Mc Master es la más práctica para evaluar fármacos nematocidas (Echevarría, 2002).

- **Prevención.** La prevención generalmente implica la disminución de cargas parasitaria, en el huésped, por debajo del nivel al cual puede ocurrir pérdida económica. Para hacer esto eficazmente se necesita un conocimiento íntimo de los factores epidemiológicos y ecológicos que gobiernan las poblaciones larvales de los campos de pastoreo y del papel que desempeña la resistencia del huésped a la Infección (Merck & CO. 1988). Las actividades que deben tomarse en cuenta para un control o prevención estratégica son: Adecuado nivel de alimentación, manejo de pasturas, manejo del animal joven, manejo del binomio madre cría, dosificaciones antinematódicas estratégicas (Rojas, 1990), evitar pastoreo en zonas húmedas, selección y crianza de animales resistentes (Kassai, 2002), control biológico, rotación de principios activos (Mottier y Lanusse, 2001).
- **Tratamiento.** El control y profilaxis de las tricostrongilidosis debe contemplar un conjunto de acciones que combinen los tratamientos antihelmínticos estratégicos con prácticas de pastoreo que limiten los riesgos de infección. Estas medidas deben ser diseñadas para cada zona de acuerdo con los sistemas de explotación y las condiciones climáticas (Cordero y col., 1999).

## 2.2.2. ANTIHELMÍNTICOS

**Cuadro 1.** Principales propiedades de los antihelmínticos más utilizados en bovinos.

<b>MECANISMO DE ACCIÓN</b>	<b>FAMILIA FARMACOLÓGICA</b>	<b>PRINCIPIOS ACTIVOS</b>
Fijadores de tubulina  Inhibidores de la fumarato reductasa	Benzimidazoles	Cambendazol Oxfendazol Flubendazol Mebendazol Albendazol Thiabendazol Fenbendazol Parbendazol
	Probenzimidazoles	Febantel Thiofanato Netobimin
Bloqueadores ganglionares	Imidazotiazoles	Tetramisol Levamisol
	Tetrahidropirimidinas	Morantel Pirantel
Potenciadores del Ácido gamaanimobutírico (GABA)	Avermectinas	Ivermectina Doramectina
	Milbemicinas	Moxidectin
Desacopladores de la fosforilacion oxidativa	Salicilanilidas	Closantel Rafoxanide Cloxanida oxicloxanida
	Fenoles Sustituídos	Nitroxinil

Fuente: Cordero y col, 1999

### 2.2.2.1. FENBENDAZOL

- **Descripción.** Su fórmula es metil-5-(feniltio)-2-bencimidazol carbamato de metilo (Sumano y Ocampo, 1997).
- **Características fisicoquímicas.** Es un polvo blanco cristalino, es insoluble o ligeramente soluble en el agua. Es soluble en dimetilsulfóxido (Adams, 2003). Se descompone a 233°C, por eso se considera muy estable (Sumano, 1996).
- **Farmacocinética.** Su acción del fenbendazol es actuar principalmente uniéndose a la tubulina de los nematodos. Concretamente, se une a la tubulina  $\beta$ , lo que a su vez impide su dimerización con tubulina y la polimerización de los oligómeros de tubulina en los microtúbulos. Los microtúbulos son unidades estructurales esenciales de varios orgánulos y son necesarios para numerosos procesos celulares, que incluyen la mitosis, el ensamblaje de las proteínas y el metabolismo energético (Adams, 2003).

La acción larvicida y ovicida de estos compuestos se basa en el mismo efecto de la unión a la tubulina, siendo su capacidad de penetración al huevo, alterando la morfología de los huevos y por ende se bloquea la eclosión de la larva (Sumano y Ocampo, 1997).

La expulsión de los nematodos es lenta y puede prolongarse hasta 2-3 días después de la administración (Kassai, 2002).

- **Absorción.** Se absorbe de las vías gastrointestinales sólo una pequeña proporción, alcanzándose los máximos valores plasmáticos en un promedio variable de 6 a 30 horas, según sea la especie (Sumano y Ocampo, 1997).
- **Metabolismo.** Usualmente se aplica el fenbendazol por vía oral, por lo que sólo pequeñas cantidades pasan por el hígado, razón por la cual sólo se detectan pequeñas cantidades del metabolito 5 – (4-hidroxifenil-tio) benzimidazol -2-carbamato de metilo y algunos otros metabolitos en cantidades muy pequeñas (Sumano y Ocampo, 1997).
- **Excreción.** El medicamento no absorbido se elimina por heces, pero el absorbido puede eliminarse por la orina y la leche en donde sólo se detecta 0.3% de la dosis aplicada (Sumano y Ocampo, 1997).
- **Residuos.** Aunque no se ha demostrado, los residuos pueden repercutir de modo desfavorable en los consumidores, por lo que se precisa tener precaución en ellos. En el hígado de las ovejas, se detectaron 5,4 ng/g a los siete días de proporcionar la terapéutica, en hígados de bovinos se detectó 1,4 ng/g después de 15 días de tratamiento; en los demás órganos, las concentraciones fueron inferiores de 0,1 ng/g (Sumano y Ocampo, 1997).
- **Toxicidad.** El fenbendazol es poco tóxico en todas las especies. Basta indicar que no fue posible obtener la dosis letal media en ratones a los que se les administraron por vía oral 10 000 mg/kg sin causar



la muerte. No se han detectado efectos de teratogenicidad ni embriotoxicidad en alguna especie. Este fármaco se usa en ganado bovino, ovejas, cabras, cerdos, caballos, perros, gatos y monos (Sumano y Ocampo, 1997).

No hay evidencia de toxicidad en vacas preparturientas tratadas con fenbendazol, tampoco hay anomalías en los productos, no irrita las mucosas ni tiene efectos sensibilizantes. Por esto, se le considera poco tóxico y se le puede utilizar en animales caquécicos y gravemente enfermos (Sumano, 1996 ).

- **Usos y dosis.** Bovinos 7,5 mg/kg, ovinos 5 a 7 mg/kg (Sumano y Ocampo, 1997).

El fenbendazol se puede utilizar contra los siguientes nematodos: *Trichuris ovis*, *Haemonchus spp*, *Ostertagia spp*, *Cooperia spp*, *Bunostomum spp*, *Oesophagostomum spp*, *Dictyocaulus spp*, *Strongyloides papillosus* y *Trichuris spp*. Su eficacia a dosis de 7,5 mg/kg alcanza 99,81%, 99,51% y 99,91% contra nematodos adultos de *Haemonchus spp*, *Ostertagia spp* y *Cooperia spp*; respectivamente (Sumano, 1996). Y elimina más del 90% de las formas de cuarta fase y las inmaduras de quinta fase de todos los principales parásitos gastrointestinales de los rumiantes (Adamas, 2003).

### 2.2.2.2. LEVAMISOL

- **Descripción.** Su fórmula química es 2,3,5,6-tetrahidro-6-fenilimidazol (2-1-3). Es el isómero levógiro del tetramisol (Sumano y Ocampo, 1997).
- **Características fisicoquímicas.** Se presenta como polvo microcristalino inodoro, muy soluble en agua y en metanol, y prácticamente insoluble en éter y acetona. La luz solar puede cambiar su coloración a un amarillo claro sin alterar su efecto. La temperatura superior a 40°C suele acidificarlo, y enturbiarlo si se encuentra en solución y puede formar precipitados. La sal más utilizada es el clorhidrato. Esta forma levógira es muy soluble en agua y más eficaz que el tetramisol, y presenta menos toxicidad, en la forma de fosfato de Levamisol. Es útil en la aplicación parenteral, pero es menos irritante que el clorhidrato. Es muy estable en condiciones normales de almacenamiento (Sumano y Ocampo, 1997).
- **Farmacocinética.** El clorhidrato de Levamisol es un colinérgico directo y paraliza a los nematodos mediante contracción muscular sostenida. Actúa como un estimulante ganglionar (colinomimético) (Adams, 2003). No mata al parásito, y éste es expulsado vivo. Se cree también que tiene una débil acción inhibitoria de la acetilcolinesterasa que reforzaría su acción (Botana y col, 2002).

La biodisponibilidad de este fármaco en rumiantes varía según la vía de administración. Tras la administración por vía oral se absorbe rápidamente en

el intestino, siendo la vía subcutánea la que genera una máxima concentración en el menor tiempo (dentro de los 30 minutos post administración), comparada con las vías oral (2-6 horas) post administración (Botana y col, 2002).

Los parásitos son expulsados dentro de las primeras 24 horas posteriores a la administración del fármaco (Sumano, 1996).

- **Absorción.** El Levamisol se puede aplicar casi por cualquier vía desde donde se absorbe de manera rápida y eficacia, tanto del tubo entérico como de la vía parenteral. Cuando se aplica por vía intramuscular o subcutánea, la biodisponibilidad del compuesto es tres veces mayor que cuando se administra por vía entérica, sobre todo a nivel de vías respiratorias, en donde muestra magníficos resultados contra gusanos pulmonares. Cuando se administra por vía subcutánea, alcanza valores plasmáticos máximos a los 30 minutos y a las tres o cuatro horas no se detecta en plasma (Sumano y Ocampo, 1997).
- **Metabolismo.** El Levamisol se metaboliza en el hígado (cuatro procesos reconocidos): el proceso principal es la rotura hidrolítica del anillo tiazólico (Sumano y Ocampo, 1997).
- **Excreción.** Las vías de excreción son la orina, heces, leche y moco bronquial (Sumano y Ocampo, 1997).
- **Residuos.** Al parecer, no se fija extensamente a los tejidos pero no se recomienda mandar al rastro

animales tratados, hasta que pasen por lo menos siete días del último tratamiento. En general, no se recomienda administrar Levamisol a los animales destinados a la producción de leche (Sumano y Ocampo, 1997).

- **Toxicidad.** La toxicidad del Levamisol se presenta en un reducido porcentaje de los animales tratados, aun a dosis terapéuticas. Su margen terapéutico es reducido (dos a tres veces las dosis terapéuticas). En la intoxicación, son marcados los efectos reflejos causador por la acción muscarínica y nicotínica del producto y se presenta depresión, salivación, defecación, disnea, temblores musculares, convulsiones o ataxia, y el animal salta y corre, y muere por asfixia, la cual se caracteriza por su efecto en músculo liso. No se recomienda tratar animales desnutridos, deshidratados, muy jóvenes o muy enfermos (Sumano y Ocampo, 1997). En bovinos y ovinos, la sintomatología predominante es la colinérgica, con hipersalivación, excitación, temblores y sacudimiento de la cabeza. Generalmente desaparecen en dos horas (Botana y col., 2002).
- **Usos y dosis.** En bovinos de 5-8 mg/kg, ovinos y caprinos 7,5 mg/kg. Su eficacia va de 75 a 89% y hasta mayor a 90%. En nematodos strongiloideos adultos, siendo poco sensibles la *Ostertagia* y *Cooperia* en su fase larval. El Levamisol es ineficaz en cestodos y trematodos (Sumano y Ocampo, 1997).

### 2.2.2.3. IVERMECTINA

- **Descripción.** Es el resultado de la fermentación del *Streptomyces avermitilis*, obtenido por primera vez por Burg y colaboradores en el año de 1979. Más adelante, se descubrió su potente actividad antihelmíntica. Se inició su comercialización para medicina veterinaria en 1981. La Ivermectina es un análogo semisintético de la Abamectina (Sumano y Ocampo, 1997).
- **Características fisicoquímicas.** Se prepara comercialmente en forma inyectable con solventes orgánicos en virtud de su reducida hidrosolubilidad. Es un compuesto fotosensible que se debe almacenar en frascos de color ámbar y en un lugar fresco y seco (Sumano, 1996).
- **Farmacocinética.** En un principio se creía que los macrólidos endectocidas aumentaban la liberación de ácido gammaaminobutírico (GABA) en los sinaptosomas del sistema nervioso. Esto, a su vez, abría los canales del cloro modulados por el GABA (Adams, 2003).

Las Lactonas Macroclínicas ejercen su efecto mediante la unión selectiva a los canales de iones cloro mediados por glutamato en las membranas celulares musculares y nerviosos de los invertebrados, abriendo de forma irreversible estos canales; esto incrementa la permeabilidad de la membrana celular a los iones cloro, con hiperpolarización de las células musculares o

nerviosas, provocando una parálisis flácida y la muerte del parásito (Kassai, 2002). La parálisis tiene lugar en la musculatura faríngea y somática de los parásitos (Botana y col, 2002).

También impiden la reproducción de los parásitos nematodos y artrópodos, pero los mecanismos de estas acciones son poco conocidos. Son ejemplos de esta actividad la disminución de la puesta de huevos en las garrapatas, la formación de huevos anormales en los nematodos de los rumiantes (Adams, 2003).

- **Absorción.** El fármaco es muy liposoluble y poco hidrosoluble, por lo que se puede aplicar por todas las vías, siendo las más recomendadas, la subcutánea, intramuscular y por derrame dorsal. Los procesos de absorción, manifiestan diferencias según las vías de aplicación y las especies tratadas; por ejemplo en el perro después de recibir el fármaco por vía oral, se alcanza un valor máximo en plasma en un lapso de cuatro a seis horas, y una vida media de 36 horas en promedio. Si se administra por vía intravenosa, la vida media es de 30 horas en promedio; en ovinos y bovinos, por esta misma vía, la vida media del medicamento es de 40 a 43 horas, respectivamente. Sin embargo, es de interés el conocer que la vida media del fármaco que se administra por vía intrarruminal en el ovino es de 178 horas.

Se ha detectado que el contenido gástrico posee la menor concentración del fármaco y, por otro lado, se concentra en grandes cantidades en el moco y el contenido intestinal. Por ello, es factible recuperar gran cantidad por las heces, sin importar su vía de

administración. Así mismo, el volumen de distribución tan amplio indica que una gran cantidad se localiza en los diferentes tejidos, incluyendo piel. Este dato es de importancia en medicina veterinaria por dos efectos básicos: 1) que puede constituir un problema en salud pública si la carne o subproductos comerciales de animales tratados con este medicamento llega a ser consumida por el ser humano, y 2) por el efecto benéfico residual del fármaco que en muchos casos puede ser 10 a 12 semanas, considerado ideal para el control de ectoparásitos como pulgas, garrapatas, moscas, etcétera (Sumano y Ocampo, 1997).

- **Metabolismo.** Parece ser que éste se realiza por procesos de hidroxilación a partir incluso de rumen, estómago o intestino (Sumano y Ocampo, 1997).
- **Excreción.** Independientemente de la vía de administración, el medicamento se elimina por bilis, por lo que se detectarán grandes cantidades en heces aunque también se excreta por orina y leche; el posible efecto en salud pública se deba a la persistencia del compuesto en productos de origen animal (Sumano y Ocampo, 1997).
- **Residuos.** Se encuentra en diferentes tejidos. En la leche 28 a 30 días, en carne de 21 días; posteriores a la medicación.

Las heces de los nueve días posterior al tratamiento del ganado con ivermectinas no favorecen el desarrollo de larvas de moscas que se desarrollan en el estiércol (Sumano, 1996).

- **Toxicidad.** El fármaco se puede considerar para la mayoría de las especies altamente seguro; sin embargo, los informes indican que a dosis de 6  $\mu\text{m}/\text{kg}$  en el perro, en especial en la raza Collie y en el gato, se pueden presentar luego de la administración ligera somnolencia, midriasis, comportamiento anormal, temblores, salivación, letargia, coma, convulsiones, vómito, hipertermia e incluso la muerte, que ocurre por hipoxia y bradicardia. Los signos clínicos señalados se presentan en un 5% y la muerte en un 2% de los animales tratados (Sumano y Ocampo, 1997).

Se puede administrar a sementales sin alteraciones en su eficacia reproductiva y a hembras gestantes sin que se presente teratogénesis. Los becerros son más susceptibles al efecto tóxico y se recomienda una dosis de 0,05 mg/kg para evitar la depresión, a menudo irreversible de los animales susceptibles (Ocampo, 1996).

- **Usos y dosis.** La Ivermectina se administra a dosis de 0,2 mg/kg en ganado vacuno y ovino por vía oral o subcutánea; proporcionando eficacias de 97 – 100% contra los adultos y larvas de cuarta fase de los nematodos de rumiantes: *Haemonchus*, *Ostertagia* (incluidas las L4 inhibidas del ganado vacuno), *Cooperia*, *Trichostrongylus*, *Strongyloides*, *Bunostomum*, *Nematodirus*, *Trichuris*, *Oesophagostomum*, *Dictyocaulus* y *Chabertia*. Del mismo modo contra los parásitos artrópodos de rumiantes que incluyen larvas de *Oesturs*, *Hypoderma*, *Sarcoptes*, *Psoroptes*, *Linognatus*,



*Haematopinus*; menos eficaz contra *Damalinia* y el *Melophagus* (Adams, 2003).

### 2.2.3. RESISTENCIA A LOS ANTIHELMÍNTICOS

- **Definición.** 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 (Márquez, 2003; Booth, y McDonald, 1987); siendo la heredabilidad de la resistencia la característica más importante de este fenómeno (Kassai, 2002).

La resistencia puede ser intrínseca ó 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 ó a que la droga no puede entrar a la célula y así llegar a su sitio de acción. Por ejemplo, los trematodes y cestodes son intrínsecamente resistentes a la acción de los fármacos endectocidas. La resistencia adquirida se da cuando poblaciones que son inicialmente susceptibles a la acción de un fármaco, dejan de serlo tras la ocurrencia de cambios genéticos heredables de generación en generación. Es percibida cuando una droga que es inicialmente efectiva para un fin terapéutico determinado deja de serlo.

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 (Mottier y Lanusse, 2001).
- **Clasificación.** Dependiendo de 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. La misma es resultado de la selección independiente para cada grupo o como resultado de resistencia cruzada (Márquez, 2003).

- **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 (Mottier y Lanusse, 2001).
- **Desarrollo de la resistencia.** La resistencia ocurre como un fenómeno preadaptativo de los parásitos, en los cuales el gen o genes que confieren resistencia existen ya en un rango fenotípico de las especies. Así, la introducción y el continuo uso de los antihelmínticos confieren cierta ventaja de supervivencia a aquellos parásitos portadores de genes de resistencia.

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, 2003).

- **Detección de la resistencia antihelmíntica.** Se sospecha que en un rebaño hay resistencia cuando la respuesta clínica después de un tratamiento es menor al 95% de efectividad; y antes de que la falla de un antihelmíntico sea detectada por los signos clínicos, la selección para resistencia ya ha ocurrido. Existen varias técnicas para detectar resistencia, pero la prueba de reducción de huevos fecales, es la más común, la cual provee una estimación de la eficacia antihelmíntica mediante la comparación de recuentos de huevos en heces de animales antes y después de los tratamientos (Echevarría, 2002; Márquez, 2003).
- **Control de la resistencia.** El control de la resistencia, para retardar su inicio o para disminuir su velocidad de desarrollo, está desarrollado indiscutiblemente 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 (Mottier y Lanusse, 2001; Márquez, 2003; Booth y McDonald, 1987; FAO, 2003).

El costo del descubrimiento, investigación y desarrollo de un producto farmacéutico para uso en animales de abasto requiere 100 – 200 millones de dólares y puede prolongarse unos 12 años; por ello, las posibilidades de que en un futuro cercano podamos disponer de antihelmínticos de amplio espectro con nuevos mecanismos de acción son escasas; por lo tanto, es oportuno e imperativo mantener la eficacia de nuestros antihelmínticos; además, deberíamos estar preparados para el momento en que los fármacos de amplio espectro ya no sean eficaces (Kassai, 2002).

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Localización del trabajo de investigación

La Cooperativa Agraria de Trabajadores, Atahualpa Jerusalén, Granja Porcón (Anexo 1. Fig. 5), está localizada a 35 km al norte de la ciudad de Cajamarca, se ubica a un altitud de 3 000 msnm, clima frío, lluvioso entre enero y abril, heladas en los meses de julio y agosto, perteneciente al distrito de Cajamarca, provincia Cajamarca y las pruebas de diagnóstico fueron procesadas en el Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca.

La Cooperativa Agraria de Trabajadores, Atahualpa Jerusalén, Granja Porcón; presenta los siguientes datos meteorológicos: (\*)

Temperatura mínima promedio anual:	9°C
Temperatura máxima promedio anual:	18°C
Precipitación pluvial anual:	1000 - 1200 mm
Humedad relativa mínima promedio anual:	60%
Humedad relativa máxima promedio anual:	75%

---

(\*)Fuente: <http://ciga.pucp.edu.pe/images/stories/ciga/presentacion/pedro%20chillon.pd> 2013

## **3.2. Materiales y equipos**

**3.2.1. Material biológico.** Se utilizó 30 vacas Jersey, crianza extensiva, 12 semanas sin dosificar con antihelmínticos, condiciones similares de manejo y alimentación. Con carga parasitaria no menor a 50 huevos por gramo de heces (Anexo 1. Fig. 6).

### **3.2.2. Material químico**

Fenbendazol al 10%, Suspensión, vía oral.

Levamisol al 15%, Inyectable, vía sub cutánea.

Ivermectina al 1 %, Inyectable, vía sub cutánea.

### **3.2.3. Material de trabajo de campo**

- Botas de jebe.
- Mameluco.
- Naricera.
- Cinta bovinométrica.
- Sogas.
- Bolsas de polietileno.
- Jabón.
- Libreta de apuntes.
- Bolígrafo.
- Caja tecnoport.
- Lápiz marcador.
- Agujas hipodérmicas N° 16 x ½".
- Jeringas hipodérmica.
- Jeringas y cánulas dosificadoras.
- Tablero de campo.
- Cámara fotográfica.
- Lapiceros de tinta indeleble.

- Planillas para registro de datos.

#### **3.2.4. Material y equipo de laboratorio.**

- Estereoscopio.
- Microscopio.
- Ocular micrométrico.
- Cámara INTA (Instituto Nacional de Tecnología Argentina).
- Balanza de precisión.
- Sifón con malla metálica.
- Frascos de vidrio de boca ancha.
- Aserrín estéril (cedro).
- Espátula
- Baldes pequeños de 1 litro de capacidad, boca ancha.
- Incubadora.
- Probeta.
- Placas Petri.
- Vasos de plástico de capacidad 80 mL.
- Detergente comercial.
- Embudos de vidrio.
- Gasa.
- Hilo de pabilo.
- Hervidor eléctrico.
- Tubos de prueba de 50 mL de capacidad.
- Baguetas.
- Cronómetro.
- Lugol parasitológico.
- Papel toalla.
- Estiletes.
- Guantes quirúrgicos.
- Mandil.



- Láminas y laminillas.
- Solución saturada de azúcar.

### 3.3. Metodología.

La metodología se llevó a cabo en tres partes: Trabajo de campo, trabajo de escritorio y trabajo de laboratorio:

**3.3.1. Actividades realizadas en el trabajo de campo.** En el trabajo de campo se llevó a cabo tres visitas al predio:

**Primera visita.** Se realizó lo siguiente:

- **Identificación de los animales.** Se lo obtuvo del arete.
- **Estimación del peso vivo.** Se determinó con cinta bovinométrica para raza Jersey, midiendo el perímetro torácico y al resultado de la medición se le agregó el 10% de peso, considerado éste como error (Anexo 1. Fig. 7)
- **Recolección de muestras de heces.** Se extrajo directamente del recto aproximadamente 100 g de heces haciendo uso de bolsas de polietileno, en primeras horas de la mañana (Anexo 1. Fig. 8).

**Segunda visita.** La única actividad realizada fue la dosificación, ésta fue después de tres días de obtener el resultado de la carga parasitaria (hpg pre dosificación) (Anexo 1. Fig. 9).

**Tercera visita.** Se realizó al día 14 post dosificación. La extracción de la muestra de heces fue similar a la primera muestra obtenida.

### 3.3.2. Trabajo de Escritorio. Se realizó las siguientes actividades:

- **Formación de grupos experimentales a evaluar.** Luego de haber realizado la cuantificación de huevos por gramo de heces (HPG) de cada uno los animales motivo de estudio, éstos fueron ubicados al azar en cada grupo experimental conformado por 10 animales. Cada grupo experimental tuvo una sumatoria de hpg similar entre ellos (Anexo 2. Cuadros 3, 4, 5).
- **Cálculo de la dosis de los antihelmínticos a evaluar.** Se obtuvo multiplicando el peso vivo del animal por la dosis terapéutica de cada fármaco estudiado en mg/kg. La cantidad del antiparasitario calculado para dosificar fue en mL., para lo cual se aplicó una regla de tres simple, teniendo en cuenta la concentración de la base química de cada fármaco antiparasitario.

**Cuadro 2.** Grupos experimentales motivo de estudio

N° animales	Grupo Experimental	Dosis terapéutica (mg/kgpv)	Administración (vía)
10	Fenbendazol 10 %	7.5	Oral
10	Levamisol 15%	7.5	Sub Cutánea
10	Ivermectina 1%	0.2	Sub Cutánea

- **Registro de datos.** Fueron registrados los siguientes datos: Identificación, peso vivo, huevos por gramo de heces (hpg) antes y después de dosificar, dosis terapéutica. El registro se realizó en un formato (Anexo 3. Cuadros: 6, 7, 8).

### **3.3.3. Trabajo de Laboratorio.**

Para determinar la carga parasitaria se utilizó el Test de reducción del conteo de huevos (T.R.C.H.); para lo cual se empleó la técnica de Mc Máster modificada por Roberts y O'Sullivan, utilizando cámara INTA (Fiel y col., 2011) (Anexo 4. Figs10, 11, 12,13,14).

El primer diagnóstico se realizó el día tres pre dosificación y el segundo el día 14 post dosificación.

#### **Cultivo de larvas L3**

Se realizó cultivo de larvas de los grupos experimentales en el momento de la predosificación y otro cultivo de larvas al día 14 post dosificación de los grupos de animales tratados con Ivermectina, Fenbendazol y Levamisol; respectivamente, que resultaron positivos a la presencia de huevos de nematodos.

Para el cultivo de larvas L3 se aplicó la técnica indicado por Robert & Sullivan (Ueno y Gonçalves, 1998). (Anexo 5. Figs. 15, 16).

#### **Colección de larvas L3**

Las larvas L3, fueron colectadas mediante la técnica de Baermann (Ueno y Gonçalves, 1998). (Anexo 6. Figs. 17, 18,19,20).

**Identificación de géneros de nematodos.** Para identificar los géneros de nematodos estrongilídeos se utilizó la guía propuesta por Keith, R.K. 1953. Ueno y Gonçalves, (1998). (Anexo 7. Cuadro 9).

**3.3.4. Interpretación de los resultados.** La Resistencia antihelmíntica se declaró cuando el porcentaje de reducción del conteo de huevos fue menor al 95% (Echevarria, 2002; Kassai, 2002), (Anexo 8. Cuadro 10).

**3.3.5. Cálculo del porcentaje de eficacia de los antihelmínticos.** Se aplicó la fórmula de porcentaje de eficacia según lo indica Ueno y Gonçalves (1998).

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

$$(C = A - B).$$

**Donde:**

**%E** es el Porcentaje de eficacia.

**C:** Es la diferencia de huevos que resultan del pre dosificación y post dosificación.

**A:** Es el número de huevos encontrados antes de la aplicación del antihelmíntico.

**B:** Es el número de huevos encontrados dosificación.

**3.3.6. Análisis estadístico.** Se aplicó la prueba de "Z" de proporciones (Anexo 9).

$$Z = \frac{|p_0 - p|}{\sqrt{\frac{pq}{n}}} \quad H_0 \geq 0.95 ; H_a < 0.95$$

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS

**Tabla 1.** Eficacia de Levamisol al 15% en el control de nematodos estrogilídeos gastroentéricos en vacunos Jersey de la Cooperativa Agraria de Trabajadores Atahualpa Jerusalén Granja Porcón. Cajamarca, 2014.

Nº Animales	Identificación	hpg día 3 pre dosificación	hpg día 14 post dosificación
1	0090	80	30
2	P121	70	40
3	0161	90	40
4	0229	110	50
5	0124	100	30
6	0151	80	60
7	0170	80	60
8	0194	90	40
9	0197	110	30
10	0262	90	50
Total hpg		900	430
% Eficacia		52	

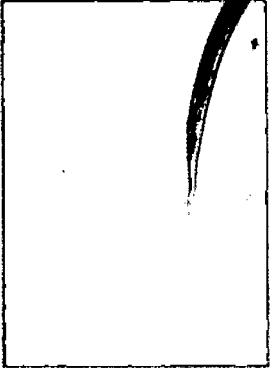

**Tabla 2.** Eficacia de Fenbendazol al 10% en el control de nematodos strongilídeos gastroentéricos en vacunos Jersey de la Cooperativa Agraria de Trabajadores Atahualpa Jerusalén Granja Porcón. Cajamarca, 2014.

Nº Animales	Identificación	hpg día 3 pre dosificación	hpg día 14 post dosificación
1	0250	80	30
2	0225	110	40
3	0228	90	20
4	P170	100	30
5	0242	90	20
6	0208	80	30
7	0239	70	20
8	0241	100	30
9	0261	90	30
10	0282	90	20
Total de hpg		900	270
% Eficacia		70	

**Tabla 3.** Eficacia de Ivermectina al 1% en el control de nematodos strongilídeos gastroentéricos en vacunos Jersey de la Cooperativa Agraria de Trabajadores Atahualpa Jerusalén Granja Porcón. Cajamarca, 2014.

Nº Animales	Identificación	hpg día 3 pre dosificación	hpg día 14 post dosificación
1	0122	90	0
2	0068	80	0
3	0125	90	0
4	0189	90	30
5	0049	110	0
6	0231	80	0
7	0264	80	0
8	0252	90	0
9	0143	120	60
10	0201	70	20
Total hpg		900	110
% Eficacia		88	

Larvas L<sub>3</sub> identificadas en la pre dosificación en vacunos Jersey de la Cooperativa Agraria de Trabajadores Atahualpa Jerusalén, Granja Porcón. Cajamarca, 2014.

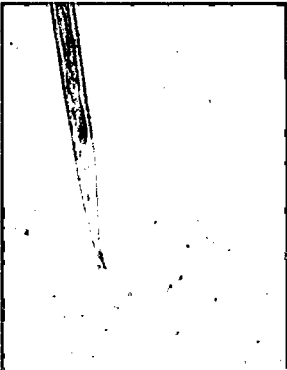
<p style="text-align: center;"><b><i>Trichostrongylus spp</i></b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>✓ Distancia de la punta de la cauda a la punta de la vaina de la cauda = 33 micras, medición a 100x</li><li>✓ Longitud total: 693 micras, medición a 100x</li></ul>	 <p style="text-align: center;"><b>Figura 1. <i>Trichostrongylus spp</i> L<sub>3</sub></b></p>
<p style="text-align: center;"><b><i>Ostertagia spp</i></b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>✓ Distancia de la punta de la cauda a la punta de la vaina de la cauda = 66 micras, medición a 100x</li><li>✓ Longitud total: 858 micras, medición a 100x</li></ul>	 <p style="text-align: center;"><b>Figura 2. <i>Ostertagia spp</i> L<sub>3</sub></b></p>




**Tabla 4.** Larvas L<sub>3</sub> resistentes a los antihelmínticos en vacunos Jersey de la Cooperativa Agraria de Trabajadores Atahualpa Jerusalén, Granja Porcón. Cajamarca, 2014.

Géneros de nematodos estrongilídeos resistentes	Fenbendazol	Levamisol	Ivermectina
<i>Ostertagia spp</i>	Resistente	Sensible	Resistente
<i>Trichostrongylus spp</i>	Resistente	Resistente	Resistente

**Identificación de larvas L<sub>3</sub> resistentes a los antihelmínticos evaluados en el día 14 post dosificación en cultivo de larvas**

<p style="text-align: center;"><b><i>Trichostrongylus spp</i></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Distancia de la punta de la cauda a la punta de la vaina de la cauda = 33 micras, medición a 100x</li> <li>✓ Longitud total: 693 micras, medición a 100x</li> </ul>	 <p style="text-align: center;">Figura 3. <i>Trichostrongylus spp</i> L<sub>3</sub></p>
--	---

<p style="text-align: center;"><b><i>Ostertagia spp</i></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Distancia de la punta de la cauda a la punta de la vaina de la cauda = 66 micras, medición a 100x</li> <li>✓ Longitud total: 858 micras, medición a 100x</li> </ul>	 <p style="text-align: center;">Figura 4. <i>Ostertagia spp</i> L<sub>3</sub></p>
--	---

## CAPÍTULO V

### DISCUSIÓN

Una eficacia menor al 95%, debe ser declarada como resistencia (Echevarria, 2002; Márquez, 2003). Los resultados obtenidos en la presente investigación demuestran que los antiparasitarios en el control de nematodos estrogilídeos gastrointestinales en vacunos Jersey de la Cooperativa Agraria de Trabajadores Atahualpa Jerusalén Granja Porcón, han alcanzado bajos porcentajes de eficacia; Levamisol 52%, Fenbendazol 70% e Ivermectina 88%; esto indica que los nematodos son resistentes a dichos grupos químicos, dado a que la eficacia de estos antiparasitarios está por debajo del 95% (Tablas 1, 2, 3).

En el cultivo de larvas en la pre dosificación se identificaron a *Trichostrongylus spp* y *Ostertagia spp*, y en el día 14 post dosificación, en los grupos Fenbendazol e Ivermectina se identificaron como nematodos resistentes a *Ostertagia spp* y *Trichostrongylus spp* y en el grupo Levamisol, solamente se encontró *Trichostrongylus spp* como nematodos resistentes a este antiparasitario (Tabla 4, Fig.1 y 2).

La disminución de eficacia de los antiparasitarios Fenbendazol y Levamisol se debe a que estos grupos químicos han sido utilizados en combinación con Triclabendazol por más de diez años consecutivos, con una frecuencia de dosificaciones cada cuatro meses, sin realizar una programación de rotar estos grupos químicos y en particular cuando se ha utilizado al Levamisol de manera individual la dosis terapéutica que indica el fabricante está aproximadamente a la mitad de la dosis terapéutica y en el caso de Ivermectina viene usándose por unos cinco años continuos, también con una frecuencia de dosificaciones cada cuatro meses; datos que fueron obtenidos

en el transcurso de la presente investigación. Éstas, son las principales causas de la presentación de resistencia antihelmíntica, lo cual concuerda con lo señalado por Fiel y col. 2001; Botana y col, 2002; quienes manifiestan que la resistencia antihelmíntica se presenta debido a la alta frecuencia de desparasitaciones, subdosificaciones, uso indiscriminado de antiparasitarios y la falta de rotación de principios activos.

Nuestro resultado de la eficacia de Levamisol de 52% en relación a resistencia antihelmíntica, concuerda con Sandoval y col. (2001) quienes obtienen el 73% de eficacia en el control de nematodos en bovinos en Venezuela. Del mismo modo con Rojas (2008), que reporta que la eficacia del Levamisol en el control de los nematodos estrogilídeos están muy por debajo del 95% en tal sentido son resistentes a esta base química en cuatro predios evaluados en Cajamarca, en el predio "La Argentina" (58%); "ABC" (54%); "El Cortijo" (73%); "Tartar-UNC" (31%). En el cultivo de larvas identificó *Haemonchus spp* en todos los predios estudiados y *Trichostrongylus spp* resistentes en el predio "ABC".

En cuanto a la eficacia de fenbendazol de 70% obtenida en nuestra investigación, también coincidimos con los trabajos realizados por Rojas (2008) quien reporta haber encontrado resistencia a este grupo químico en dos predios del valle Cajamarca, específicamente en los predios "La Argentina" y "Tartar", 63 y 86%; respectivamente. En el cultivo de larvas, sólo encontró *Haemonchus*.

Finalmente, concerniente a la eficacia de Ivermectina con 88% en nuestro estudio, no concuerda con Rojas, (2008), dado a que este autor señala que no hubo indicio de resistencia antihelmíntica frente a este grupo químico en ningún predio evaluado en Cajamarca; sin embargo, concordamos con Sievers y Alocilla (2007), quienes en Chile determinan resistencia a este principio activo al encontrar el 73,5% de eficacia en un predio y 90,3% en otro predio; en el control de nematodos estrogilídeos gastroentéricos en bovinos. En el cultivo de larvas identificaron *Cooperia*, *Trichostrongylus* y *Nematodirus*.

## CAPÍTULO VI

### CONCLUSIONES

De la evaluación de la eficacia antihelmíntica de Levamisol, Fenbendazol e Ivermectina en el control de nematodos estrogilídeos gastroentéricos en bovinos de la Cooperativa Agraria de Trabajadores Atahualpa Jerusalén Granja Porcón; se concluye que:

1. Queda demostrada, que la eficacia de Levamisol 52%, Fenbendazol 70% e Ivermectina 88%; son deficientes en el control de nematodos estrogilídeos gastroentéricos en bovinos de la Cooperativa Agraria de Trabajadores Atahualpa Jerusalén Granja Porcón, dado a que estas eficacias están por debajo del 95%, por lo que estos parásitos son declarados como resistentes a estas bases químicas.
2. Queda demostrada, que el nematodo *Trichostrongylus spp* presenta resistencia múltiple, en tanto que *Ostertagia spp* presenta resistencia cruzada.

## CAPÍTULO VII

### REFERENCIA BIBLIOGRAFÍA

**Adams, R. 2003.** Farmacología y terapéutica veterinaria, 2ª edición, Edit. Acribia, S.A. Zaragoza, España. p1011-1032.

**Blood, D.; Henderson, J.; Radostits O. 1988.** Medicina Veterinaria. 6ª Edición. Editorial Interamericana. México. p1017-1026.

**Benavides, O. 2001.** Control de las pérdidas ocasionadas por los parásitos del ganado. Carta Fedegán 69: 52-63p (Anexo coleccionable "Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades en explotación ganaderas 6").

**Barnes, E., Dobson, R., Barger, I. 1995.** Worm control and anthelmintic resistance: adventures with a model. Parasitology Today 11(2):56-63.

**Booth, N y Mc Donald, L. 1987.** Farmacología y Terapéutica Veterinaria, 5ª Edición. Editorial Acribia S. A. Zaragoza – España, 528pgs.

**Botana, L; Landoni, F. y Jiménez, F. 2002.** Farmacología y Terapéutica Veterinaria. 1ª Edición, Editorial McGraw-Hill, Interamericana, Madrid-España. p564-570.

**Cordero, M., Rojo, F., Martínez, A., Sánchez, M., Hernández, S., Navarrete, I., Diez, P., Quiroz, H., Carvalho, M. 1999.** Parasitología Veterinaria, 1ª Edición, Editorial Mcgraw-Hill-Inteamericana. Madrid, España. p 113, 237-252.

**Eddi, C. 1996.** Parásitos gastrointestinales, patogénesis, epidemiología y control; epidemiología y control de la fasciolosis bovina. Memoria del II Foro Internacional sobre infecciones Parasitarias de los bovinos. 3º Congreso de Ciencias Veterinarias, Maracay. Vol.1, N°3. p9.

**Echevarria, F. 2002.** Detectando resistencia antihelmíntica. III Curso Internacional de Progresos en diagnóstico de las parasitosis de los animales de producción. Salvador. Brasil. p47-61.

**Fiel, C. y col., 2001.** Resistencia Antihelmíntica en bovinos: Causas, diagnóstico y profilaxis. Revista Virtual Producción Bovina, Córdoba-Argentina. <http://www.produccionbovina.com>

**Fiel, C., Steffan, P., y Ferreyra, D., 2011.** Diagnóstico de las parasitosis más frecuentes de los rumiantes: Técnicas de laboratorio e interpretación de resultados. 1ª edición. Buenos Aires. Argentina. p16-28. Disponible. <http://www.aavld.org.ar/publicaciones/Manual%20Diagnostico%20final.pdf>. Consultado el 15 setiembre 2014.

**FAO. Documento. 2003.** Resistencia a los Antiparasitarios: Estado Actual con Énfasis en América Latina. Roma, Italia.

**Disponible en:** <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/005/y4813s/y4813s00.pdf>. Consultado el 17 junio 2014.

**Hendrix, CH. 1999.** Diagnóstico Parasitológico Veterinario, 2ª Edición. Editorial Harcourt Brace. Madrid, España. p255-261.

**Kassai, T. 2002.** Helmintología Veterinaria. 1ª Edición. Editorial Acribia S.A. Zaragoza- España. p147-159.

**Márquez, D. 2003.** Resistencia a los Fármacos Antihelmínticos. Revista CORPOICA Vol. 04 N° 1, Colombia.

**Merck & CO. 1988.** El Manual Merck de veterinaria. 3ª Edición. Editorial Centrum. Madrid, España. p231- 244.

**Mottier L. y Lanusse C. 2001.** Bases Moleculares de la Resistencia a Fármacos Antihelmínticos. Universidad Nacional del Centro. Tandil Argentina.

e-mail: [lourdes@vet.unicen.edu.ar](mailto:lourdes@vet.unicen.edu.ar) ; e-mail: [clanusse@vet.unicen.edu.ar](mailto:clanusse@vet.unicen.edu.ar)

**Nuñez, J., 1987.** Fundamentos de Parasitología Veterinaria. 1ª Edición. Buenos Aires-Argentina. Editorial Hemisferio Sur. p17.

**Rojas, J. 2008.** Resistencia de *Haemonchus sp* y *Trichostrongylus sp* de los bovinos a benzimidazoles (fenbendazol y albendazol) e imidazotiazoles (levamisol), en los fundos de la campiña de Cajamarca. Perú. Disponible en: [http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/parasitarias/parasitarias\\_bovinos/118-resistencia\\_Haemonchus.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/parasitarias/parasitarias_bovinos/118-resistencia_Haemonchus.pdf) (Consultado el 30 de abril de 2014).

**Rojas, M. 1990.** Parasitismo de los Ruminantes Domésticos. 1ª Edición. Editorial Majjosa. Lima - Perú. p163-183

**Sandoval, E., Jiménez, D. y Araque, C. 2001.** Resistencia a los Antihelmínticos en becerros de doble propósito del Estado Yaracuy, Venezuela. Disponible en: [http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas\\_ci/VeterinariaTropical/vt2601/texto/sandoval.htm](http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/VeterinariaTropical/vt2601/texto/sandoval.htm) . Consultado el 18 junio de 2014.

**Sievers, G.; Alocilla, A. 2007.** Determinación de resistencia antihelmíntica frente a ivermectina de nematodos del bovino en dos predios del sur de Chile.

Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/amv/v39n1/Art10.pdf>. Consultado 17 junio 2014.

**Soulsby, E.1987.** Parasitología y enfermedades parasitarias, 7ª edición, editorial Interamericana, México. p185-254.

**Sumano, H. 1996.** Farmacología Clínica en Bovinos, 1ª edición, Edit. Trillas, México. p128-141.

**Sumano, H.; Ocampo, L. 1997.** Farmacología Veterinaria, 2ª edición, Edit. McGraw- Hill Interamericana, México. p257-279.

**Ueno, H., Gonçalves, P. 1998.** Manual para diagnóstico de los helmintos de Rumiantes, 4ª Edición, Edit. Japan Internacional Cooperation Agency (JICA). Tokio, Japan. p1-42.



## ANEXO

**Anexo 1. Figuras que registran la localización del trabajo de tesis y la metodología utilizada.**

- Localización del trabajo de investigación



Figura 5. C.A.T. Atahualpa Jerusalén Granja Porcón

- Material biológico



Figura 6. Bovinos Jersey (vacas) utilizados en la investigación

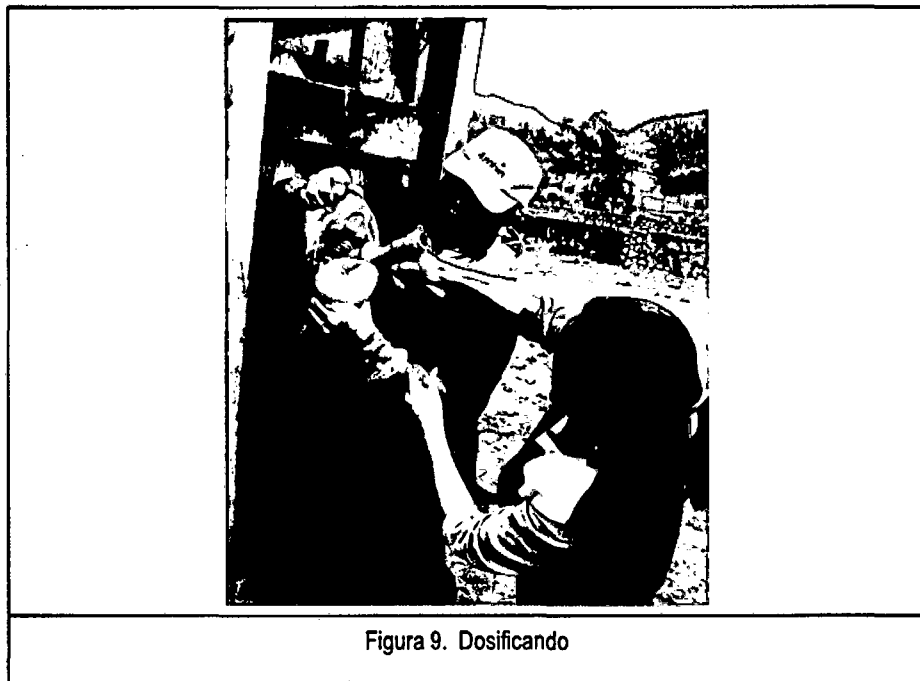
- Estimación del peso vivo



- Recolección de muestra de heces



- Dosificación de los animales



## Anexo 2. Formación de grupos experimentales para evaluar los antiparasitarios

Cuadro 3. Grupo Levamisol

Nº animales	Identificación	hpg día 3 pre dosificación
1	0090	80
2	P121	70
3	0161	90
4	0229	110
5	0124	100
6	0151	80
7	0170	80
8	0194	90
9	0197	110
10	0262	90
Total hpg		900

Cuadro 4. Grupo Fenbendazol

Nº animales	Identificación	hpg día 3 pre dosificación
1	0250	80
2	0225	110
3	0228	90
4	P170	100
5	0242	90
6	0208	80
7	0239	70
8	0241	100
9	0261	90
10	0282	90
Total de hpg		900

Cuadro 5. Grupo Ivermectina

Nº animales	Identificación	hpg día 3 pre dosificación
1	0122	90
2	0068	80
3	0125	90
4	0189	90
5	0049	110
6	0231	80
7	0264	80
8	0252	90
9	0143	120
10	0201	70
Total hpg		900

**Anexo 3.** Registro de datos: Identificación, carga parasitaria (hpg antes de la dosificación y post dosificación, peso vivo, dosis terapéutica de cada antiparasitario.

**Cuadro 6.** Grupo Levamisol

Nº	Identificación	hpg día 3 pre dosificación	hpg día 14 post dosificación	Peso (kg)	Dosis mL
1	0090	80	30	487	25
2	P121	70	40	433	22
3	0161	90	40	363	18
4	0229	110	50	293	15
5	0124	100	30	350	18
6	0151	80	60	373	19
7	0170	80	60	350	18
8	0194	90	40	368	19
9	0197	110	30	411	21
10	0262	90	50	332	17
	Total hpg	900	430		

Cuadro 7. Grupo Fenbendazol

Nº	Identificación	hpg día 3 pre dosificación	hpg día 14 post dosificación	Peso (kg)	Dosis
1	0250	80	30	282	21
2	0225	110	40	350	27
3	0228	90	20	315	24
4	P170	100	30	455	34
5	0242	90	20	299	23
6	0208	80	30	362	27
7	0239	70	20	309	23
8	0241	100	30	315	24
9	0261	90	30	350	27
10	0282	90	20	264	20
	Total hpg	900	270		

Cuadro 8. Grupo Ivermectina

Nº	Identificación	hpg día 3 pre dosificación	hpg día 14 post dosificación	Peso (kg)	Dosis (mL)
1	0122	90	0	411	8.3
2	0068	80	0	411	8.3
3	0125	90	0	403	8.0
4	0189	90	30	326	6.5
5	0049	110	0	380	7.6
6	0231	80	0	309	6.2
7	0264	80	0	309	6.2
8	0252	90	0	309	6.2
9	0143	120	60	344	7.0
10	0201	70	20	373	7.5
	Total hpg	900	110		



#### **Anexo 4. Técnica Mc Máster modificada por Roberts y O'Sullivan, con cámara INTA (Fiel y col, 2011).**

##### **Materiales y equipo:**

- ✓ Balanza de precisión
- ✓ Microscopio
- ✓ Probeta de 100 mL de capacidad
- ✓ Sifón con malla metálica de 80hilos/pulgada ( orificios de 200 micras de diámetro)
- ✓ Vasos de plástico de 80 mL de capacidad
- ✓ Vaguetas
- ✓ Cronómetro
- ✓ Solución saturada de azúcar (SSA)
- ✓ Cámara INTA de cuatro celdas de 0.5 mL cada una (2mL capacidad total)

##### **Técnica:**

- ✓ Pesar 3 g de heces
- ✓ Disolver las heces en 57 mL de SSA
- ✓ Sifonear la muestra y colocar en las celdas de la cámara INTA
- ✓ Dejar reposar por 10 minutos
- ✓ Observar en el microscopio a 40 ó 100 aumentos
- ✓ Contar el número total de huevos en las 4 celdas de la cámara INTA.

##### **Cálculo del hpg.**

Para la determinación del número de huevos por gramo de heces (hpg), se multiplicó el número total de huevos contados en las cuatro celdas de la cámara INTA por el factor 10.



**Figura 10.** Pesando 3 g de heces



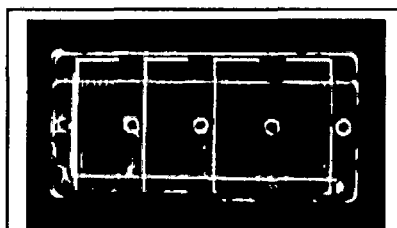
**Figura 11.** Mezclando 57 mL de SSA con 3g de heces



**Figura 12.** Llenado las celdas de la cámara INTA



**Figura 13.** Observando en microscopio huevos en la cámara



**Figura 14.** Cámara INTA

**Anexo 5. Cultivo de larvas utilizando la técnica de Roberts y O' Sullivan**  
(Ueno y Gonçalves, 1999).

**Materiales:**

- ✓ Recipiente de vidrio boca ancha (frasco), 250 a 300 ml.
- ✓ Aserrín de cedro, lavado y esterilizado.
- ✓ Frasco de plástico de 500 ml.
- ✓ Placas Petri.
- ✓ Papel doblado.

**Técnica:**

- ✓ Colocar 20-30 g de heces frescas, extraídas directamente del recto.
- ✓ Mezclar las heces con el aserrín, en una proporción más o menos dos partes de aserrín y una parte de heces, dentro de un frasco con un poco de agua. El agua deber estar en cantidad que se forme una masa, hasta el punto en que quede exprimida en la palma de la mano, fluya un poco de líquido. Homogenizar las heces y el aserrín manualmente con un agitador mecánico.
- ✓ Echar al frasco con una mezcla hasta más o menos  $\frac{3}{4}$  de su capacidad. Limpiar los bordes del frasco del cultivo y taparlo con una placa Petri, colocar un papel doblado entre la placa y el borde del frasco para que haya aireación del cultivo. Esto se hace para proporcionar aerobiosis, evitando el crecimiento de hongos que influirá adversamente en la vida de las larvas.
- ✓ Llevar a la estufa o dejar al medio ambiente, de acuerdo con el clima. Humedecen un poco cuando haya desecamiento del cultivo. Mantener este cultivo por siete días, ya que

generalmente los huevos de nematodos gastrointestinales evolucionan en un periodo aproximado de siete días, transformándose en larvas infectivas.



**Figura 15.** Mezclando las heces con aserrín



**Figura 16.** Incubando las heces para obtener larvas L3

**Anexo 6. Técnica Baermann para sedimentar y coleccionar larvas L3 (Ueno y Gonçaves, 1998).**

**Materiales:**

- ✓ Embudo de vidrio
- ✓ Gasa
- ✓ Tubo de goma conectado en la parte estrecha del embudo
- ✓ Tubo de centrifuga
- ✓ Soporte
- ✓ clip
- ✓ Hilo

**Técnica:**

- ✓ Preparar y fijar el embudo en el soporte
- ✓ Colocar las heces incubadas en la gasa, atándolas con hilo y colocarlas en el embudo.
- ✓ Añadir agua tibia (40°C), hasta que cubra toda la gasa con las heces incubadas
- ✓ Dejar reposar por 2 a 3 horas
- ✓ Abrir un poco el clip para recibir el sedimento en un tubo de centrifuga
- ✓ Refrigerar por 2-3 horas
- ✓ Retirar el sedimento y colocar en lámina porta objetos y observar al microscopio.



**Figura 17.** Colocando el material incubado en una gasa, atarlo y colocarlo en el embudo de vidrio con agua



**Figura 18.** Colocando en el embudo con agua el material incubado atado en la gasa



**Figura 19.** Obteniendo el sedimento de larvas L3



**Figura 20.** Observando larvas L3 en el microscopio para su identificación

## Anexo 7. Identificación de géneros de nematodos

Cuadro 9. Medidas ( $\mu\text{m}$ ) de larvas infectivas de nematodos gastrointestinales de bovinos (Resumen del trabajo de Keith, R.K. 1953 (Ueno y Gonçalves, 1998).

Género y especie	Longitud total de la larva (micras)	Cola de la cubierta larval (vaina) (micras)
<i>Trichostrongylus axei</i>	619 - 762	25 - 39
<i>Haemonchus placei</i>	793	87 - 119
<i>Cooperia punctata</i>	666 - 866	47 - 71
<i>C. pectinata</i>	666 - 937	51 - 70
<i>C. oncophora</i>	809 - 976	79 - 111
<i>Oesophagostomum radiatum</i>	726 - 857	134 - 182
<i>Ostertagia ostertagi</i>	784 - 928	55 - 75

## Anexo 8. Interpretación de resultados

Cuadro 10. Interpretación de la eficacia en relación a resistencia antihelmíntica de tres grupos químicos en el control de nematodos strongilídeos gastroentéricos en bovinos de la Cooperativa Agraria de Trabajadores Atahualpa Jerusalén Granja Porcón. Provincia Cajamarca, 2014.

Antihelmínticos evaluados	Sumatoria hpg día 3 pre dosificación	Sumatoria hpg día 14 post dosificación	Eficacia (%)	Interpretación de la eficacia sensible: eficacia $\geq$ 95% resistente: eficacia <95%
Fenbendazol	900	270	70	resistente
Levamisol	900	430	52	resistente
Ivermectina	900	110	88	resistente



Anexo 9. Análisis estadístico: Prueba de "Z" de proporciones aplicado a los resultados de eficacia de los antihelmínticos en relación al planteamiento de hipótesis.

✓ **Fenbendazol**

Prueba de Z de proporciones de conformidad:

Hipótesis Nula  $p \geq 0.95$  los nematodos son susceptibles al fármaco

Hipótesis Alternativa  $< 0.95$  ; los nematodos son resistentes al fármaco

$$Z = \frac{|p_0 - p|}{\sqrt{\frac{pq}{n}}} \quad H_0 \geq 0.95 ; H_a: < 0.95$$

El valor de proporción observada es 0.70;

Reemplazando la fórmula se obtiene que

$$Z = \frac{|0.70 - 0.95|}{0.145} = -1.724$$

Valor de comparación de Z es  $\geq 1.645$

-1.724 es menor que 1.645

Se rechaza la hipótesis nula y se concluye que no es eficiente, es decir, los nematodos estrogilídeos son resistentes al fármaco.

**✓ Levamisol**

Prueba de Z de proporciones de conformidad:

Hipótesis Nula  $p \geq 0.95$  los nematodos son susceptibles al fármaco

Hipótesis Alternativa  $< 0.95$  los nematodos son resistentes al fármaco

$$Z = \frac{|p_0 - p|}{\sqrt{\frac{pq}{n}}} \quad H_0 \geq 0.95 ; H_a : < 0.95$$

El valor de proporción observada es 0.52

$$Z = \frac{|0.52 - 0.95|}{0.158} = -2.72$$

Valor de comparación de Z es -1.645

-2.72 es menor que 1.645

Se rechaza la hipótesis nula y se concluye que no es eficiente, es decir, los nematodos strongilídeos son resistentes al fármaco.

✓ **Ivermectina**

Prueba de Z de proporciones de conformidad:

Hipótesis Nula  $p \geq 0.95$  los nematodos son susceptibles al fármaco

Hipótesis Alternativa  $< 0.95$ ; los nematodos son resistentes al fármaco

$$Z = \frac{|p_0 - p|}{\sqrt{\frac{pq}{n}}} \quad H_0 \geq 0.95; H_a: < 0.95$$

El valor de proporción observada es 0.8881;

Reemplazando la fórmula se obtiene que

$$Z = \frac{|0.8881 - 0.95|}{\sqrt{\frac{0.8881 * 0.1119}{10}}} = -0.62$$

Valor de comparación de Z es -1.645

-0.62 es mayor que -1.645



Equipo de personas que colaboraron en la investigación