

# **UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**

## **ESCUELA DE POSGRADO**



### **UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

#### **PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS**

#### **TESIS:**

**EFICACIA FASCIOLICIDA DE COMPRIMIDOS A BASE DE AMARO  
(*Chuquiraga weberbaurei*) EN TERNEROS DEL FUNDO TARTAR DEL  
DISTRITO DE BAÑOS DEL INCA, CAJAMARCA - 2020**

Para optar el Grado Académico de

**DOCTOR EN CIENCIAS**

**MENCIÓN: SALUD**

Presentada por:

**Mg SP. VÍCTOR RAÚL CHÁVEZ ROJAS**

Asesor:

**Dr. TEÓFILO SEVERINO TORREL PAJARES**

Cajamarca, Perú

2022

COPYRIGHT © 2022 BY  
**VÍCTOR RAÚL CHÁVEZ ROJAS**  
Todos los derechos reservados

# **UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**

## **ESCUELA DE POSGRADO**



### **UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

### **PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS**

### **TESIS APROBADA:**

**EFICACIA FASCIOLICIDA DE COMPRIMIDOS A BASE DE AMARO  
(*Chuquiraga weberbaurei*) EN TERNEROS DEL FUNDO TARTAR DEL  
DISTRITO DE BAÑOS DEL INCA, CAJAMARCA - 2020**

Para optar el Grado Académico de

**DOCTOR EN CIENCIAS**

**MENCIÓN: SALUD**

Presentada por:

**Mg SP. VÍCTOR RAÚL CHÁVEZ ROJAS**

### **JURADO EVALUADOR**

Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares  
Asesor

Dra. Sara Elizabeth Palacios Sánchez  
Jurado Evaluador

Dr. Giuseppe Martín Reyna Cotrina  
Jurado Evaluador

Dr. Diómedes Tito Urquiaga Melquiades  
Jurado Evaluador

**Cajamarca, Perú**

**2022**



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



**PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS**

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

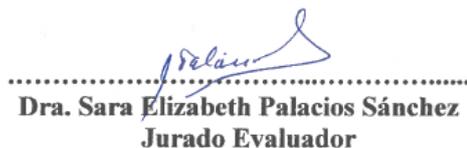
**MENCIÓN: SALUD**

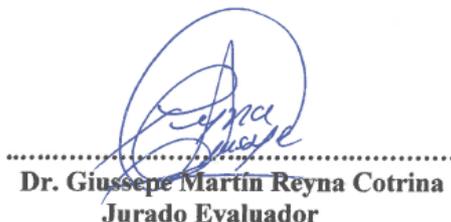
Siendo las 12:30 horas, del día 22 de agosto de dos mil veintidós, reunidos en el aula 1A del local del Centro de Idiomas de la Universidad Nacional de Cajamarca, el Jurado Evaluador presidido por la **Dra. SARA ELIZABETH PALACIOS SÁNCHEZ, Dr. GIUSSEPE MARTÍN REYNA COTRINA, Dr. DIÓMEDES TITO URQUIAGA MELQUIADES**, y en calidad de Asesor el **Dr. TEÓFILO SEVERINO TORREL PAJARES**, Actuando de conformidad con el Reglamento Interno y el Reglamento de Tesis de Maestría de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, se dio inicio a la Sustentación de la Tesis titulada **“EFICACIA FASCIOLICIDA DE COMPRIMIDOS A BASE DE AMARO (Chuquiraga weberbaueri) EN TERNEROS DEL FUNDO TARTAR DEL DISTRITO DE BAÑOS DEL INCA, CAJAMARCA – 2020”**, presentada por el **Magister en Salud Pública con mención en Gestión de Servicios de Salud VICTOR RAÚL CHÁVEZ ROJAS**.

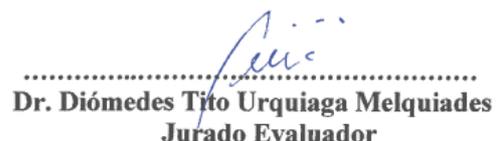
Realizada la exposición de la Tesis y absueltas las preguntas formuladas por el Jurado Evaluador, y luego de la deliberación, se acordó... Aprobado... con la calificación de Dieciocho (18)... la mencionada Tesis; en tal virtud, el **Magister en Salud Pública con mención en Gestión de Servicios de Salud VICTOR RAÚL CHÁVEZ ROJAS**, está apto para recibir en ceremonia especial el Diploma que lo acredita como **DOCTOR EN CIENCIAS**, de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Ciencias de la Salud, con Mención en **SALUD**.

Siendo las 2:00 pm horas del mismo día, se dio por concluido el acto.

  
.....  
**Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares**  
Asesora

  
.....  
**Dra. Sara Elizabeth Palacios Sánchez**  
Jurado Evaluador

  
.....  
**Dr. Giuseppe Martín Reyna Cotrina**  
Jurado Evaluador

  
.....  
**Dr. Diómedes Tito Urquiaga Melquiades**  
Jurado Evaluador

## **DEDICATORIA**

### **EN MEMORIA**

A mis padres:

Inocente Chávez Salazar, Luz Angélica Rojas Basauri por el inmenso amor y sacrificio que realizaron por educarme, igualmente a mi hermano Flavio Rafael, por ser motivo de inspiración para ser médico.

A mi esposa: Nelly Isabel Santillán Quispe e hijas, Claudia Valeria, Ysabel Marlene Chávez Santillán y mi nieta Micaela por ser mi motivo de aliento y superación.

A mis hermanos: Noemí, Ena, Lilia y Francisco por sus privaciones que permitieron que su hermano Víctor culmine sus sueños.

**VÍCTOR CHÁVEZ ROJAS**

## **AGRADECIMIENTO**

Con inmensa gratitud a mi Asesor: Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares, por su sapiencia y paciencia que me guió para culminar mi tesis.

Al Dr. Cristian Hovan Vergara por brindarme su amistad y apoyo técnico en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Veterinaria de la Universidad Nacional de Cajamarca.

Al Dr. José Niño Ramos administrador del Fundo Tartar de la Universidad Nacional de Cajamarca y a sus trabajadores: José Mal y el “Meshe” por sus cuidados que brindaron a los terneros mientras duró el estudio en plena pandemia del COVI -19.

VÍCTOR CHÁVEZ ROJAS

## Índice

CAPÍTULO I .....	1
INTRODUCCIÓN .....	1
1.3 OBJETIVOS.....	3
1.3.1 Objetivo general:.....	3
1.3.2 Objetivos específicos: .....	3
CAPÍTULO II.....	4
MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 Antecedentes de la investigación.....	4
2.2 Bases teóricas.....	6
2.2.1 Fitoterapia:.....	6
2.2.3 Posición taxonómica de <i>Chuquiraga weberbaurei</i> Tovar (Amaro).....	9
2.2.4 Identificación y cuantificación de los flavonoides de <i>Chuquiraga spinosa</i> (Asteraceae)....	10
2.2.5 Efecto antiparasitario .....	15
2.2.6 Fascioliasis .....	16
2.2.7 Nombre común de la enfermedad: .....	16
2.2.8 Etiología.....	16
2.2.10 Historia de la enfermedad.....	16
2.2.11 Posición taxonómica de <i>Fasciola hepatica</i> . .....	17
Phylum: Platyhelminthes .....	17
2.2.12 Trematodo ( <i>Fasciola hepatica</i> ): enfermedad y características morfológicas del parásito...	17
2.2.14 Ciclo biológico.....	19
2.2.15 Signos y síntomas.....	21
2.2.16 Patogenia .....	22
2.2.17 Diagnóstico.....	23
2.2.18 Epidemiología.....	25
2.2.19 Triclabendazol .....	26
2.2.1 Hipótesis .....	27
CAPÍTULO III.....	28
DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS .....	28
3.1 Diseño y Tipo de Estudio .....	28
3.2 Localización .....	28
Población, Muestra y Unidad de Análisis .....	29
3.3 Material biológico.....	29
3.3.1 Material biológico animal.....	29
3.3.2 Material biológico vegetal.....	29
3.3.3 Material químico.....	29
3.4 Metodología .....	29
3.4.1 Obtención de los comprimidos de Amaro .....	29

3.4.2 Prueba coprológica (Test de Reducción del Conteo de Huevos = TRCH): Este test se llevó a cabo en dos etapas de trabajo, una en campo y otra en el laboratorio: .....	31
Primera etapa. Se realizó las siguientes actividades: .....	31
Primera recolección de muestras de heces. ....	31
Infección artificial: .....	31
Permanencia y alimentación.....	31
Formación de los grupos A, B y C. ....	31
Segunda etapa:.....	32
Estimación del peso vivo. Se realizó con ayuda de una cinta bovinométrica. ....	32
Dosificación con liofilizado de Amaro en comprimidos (cápsulas). ....	32
Dosificación con Triclabendazol al 12% en suspensión. ....	32
Tercera etapa. ....	32
Trabajo de Laboratorio: .....	32
3.4 Materiales y equipo:.....	32
3.5 Técnica:.....	33
3.5 Cálculo del HPG (huevos por gramo de heces). ....	34
3.6 Cálculo de la dosis terapéutica de la cápsula de Amaro .....	34
3.7 Cálculo de la dosis terapéutica del Triclabendazol al 12% en suspensión. ....	34
3.8 Cálculo del porcentaje de eficacia del Amaro en liofilizado en comprimidos (cápsulas) y del Triclabendazol al 12% en suspensión. ....	36
Análisis de hepatotoxicidad pos tratamiento .....	36
3.9 Eficacia Absoluta: Prueba crítica por Necropsia (conteo de Fasciolas adultas en hígado). ...	36
Procesamiento y análisis de datos .....	36
CAPÍTULO IV.....	38
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
CAPÍTULO V.....	44
CONCLUSIONES .....	44
RECOMENDACIONES .....	45
CAPÍTULO VI.....	46
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	46
ANEXO 1 .....	54
1. Cálculo del porcentaje de eficacia del Amaro en terneros infectados artificialmente mediante el test de reducción del conteo de huevos (TRCH): .....	54
2. Recuento de huevos del Grupo A (Grupo Control), estos animales no recibieron tratamiento.....	54
ANEXO 2 .....	55
1.-Fotografías que muestran el trabajo realizado.....	55
ANEXO 3 .....	58
Resumen gráfico de la metodología de la investigación.....	58

## LISTA DE ABREVIACIONES

TCBZ: Triclabendazol

Terneros: Bovinos destetados

HPG: Huevos por gramo

TRCH: Test de reducción de huevos en heces

DECOCTO: Extracto acuoso

METACERCARIA: Forma infectante de *Fasciola hepatica*

## RESUMEN

La Fascioliasis es un problema parasitario que afecta tanto la salud humana como animal, en Cajamarca se considera una enfermedad endémica, para su tratamiento existen un número limitado de fármacos, siendo el Triclabendazol el fármaco de elección más usado, esto ha traído como consecuencia la aparición de resistencia a éste. El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar la eficacia fasciolicida del extracto acuoso liofilizado de *Chuquiraga weberbaurei* (Amaro) como tratamiento y el Triclabendazol 12% en suspensión en terneros de raza Holstein infectados artificialmente con 200 metacercarias de *Fasciola hepatica* cada uno. La cual fue evaluada mediante el Test de Reducción de huevos (TRCH) y un Test de Eficacia Absoluta en el que se determinó el número de Fasciolas en hígado mediante necropsia. Para el presente trabajo se tuvieron doce terneros, divididos en tres grupos (Grupo A: Control, Grupo B: Tratado con Amaro 200 mg/kg PV por cuatro días consecutivos, Grupo C: Tratados con Triclabendazol 12% en suspensión a dosis de 12mg/kg PV por un solo día). Al finalizar el estudio se obtuvieron los siguientes resultados: Eficacia del Amaro a dosis de 200 mg/kg vía oral en el control de *Fasciola hepática* por infección artificial en terneros medida mediante el Test de reducción del conteo de huevos (TRCH) fue en promedio 46.70% y el recuento promedio es estadísticamente significativo con respecto al promedio de huevos pre tratamiento del mismo grupo ( $p < 0.05$ ) y para el Triclabendazol en suspensión al 12% administrado vía oral fue de 25%. Del mismo modo en la Eficacia Absoluta de Amaro en dosis de 200 mg/kg vía oral medida mediante la prueba crítica por necropsia fue de 58.63% y del Triclabendazol al 12 % fue de 66.22 %.

**Palabras clave:** *Fasciola hepatica*, Amaro (*Chuquiraga weberbaurei*), Triclabendazol, Eficacia

## ABSTRACT

Fascioliasis is a parasitic problem that affects both human and animal health, in Cajamarca it is considered an endemic disease, for its treatment there are a limited number of drugs, Triclabendazole being the most used drug of choice, this has resulted in the appearance of resistance to it. The objective of this research work was to evaluate the fasciolicidal efficacy of the lyophilized aqueous extract of *Chuquiraga weberbaurei* (Amaro) as a treatment and Triclabendazole 12% in suspension in Holstein calves artificially infected with 200 metacercariae of *Fasciola hepatica* each. Which was evaluated by the Egg Reduction Test (TRCH) and an Absolute Efficacy Test in which the number of Fasciolas in the liver was determined by necropsy. For the present work, twelve calves were kept, divided into three groups (Group A: Control, Group B: Treated with Amaro 200 mg/kg LW for four consecutive days, Group C: Treated with Triclabendazole 12% in suspension at a dose of 12mg/ kg LW for a single day). At the end of the study, the following results were obtained: Efficacy of Amaro at a dose of 200 mg/kg orally in the control of *Fasciola hepatis* due to artificial infection in calves measured by the Egg Count Reduction Test (FECRT) was on average 46.70 % and the average count is statistically significant with respect to the average of pre-treatment eggs of the same group ( $p < 0.05$ ) and for Triclabendazole in suspension at 12% administered orally it was 25%. In the same way, in the Absolute Efficacy of Amaro in doses of 200 mg/kg orally, measured by means of the critical test by necropsy, it was 58.63% and that of Triclabendazole at 12% was 66.22%.

**Keywords:** *Fasciola hepatica*, Amaro (*Chuquiraga weberbaurei*), Triclabendazol, Efficacy

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

La fascioliasis es una enfermedad parasitaria causada por *Fasciola hepatica*, que afecta a los animales herbívoros y omnívoros donde se incluye al hombre <sup>(1)</sup>. La infección se adquiere cuando se ingieren, cruda o mal cocidas los vegetales (particularmente berros, alfalfa, lechuga y espinaca) que tienen adheridas las metacercarias del parásito al tallo y hojas <sup>(2)</sup>.

Esta enfermedad se caracteriza por la inflamación del hígado y de los conductos biliares, con frecuencia de carácter crónico ocasionando trastornos nutritivos <sup>(3)</sup>. Este parásito causa una de las enfermedades parasitarias más preocupantes en los rumiantes domésticos, estimándose que un cuarto de la población total de bovinos pastorea en áreas donde el trematodo está presente y el medio ambiente es favorable para su mantenimiento y dispersión <sup>(4)</sup>.

En Cajamarca y en las principales cuencas ganaderas del país, se utiliza fasciolicidas para el control de dicha enfermedad, el de mayor uso debido a su eficacia es el Triclabendazol; ya que actúa en diferentes edades frente a la *Fasciola hepatica*, en los últimos años se han registrado pruebas de resistencia al Triclabendazol, lo que posiblemente ha sido causado por un sobre uso o un mal manejo en la dosificación de dicho fármaco en la campaña de Cajamarca <sup>(5,6)</sup>.

Debido a este problema de resistencia antihelmíntica, en nuestra actualidad venimos afrontando nuevos retos con respecto al control de parásitos endémicos como es la *Fasciola hepatica*, en los últimos años hay una particular atención hacia el Amaro

(*Chuquiraga weberbaurei*), que ha demostrado una importante y variada actividad farmacológica el cual ha sido usado en ganado ovino, bovinos y cuyes para el tratamiento de la fascioliasis y sus resultados son favorables<sup>(7-10)</sup>.

El Triclabendazol es el fármaco de elección, usado tanto en animales como el hombre para tratamiento<sup>(11)</sup>. Se ha reportado resistencia al Triclabendazol en humanos y tienen en común que se documenta la persistencia de la *Fasciola hepatica* pos tratamiento después de varios ciclos de Triclabendazol<sup>(12)</sup>.

Debido a la resistencia de los fármacos fasciolicidas y a las recientes investigaciones en el uso de plantas nativas, nos conduce a investigar, realizando pruebas de diagnóstico en el Fundo Tartar de la Universidad Nacional de Cajamarca en el distrito Los Baños del Inca; utilizando el test de reducción del conteo de huevos (TRCH) y el Test de Eficacia Absoluta mediante la prueba crítica por necropsia como técnica más sensible para verificar la eficacia trematocida del Amaro en comprimidos (Cápsulas) en terneros.

En los últimos años se han registrado pruebas de resistencia al triclabendazol, debido posiblemente a un sobre uso y/o a un mal manejo en la dosificación de dicho fármaco en la campiña de Cajamarca<sup>(6,13)</sup>. El reto planteado para nuestro tiempo es encontrar nuevas alternativas sostenibles de tratamiento para controlar Fascioliasis en humanos y animales en Cajamarca.

## **1.3 OBJETIVOS**

### **1.3.1 Objetivo general:**

- Determinar la eficacia fasciolicida del Amaro (*Chuquiraga weberbaueri*) en cápsulas y del Triclabendazol 12% en suspensión en terneros infectados artificialmente.

### **1.3.2 Objetivos específicos:**

- Determinar la eficacia clínica del Amaro (*Chuquiraga weberbaueri*) en comprimidos (cápsulas) en terneros infectados artificialmente mediante el Test de Reducción del Conteo de huevos (TRCH).
- Determinar la eficacia clínica del Triclabendazol al 12 % en suspensión en terneros infectados mediante el Test de Reducción del Conteo de huevos (TRCH).
- Determinar la eficacia absoluta del Amaro (*Chuquiraga weberbaueri*) en comprimidos (cápsulas) y del Triclabendazol al 12% en suspensión en terneros infectados artificialmente mediante la prueba crítica a la necropsia.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Antecedentes de la investigación

En el primer encuentro taller de granjeros en la crianza de cuyes (*Cavia porcellus*), Cajamarca, Perú, 1986, Mendoza J. recomienda que para curar la Fascioliasis tres plantas medicinales tales como el Amaro (*Chuquiraga weberbaurei*), el Molle (*Schinus molle*) y el Marco (*Ocinus basilium*), usando cada planta en forma individual. Se recomienda usar una dosis de 4 ml de extracto, obtenido de 10 g de Amaro en 8 ml de agua para controlar la *Fasciola hepatica* en cuyes adultos; obteniendo resultados satisfactorios<sup>(10)</sup>.

Fernández G, en 1991 comprobó que el efecto de Amaro (*Chuquiraga weberbaurei*) en ovinos, de todos los grupos que formaron el experimento fueron infectados en las mismas condiciones, después de 90 días post infección mostraron los síntomas de una parasitosis. La dosis inicial estuvo planificada en 0, 16, 32, 48 y 64 ml de extracto de Amaro, diluido en una relación de 2:1, que comparando con los pesos promedios se habría aplicado 0, 3, 6, 8 y 12 ml/kg de peso vivo, dividido en tres dosis con intervalos de tiempo de 5 días cada aplicación. Grupo I (16 ml) a la necropsia se obtuvo un promedio de 10,6% de eficacia contra fasciolas adultas. Grupo II (32 ml) a la necropsia se obtuvo un porcentaje de 43,6% de eficacia. Grupo III (48 ml) se obtuvo un mejor resultado 90,8% de eficacia. Grupo IV (64 ml) la eficacia alcanzada fue de 92,5%<sup>(7)</sup>. El empleo del extracto de la planta Amaro (*Chuquiraga weberbaurei*) en dilución acuosa al 50%, suministrado en ovinos de diferentes edades,

en dosis de 8 ml/kg de peso vivo, por tres veces a intervalos de 5 días, hallaron una efectividad de 90,8%, sin presencia de efectos colaterales en los animales tratados <sup>(7)</sup>

En el año 1998, Fernández N. y Torrel S. en el Caserío de San Juan de Tincat, se investigó que el Amaro (*Chuquiraga weberbaurei, tovar*), evaluándola en sus dos presentaciones: pastillas y forma líquida, en la dosificación en 40 vacunos criollos, de diferentes edades y sexos, positivos a *Fasciola hepatica* mediante el análisis Coproscópico; el tratamiento uno (T1) consistió en proporcionar 1 pastilla de 2 gramos por cada 50 kg de peso vivo y el tratamiento dos (T2) en 100 ml por cada 50 kg de peso vivo, vía oral. El presente trabajo de investigación se inició en el mes julio y culminó en el mes de octubre del mismo año, constituyendo en el uso de la extracción del alcaloide del Amaro y convirtiéndola en las presentaciones de pastillas y líquido. Los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación y mediante los objetivos planteados, se puede manifestar que: La eficacia del Amaro (*Chuquiraga weberbaueri, tovar*) en contra de la *Fasciola hepatica* en vacunos, siendo en 95% cuando se dosificó con pastillas de 2 gramos (1 pastilla/50 kg de peso vivo) y del 90% cuando se proporcionó el amaro en forma líquida (100 ml/50kg de peso vivo) <sup>(8)</sup>.

En el año 2001, Abanto M., se realizó una investigación en la ciudad de Cajamarca, el extracto de Amaro fue evaluado in vivo, utilizando 20 cuyes, distribuidos en cinco grupos (I, II, III, IV, V), compuestos de 4 animales. El día cero los 20 animales fueron infectados oralmente con 15 metacercarias de *Fasciola hepatica* cada uno; dos meses y medio después de la infección se encontró huevos del parásito en heces, los cuyes fueron tratados con solución acuosa de extracto de Amaro concentrado, el tratamiento se hizo de la siguiente manera: los animales de los grupos I, II, III y IV recibieron el extracto de Amaro oralmente en dosis de 2ml, 4ml, 6ml, y

8 ml respectivamente en intervalos de 10 días (tres veces), el grupo V permaneció como control no tratado. El ensayo a la necropsia mostró una reducción de gusanos de 50, 82, 96 y 100% respectivamente a la dosis total de 6, 12, 18 y 24 ml de extracto de Amaro por kilogramo de peso vivo <sup>(9)</sup>.

En estudio realizado por Alpízar et al. durante un año (2006), en 3 plantas de sacrificio en Costa Rica se analizaron 577 muestras de heces de bovinos de carne, obteniéndose un porcentaje de infección a *Fasciola hepatica* del 11.3 %, además los animales con edades entre los 18 a 24 meses de edad mostraron mayor infección con 19.4% <sup>(14)</sup>.

Para el caso de Triclabendazol se han realizado diferentes trabajos que demuestran la resistencia de *Fasciola hepatica* a este fármaco, como el primer trabajo realizado por Rojas J. en el año 2012<sup>(13)</sup> en bovinos en Cajamarca y posteriores que demuestran resistencia a este antihelmíntico Rojas et al. en el 2013 con 77% de eficacia <sup>(15)</sup>, Chávez A. et al. en bovinos en el 2012 en Jauja con 34.9% <sup>(16)</sup> y Ortiz P. et al. en ovinos en el 2013 con 25% <sup>(6)</sup>.

## **2.2 Bases teóricas**

### **2.2.1 Fitoterapia:**

Los vegetales poseen un gran número de constituyentes (alcaloides, tiaminas, aceites esenciales, mucílagos, etc.), algunas farmacológicamente efectivas; dentro de estos tenemos: Hidratos de carbono: compuestos de carbono, hidrógeno y oxígeno; Taninos: sustancias nitrogenadas solubles en agua y alcohol, forman precipitaciones con proteínas y alcaloides, son derivados fenólicos; Grasas: ésteres de ácido graso y esteroles; Reninas: sustancias sólidas, amargas, brillantes insolubles en agua, solubles en alcohol, aceites y álcalis fuertes y los Alcaloides: que son

sustancias nitrogenadas básicas y de acción farmacológicas potente<sup>(17)</sup>.

Sus propiedades alcalinas se deben a que, en presencia de agua adiciona hidrógeno y dan lugar a iones de hidróxido. Se considera muy significativo que todas las civilizaciones a nivel mundial, desarrollaran a lado de la domesticación y cultivo de plantas con fines alimenticios, la búsqueda de sus cualidades terapéuticas y que estos conocimientos hayan perdurado por milenios profundizándose y diversificándose; pero sin hacerse jamás caducos. Y que, en la actualidad a pesar del gran desarrollo de la quimioterapia, la Fitoterapia aún es utilizada, tanto en humanos como en animales, por su fácil adquisición y bajos costos<sup>(17)</sup>.

Las plantas contienen numerosos compuestos químicos; un grupo interesante de compuestos que contienen son: acciones toxicológicas y farmacológicas, como los alcaloides que son sustancias básicas nitrogenadas solubles en alcohol y otros solventes orgánicos, pero insolubles en agua. Si la molécula contiene oxígenos, los alcaloides son líquidos (nicotina); tratando un alcaloide con un ácido se produce una sal hidrosoluble, los alcaloides son precipitados por las sales de los metales pesados, yodo y ácido tánico. Esto es importante conocerlo para evitar incompatibilidades en las asociaciones de fármacos y para el tratamiento de intoxicaciones por alcaloides.

El ácido Tánico, puede aplicarse oralmente para precipitar los alcaloides y en consecuencia reducir e impedir la absorción por el tracto gastrointestinal; la Lupanina y otros alcaloides de los lupinos Sp. producen diversos síntomas clínicos en distintas especies animales parecidas a una toxicosis por metales pesados o pesticidas; produciendo una disnea intensa por mecanismos desconocidos<sup>(18)</sup>.

El uso de plantas medicinales en Medicina Tradicional es de práctica común en los países andinos, y muchas veces constituye el único tratamiento disponible para la población de zonas rurales, constituyendo el sistema primario de salud para el 80% de la población. Según Delgado H. la Medicina tradicional referente a plantas medicinales debe de ser aplicada en tres fases, vale decir depurativa, curativa y preventiva, como plantas curativas hace mención del Cuti Cuti (*Notholaena nives*) que tiene componente antibiótico, Asma chilka (*Asristeguietia gayana*) y Huamanripa (*Senecio tephorsioides*) para problemas respiratorios, Muña (*Minthostachis mollis*) usado para problemas digestivo (gastritis) y respiratorios, Uña de gato (*Uncaria tomentosa*) para problemas reumáticos y artríticos, del mismo modo señala a esta última como fortalecedor del sistema inmunológico <sup>(19)</sup>.

En muchas plantas de uso medicinal se han encontrado alcaloides, hasta el momento las investigaciones indican que la mayoría de las unidades nitrogenadas de los alcaloides derivan de un grupo relativamente pequeño de aminoácidos. Estos alcaloides son sustancias cristalinas bien definidas que por unión con ácidos forman sales. En las plantas pueden estar libres o en estado de sales. El conocimiento de la solubilidad de los alcaloides y de sus sales poseen una considerable importancia farmacéutica, no solo porque con frecuencia se administran productos alcaloides en solución, sino porque las diferencias de solubilidad entre los alcaloides y sus sales dan lugar a métodos para su aislamiento a partir de las plantas y para su separación de las sustancias no alcaloides también presentes. Pese a que la solubilidad de los distintos alcaloides y de sus sales es muy diversa debido a su estructura sumamente variada. Durante la extracción de los alcaloides a partir de la planta y su subsiguiente evaporación, algunas proteínas no serán extraídas y otras se insolubilizarán (desnaturalizarán) por el proceso de

evaporación. La espatina, cisticina y lupanina son alcaloides heterocíclicos denominados a veces alcaloides lupínicos; presentes sobre todo en leguminosas (20)

Uno de los componentes principales descritos en las plantas del género *Chuquiraga* son los flavonoides (21) estos han demostrado efecto de inhibición sobre las Catepsinas 1 y 3 de *Fasciola hepatica* in vitro (22), estas enzimas son indispensables para la alimentación del parásito ya que funciona digiriendo el tejido hepático, al ser bloqueadas por la presencia de los flavonoides esta evitaría su alimentación, lo que demostraría su capacidad para funcionar como fasciolicida.

### 2.2.3 Posición taxonómica de *Chuquiraga weberbaurei* Tovar (Amaro).

Reino	:	Plantae
Subreino	:	Tracheobionta
Filo	:	Tracheophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Subclase	:	Asteridae
Orden	:	Asterales
Familia	:	Asteraceae
Subfamilia	:	Barnadesioideae
Género	:	<i>Chuquiraga</i>
Especies	:	<i>Chuquiraga oppositifolia</i> D.Don <i>Chuquiraga parviflora</i> (Griseb.) Hieron. <i>Chuquiraga raimondiana</i> A.Granda

*Chuquiraga rosulata* Gaspar

*Chuquiraga ruscifolia* D. Don

*Chuquiraga straminea* Sandwith

*Chuquiraga ulicina* (Hook. & Arn.)

*Chuquiraga weberbaueri* Tovar

#### **2.2.4 Identificación y cuantificación de los flavonoides de *Chuquiraga spinosa* (Asteraceae)**

Comprende 19 especies de arbustos y árboles, distribuidos principalmente en los Andes desde Colombia a Argentina, y una especie se encuentra en Brasil, principalmente restringido a elevaciones de 1800–3400 msnm<sup>(23,24)</sup>. *Chuquiraga* es un género de 22 arbustos espinosos de hoja perenne que crecen a lo largo de los Andes y la Patagonia en hábitats de gran altitud; sin embargo, algunas especies se encuentran en las zonas a nivel del mar como en el centro de Chile y Argentina<sup>(25–27)</sup>.

La tribu Mutisieae (*Asteraceae*) comprende algunas especies utilizadas en la medicina popular de América del Sur y para el tratamiento de diversas enfermedades. *Chuquiraga* es un Género del Nuevo Mundo con 25 especies distribuidas en la Cordillera de los Andes y Patagonia de Chile y Argentina<sup>(25)</sup>. *C. spinosa* es una planta herbácea extendida en el Oeste peruano de los Andes entre 3000 y 4500 m de altitud. Esta planta, comúnmente llamada Huamanpinta, se usa en la gente como medicina para el tratamiento de varias enfermedades infecciosas y enfermedades inflamatorias<sup>(28,29)</sup>, principalmente para el tratamiento de la hiperplasia próstata, como diurético y vermífugo, y contra enfermedades respiratorias<sup>(30)</sup>.

Hasta la fecha, solo se han realizado dos estudios fitoquímicos reportados para esta planta, de las hojas se encontró tres glucósidos de flavonoides, kaempferol-3-O-rutinósido, kaempferol-3-O-glucósido y quercetina-3-O-rutinósido, mientras que, desde el aceite esencial, se detectaron 70 componentes <sup>(31)</sup>. Por lo tanto, como parte de la investigación de plantas peruanas se informa sobre estructuras de nueve flavonoides de las partes aéreas de *Chuquiraga spinosa*, estos compuestos son de uso para la quimiotaxonómica <sup>(32,33)</sup>. Los extractos de plantas se enviaron a HPLC / DAD y Análisis de HPLC / MS para obtener un análisis de caracterización completa. No hubo diferencias, de un punto de vista cualitativo, entre el metanol 50%, metanol acuoso y extractos de agua. Los espectros UV visibles de nueve componentes mostraron absorbancias típicas de flavonoides (quercetina y derivados de kaempferol) <sup>(32,34)</sup>.

Investigación del extracto metanólico de *C. spinosa* condujo a la identificación de seis flavonoides (2, 4, 5b, 6, 8 y 9). Compuesto 2 (quercetina-3-O-rutinósido o rutina), compuesto 4 (quercetina-3-O-glucósido), compuesto 5b (kaempferol-3-O-rutinósido o nicotiflorina) y el compuesto 8 (kaempferol-3-O-glucósido o astragalina) han sido previamente reportado para *C. spinosa*<sup>25</sup> y otras especies de el mismo género (*C. avellanadae*, *C. calchaquina*, *C. erinaceae*, *C. incana*, *C. oppositifolia*, *C. rosulata*, *C. longifolia*, *C. calchaquina* y *C. longiflora*), compuesto 6 (isorhamnetin-3-O-rutinoside) y 9 (isorhamnetin-3-O-glucoside) se detectaron para la primera vez en el género *Chuquiraga*, identificación que se llevó a cabo mediante análisis HPLC / DAD, HPLC / MS<sup>29</sup>, <sup>(35)</sup>

Finalmente, se aislaron tres flavonoides del Extracto metanólico al 50%, identificado como quercetina-3-O-glucurónido (1), kaempferol-3-O-glucurónido (3) y isorhamnetin-3-O-glucuronide (5a). Identificación de estos compuestos se llevaron a cabo

por HPLC / DAD y HPLC / MS, y confirmado por  $^1\text{H}$  NMR y  $^{13}\text{C}$  NMR Análisis espectroscópico. A lo mejor de nuestro conocimiento, esta es la primera vez que los glucurónidos flavonoides se han encontrado en el género *Chuquiraga*<sup>(35)</sup>.

El método HPLC-DAD fue validado en términos de precisión, repetibilidad, exactitud y linealidad. La precisión del método fue determinada por repetibilidad (intradía) y precisión intermedia (entre días). Los resultados indican buena repetibilidad y baja variabilidad entre días (R.S.D. máximo 1.0%). Se observó buena linealidad sobre la concentración rango de 1.5-500  $\mu\text{g}$  / ml de rutina, con una correlación coeficiente de 0.999, y la regresión lineal ecuación  $y = 28532x + 6337031$ .

La **Tabla 1** informa los datos cuantitativos para flavonoides en los tres extractos de *C. spinosa*. En el cromatógrafo de los extractos de metanol, todos los flavonoides fueron identificados y cuantificados (excepto 4), pero solo los compuestos 1, 3 y 5a podrían cuantificarse en el 50% de metanol y extracto de agua en altas cantidades, los compuestos 2 y 9 también estuvieron presentes en pequeña cantidad solamente (35.3 y 62.8 mg / 100 g, respectivamente) en el extracto de metanol al 50%<sup>(21)</sup>.

## Identificación de metabolitos secundarios de *Chuquiraga weberbaueri* "Amaro"

**Tabla 1.** Metabolitos secundarios identificados en *Chuquiraga weberbaueri*

"Amaro"

Metabolitos	Ensayo	Hoja	Tallo	Flor	Planta completa
Alcaloides	Dragendorff	(+)	(-)	(-)	(+)
Alcaloides	Mayer	(-)	(-)	(-)	(-)
Alcaloides	Wagner	(-)	(-)	(-)	(-)
Saponinas	Espuma	(++)	(+)	(-)	(++)
Compuestos lactónicos	Baljet	(+)	(-)	(-)	(+)
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	(+)	(+)	(+)	(+)
Taninos	Cloruro férrico	(++)	(++)	(+)	(++)
Flavonoides	Shinoda	(-)	(-)	(-)	(-)
Quinonas	Bortränger	(-)	(-)	(-)	(-)
Terpenoides/ Esteroides	Liebermann-Burchard	(-)	(-)	(-)	(-)

**FUENTE.** Mayar Luis Ganoza Yupanqui. Facultad de Farmacia y Bioquímica.

Universidad Nacional de Trujillo, 2021

### I. Identificación de alcaloides

#### Métodos

##### ▪ Ensayo de Dragendorff

- Al extracto acuoso se le añadió I gota de ácido clorhídrico concentrado (se calentó suavemente y dejó enfriar).

A la solución acuosa ácida se añadió III gotas del reactivo de Dragendorff y se observó la presencia de opalescencia se ha de considerar (+), turbidez definida (++) o precipitado (+++) y se anotaron los datos.

- **Ensayo de Mayer:** Se realizó según la forma descrita anteriormente, hasta obtener una solución ácida. Luego, se añadió una pizca de cloruro de sodio en polvo, se agitó y filtró. Posteriormente, se añadió II ó III gotas de la solución reactiva de Mayer. Si considera positivo si hay opalescencia (+), turbidez definida (++) o precipitado (+++).

*OBSERVACIÓN:* En el caso de alcaloides cuaternarios y los aminoácidos libres, éstos solo se encontrarán en el extracto acuoso y para considerar su presencia la reacción debe ser (++) ó (+++), que un resultado (+) puede provenir de una extracción incompleta de bases primarias, secundarias o terciarias.

- **Ensayo de Wagner:** Se partió al igual que en los casos anteriores hasta obtener la solución ácida, se añadió II ó III gotas del reactivo y se analizó según los rangos descritos.

### **Interpretación de resultados**

Con el ensayo de Dragendorff se observó opalescencia con los extractos de hojas y planta completa, respectivamente; por lo que puede considerarse la presencia de alcaloides. Sin embargo, los ensayos de Mayer y Wagner determinaron que ninguno de los extractos contiene este tipo de metabolito secundario. También puede considerarse que tienen cantidad muy pequeña de alcaloides.

**HPLC-DAD analítico y preparativo:** análisis de *C. spinosa* extractose realizó utilizando un Waters Cromatógrafo de líquidos W 600 equipado con un DAD detector (Milford, MA, EE. UU.). Los flavonoides eran separados mediante una columna de 150 x 3,9 mm i.d., 4 µm NovaPak C-18 (Waters) que funciona a 25°C. La detección fue entre 210 y 500 nm. Degradado la elución se usó variando

la proporción de acetonitrilo y agua que contiene 0.5% (v / v) de acéticoácido; el caudal fue de 1 ml min<sup>(21)</sup>.

Usando el mismo instrumento, la separación preparativa se logró con una Waters Symmetry Prep RP18 6 µm (300 mm x 78 mm), a un caudal de 4 ml / min, eluyendo en condiciones isocráticas (25 min) con acetonitrilo y agua que contiene 0.5% (v / v) de acético ácido (5:95)<sup>(21)</sup>.

### **2.2.5 Efecto antiparasitario**

Según la literatura las plantas medicinales, dentro de ellas las del género *Chuquiraga* posee compuestos químicos tales como cumarinas, flavonoides y glucósidos cianogénicos<sup>(36,37)</sup>. El extracto de *Chuquiraga spp.* tiene presencia de flavonoides, dentro de estos el quercetin y el kaempferol, estos compuestos flavonoides podrían actuar inhibiendo la actividad enzimática de las de las Catepsinas de la *Fasciola hepatica*, encargadas de la digestión proteolítica del tejido hepático y de la inhibición de la respuesta inmune<sup>(38)</sup>, es así que el efecto antiparasitario de los flavonoides se atribuye a estos procesos metabólicos mediados por la catepsina de los parásitos<sup>(39,40)</sup>.

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<sup>(41)</sup>.

### **2.2.6 Fascioliasis**

**Definición:** es una enfermedad parasitaria ocasionada por *Fasciola hepatica*, prevalentes en áreas templadas y en regiones de gran altitud<sup>(1,42)</sup>; ocasiona una inflamación del hígado y de los conductos biliares, con frecuencia de carácter crónico que produce trastornos digestivos y nutritivos. Por otro lado, su implicancia en Salud Pública es de mucha importancia debido a que es una zoonosis de alta prevalencia en la sierra peruana, situación que agrava por la carencia de fasciolicidas de uso humano<sup>(43)</sup>.

### **2.2.7 Nombre común de la enfermedad:**

Distomatosis, fasciolosis, fasciolasis<sup>(1)</sup>.

### **2.2.8 Etiología**

*Fasciola hepatica* se encuentra en los conductos biliares y vesícula biliar; puede encontrarse en forma errática en pulmones y tejido subcutáneo, principalmente en bovinos, equinos y el hombre<sup>(44)</sup>.

### **2.2.10 Historia de la enfermedad**

*Fasciola hepatica* fue el primer trematodo descrito para la ciencia. El pastor francés Jean De Brie presentó a Carlos V de Francia en 1379 el tratado *l'art de bergerie* que, resumido y retitulado como *Le bon berger par le rustique Jehan de brie*, en las primeras impresiones del siglo XVI, cuenta que vio al parásito en el hígado de un ovino y relacionó su presencia con el consumo de una hierba llamada *Dauve*, de donde derivó el nombre de duela del hígado. Posteriormente, Gesner demostró en 1551 que la duela del hígado se encontraba allí donde el ganado vacuno, comía hierba en las proximidades de agua y, en 1883, Leuckart, de

Alemania, y Thomas, de Inglaterra, que investigaban por separado, describieron el ciclo de vida completo <sup>(1)</sup>.

Dentro de las enfermedades parasitarias, se considera de importancia la Fascioliasis cuyo agente causal es la *Fasciola hepatica*. Esta enfermedad ataca al parénquima hepático, dejando trazos hemorrágicos, así mismo, las fasciolas adultas obstruyen los conductillos biliares, originando un éxtasis biliar que se convierte en ictericia <sup>(45)</sup>.

### **2.2.11 Posición taxonómica de *Fasciola hepatica*.**

#### **Phylum: Platyhelminthes**

Clase : Trematoda

Sub clase : Digenea

Familia : Fasciolidae

Género : *Fasciola*

Especie : *hepatica*

### **2.2.12 Trematodo (*Fasciola hepatica*): enfermedad y características morfológicas del parásito.**

La enfermedad puede ser de dos tipos: aguda y crónica <sup>(44)</sup>. La forma de presentación depende del grado y duración de la infección; también depende del número de larvas inmaduras que ingresen al hospedero y de la cantidad de parásitos adultos presentes en el hospedero <sup>(46,47)</sup>. La forma de presentación también depende de la estacionalidad del año, al momento de la infección. La forma aguda ocasiona muerte repentina de los animales infectados y muchas veces sin mostrar signos clínicos <sup>(48)</sup>.

Muchos de los animales sobrevivientes a la forma aguda se muestran aletargados y tienen las mucosas pálidas <sup>(49)</sup>. La fascioliasis crónica es la más común y se caracteriza por pérdida progresiva de peso y que termina por desarrollar una severa emaciación, mostrando el típico eccema sub mandibular o mandíbula de botella <sup>(3)</sup>. La infección crónica es confirmada por los hallazgos de huevos de *Fasciola* en el rebaño. Las dos formas de la enfermedad pueden determinarse al examen post mortem. Los animales muertos de infección aguda, presentan el hígado con severos y múltiples focos hemorrágicos en toda la superficie del órgano. Al presionar una porción del hígado infectado dentro de un recipiente de agua con fondo blanco se logra numerosas formas inmaduras de fasciolas. En los casos crónicos, el hígado se encuentra agrandado y duro o firme (cirrótico) al corte se observa la presencia de fasciolas adultas en los conductos biliares. En estos casos, los conductos biliares se encuentran agrandados, engrosados y cirróticos <sup>(1)</sup>

La *Fasciola* es un gusano plano, sin segmentos, carnoso, que mide 2 a 3,5 cm de largo por 1 a 1,5 cm de ancho. Es de color blanquecino y posee tonalidades que van desde el cenizo hasta coloraciones parduscas. La porción anterior o cefálica presenta una ventosa bucal que mide 1 mm aproximadamente y otra de mayor tamaño en la zona ventral, de aproximadamente 1,6 mm. El tegumento permite al parásito mantener su homeóstasis, así como enfrentarse de forma efectiva a las condiciones hostiles del medio ambiente, inclusive a los ataques del sistema inmunitario del hospedador. La superficie del tegumento es muy plegada e invaginada, mostrando numerosas espinas que le ayudan a aumentar la superficie para la absorción e intercambio molecular entre el tegumento y el hospedador definitivo. El aparato digestivo de *Fasciola hepatica* es incompleto,

formado por una cavidad bucal pequeña que se continua por una faringe, esófago que se bifurca formando dos ramas laterales, las cuales se dirigen hacia la porción posterior del cuerpo del gusano, para terminar en ciegos intestinales. Es hermafrodita. El útero es corto. Los diversos componentes del huevo se juntan en el segmento proximal del útero; las células vitelinas son abundantes, en forma de racimos de uvas y distribuidas por todas las porciones laterales; de ellas se desprenden gránulos vitelógenos que contienen proliferol y proteínas. El ovario se encuentra situado a la derecha de la línea media, en una posición anterior con respecto a los dos testículos, uno detrás del otro, muy ramificados y situados en los dos tercios del cuerpo <sup>(1,44,50)</sup>.

#### **2.2.14 Ciclo biológico**

*Fasciola hepatica* tiene un ciclo biológico indirecto, necesita de un hospedero intermediario que es un caracol donde se desarrollan y multiplican las etapas asexuadas <sup>(51)</sup>. Los parásitos adultos depositan sus huevos en conductos biliares, pasan posteriormente al intestino y salen por las heces <sup>(1,52)</sup>.

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, etac, y preferentemente estar fuera de las heces <sup>(1,44,53)</sup>. 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 hipertonicidad 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 aún, 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 <sup>(54)</sup>.

Los huevos inhiben su desarrollo por debajo de 10°C y por encima de 30°C y mueren cuando su humedad superficial desaparece<sup>3</sup>. 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* <sup>(54,55)</sup>. 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 esporocisto 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 transportan 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 <sup>(54,55)</sup>.

La cercaria es el último estado larvario que parasita al caracol, abandona la 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 <sup>(1,44,56)</sup>.

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 hospedadora partir de 55-56 días desde la ingestión de las metacercarias <sup>(57)</sup>.

### **2.2.15 Signos y síntomas**

Existen tres formas de presentación de la fascioliasis: la aguda, la sub aguda y la crónica. Dependiendo de la época del año y el clima puede haber infecciones masivas en bovinos y ovinos que luego de dos o tres semanas se puede manifestar como una Fascioliasis aguda especialmente en animales jóvenes. Los animales muestran síntomas clínicos de Fascioliasis como son la fiebre ligera, abatimiento, debilidad, aumento del volumen del hígado, con dolor y ascitis. Estos síntomas de aparición rápida, son acompañados de muerte de animales. La forma sub aguda es aquella donde la patogenia del proceso presenta unos síntomas clínicos compatibles con la permanencia de la infección durante un largo periodo de tiempo, relacionados con las lesiones sufridas por el parénquima y con la presencia de parásitos adultos en los conductos biliares. Las muertes se producen

meses más tarde que en el caso de la Fascioliasis aguda. El examen clínico de los hospedadores permite observar la presencia de mucosas pálidas. Los animales afectados empeoran su estado corporal, presentando todo el rebaño un aspecto homogéneo, aletargamiento, vellones ralos (en casos de ovinos) y bajos índices de desarrollo corporal. En general los síntomas aparecen en los casos crónicos. Estos son: falta de peso, debilidad general, edema sub mandibular y palidez de mucosas. En casos de muerte las lesiones y las fasciolas son muy evidentes. Como los signos clínicos de la fascioliasis son inespecíficos se necesita la confirmación de laboratorio o a través de una necropsia para arribar a un diagnóstico definitivo (58,59).

#### **2.2.16 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<sup>36</sup>. El curso de la patogenia de la fasciolosis depende del número de Fasciolas que invaden al hígado y está asociada con la acción histófaga 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 fascioliasis 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* (3,49,59).

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 (3,59).

El hospedador utiliza los mecanismos de la respuesta inmune para combatir al parásito, dicha respuesta es el resultado de la compleja interdependencia de los procesos inmunológicos tanto humorales como celulares. De acuerdo a la resistencia de la *Fasciola hepatica*; a los hospedadores se los ha clasificado en 3 grupos, los ovinos, equinos y ratones se encuentran dentro del grupo de menor resistencia; los bovinos, el hombre y las ratas están en resistencia moderada y los cerdos dentro de los de mayor resistencia, el sistema inmune del hospedador actúa tanto contra Fasciolas adultas como juveniles de una manera integral, es decir la respuesta inmune es una combinación de factores humorales y celulares. Se menciona que la respuesta inmune de los bovinos actúa de la siguiente manera:

- a) Reduciendo el promedio de parásitos que se establecen en el hospedador
- b) Retardando o inhibiendo el desarrollo de Fasciolas
- c) Retardando o inhibiendo la migración de los parásitos
- d) Suprimiendo la producción de huevos
- e) Eliminando las Fasciolas<sup>(60,61)</sup>

### **2.2.17 Diagnóstico**

El diagnóstico de la fascioliasis puede realizarse mediante la observación de la sintomatología, la utilización de técnicas específicas (biopatológicas,

parasitológicas e inmunológicas) y los hallazgos de necropsia<sup>2</sup> en el periodo patente se confirma por el hallazgo de huevos en las heces<sup>(15)</sup>. El método más difundido es el recuento de huevos en la materia fecal mediante la prueba de sedimentación

El diagnóstico puede realizarse en forma directa por la identificación y cuantificación del huevo de *F. hepatica*; no es posible hasta después de tres meses de la infección. La forma indirecta se puede utilizar durante el periodo de invasión a través de la determinación de las modificaciones bioquímicas, citológicas e inmunológicas. Lamentablemente la falta de antígenos purificados y estables y la estandarización de las técnicas inmunológicas, hacen que el diagnóstico inmunológico en animales no se realice. La prueba intradérmica puede ser útil para estudios de hato; otras pruebas como la de inmunoensayo en capa delgada, promete por su sensibilidad, ser utilizada en mayor escala<sup>(57,60,62)</sup>.

El diagnóstico directo por coproscopía permite cuantificar los huevos en las heces después del tercer mes de infección. El examen coprológico comprende varios métodos de enriquecimiento: Métodos por sedimentación<sup>(63,64)</sup>, Métodos de flotación con líquidos de alta densidad y Métodos de filtración con malla metálica<sup>(1)</sup>.

Los métodos de sedimentación son los que más se utilizan por su sencillez, ya que se requiere de agua limpia, una pequeña cantidad de detergente y vasos donde hacer la decantación; si se quiere hacer cuantitativo hay que pesar las heces y considerar el factor dilución y la cantidad observada de huevos para tener la cantidad por gramo o gramos de heces; por lo general es 5 gramos. En bovinos, la efectividad de esta prueba es del orden del 70% en un solo examen, con una serie

de tres, aumenta a 93%. En ovinos 62% y 70% es el primero y 97%. Los métodos de flotación requieren el empleo de soluciones muy densas como Sulfato de zinc en solución saturada o Yodo-mercurato de potasio. Es necesario considerar el costo del producto, así como los cuidados relativos a la corrosión y deformación de los huevos; es una técnica confiable y con alto grado de precisión <sup>(1,15,44,65)</sup>.

De modo excepcional, algunas fasciolas inmaduras se desplazarán hacia los pulmones, el tejido subcutáneo, los ganglios linfáticos o el útero. Durante la fase aguda, el recurso diagnóstico más importante es el estudio clínico-epidemiológico, la biometría hemática con recuento de eosinófilos, la tomografía axial computarizada y la medición de los anticuerpos circulantes por el método ELISA <sup>(66,67)</sup>.

### **2.2.18 Epidemiología**

La epidemiología de la Fascioliasis depende de la presencia del caracol *Lymnaea*, condiciones idóneas de humedad y temperatura, factores topográficos y sistemas de pastoreo utilizados <sup>(1,68)</sup>. Su distribución enzoótica, en EE. UU a lo largo del Golfo de México, la costa occidental, la región de las Montañas rocosas; se encuentran presente en Canadá, Colombia Británica, Sur América, Australia y Nueva Zelanda <sup>(57)</sup>.

En el Perú afecta todos los pisos altitudinales del país, con menos frecuencia en la selva baja y con más frecuencia en la región quechua. Se han reportado tasas de infección hasta el 100% a lo largo de la sierra que constituye una zona enzoótica de la enfermedad, caprinos y porcinos son importantes como reservorios domésticos en algunas áreas de la región quechua <sup>(43,69)</sup>.

### 2.2.19 Triclabendazol

**Descripción.** Es de la familia química de los benzimidazoles; su nombre químico es 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxil)-2-metiltio-1H-benzimidazol.

**Farmacodinamia.** El sitio más usual de metabolismo es el hígado, donde comúnmente ocurren reacciones de oxidación y separación. Su acción es producida por un derivado metabólico: sulfóxido de triclabendazol el cual después de ejercer su acción a nivel de parénquima hepático y conductos biliares, es eliminado conjuntamente con la bilis. Todos los benzimidazoles actúan sobre los parásitos interfiriendo su metabolismo generador de energía, la gran mayoría inhibiendo la enzima fumarato reductasa <sup>(70,71)</sup>.

El bloqueo del paso del fumarato reductasa inhibe la generación de la energía mitocondrial en la forma de adenosin trifosfato (ATP). Además de bloquear el fumarato reductasa, también se fija a la tubulina de los parásitos, lo que impide la unión de las subunidades de proteínas alfa y beta de la tubulina y altera la función y estructura de los microtúbulos de las células de los parásitos. Los microtúbulos son estructuras intracelulares con varias funciones relacionadas con el movimiento de los cromosomas durante la división celular, la absorción de nutrientes, la motilidad y el soporte estructural de la célula, el movimiento de partículas intracelulares, la exocitosis y la comunicación intracelular <sup>(71)</sup>.

**Farmacocinética.** Después de que se administra por vía oral se absorbe. La Concentración máxima se alcanza a las 8 horas, se metaboliza hasta 95% de la dosis administrada y los principales metabolitos encontrados en plasma son sulfóxido y el triclabendazol sulfona. Se elimina principalmente en heces, el resto en orina y leche <sup>(70,71)</sup>.

**Dosificación.** En lo general, se recomienda dosis de 5mg/kg en cabras, de 10 mg/kg en las ovejas y de 12 mg/kg en el ganado vacuno <sup>(72)</sup>.

**Toxicidad.** La dosis máxima tolerada es de 200mg/kg por lo cual los animales pueden presentar incoordinación hasta por tres días. Se informa que consecuente a la aplicación del triclabendazol se puede presentar reacciones en pie por fotosensibilidad, la cual se manifiesta por inflamación de la piel y de la ubre; esto se considera un efecto de toxicidad del cual no está bien definida la causa. Se indica que puede existir lesión en el área de piel donde se aplique el producto por vía subcutánea, sin que esto sea una limitante para su uso <sup>(70,73)</sup>.

**Tiempo de retiro.** El tiempo de retiro para carne de ovino y bovino es de 28-42 días, y para leche es de siete días <sup>(11)</sup>.

### 2.2.1 Hipótesis

El Amaro (*Chuquiraga weberbaueri*) liofilizado en comprimidos (cápsulas), tiene efecto fasciolicida en terneros infectados artificialmente.

El Triclabendazol al 12% en suspensión tiene una eficacia mayor al 77% <sup>(15)</sup> en terneros infectados artificialmente.

## CAPÍTULO III

### DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS

#### 3.1 Diseño y Tipo de Estudio

Aplicada, experimental, explicativa y de corte longitudinal.

#### 3.2 Localización

La investigación se llevó a cabo en el Fundo Tartar de la Universidad Nacional de Cajamarca, Distrito Baños del Inca, Provincia de Cajamarca, durante los meses de febrero a setiembre del 2020, las pruebas coproparasitológicas se realizaron en el Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias, el sacrificio y necropsia se realizó en el Camal Municipal de Cajamarca y el análisis de hígado en el laboratorio de Inmunología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, cuyas características geográficas y meteorológicas son:

- Superficie : 35417,82 Km<sup>2</sup>
- Altitud : 2760 m.s.n.m.
- Temperatura máxima promedio : 20,8 °C
- Temperatura media anual : 14,75 °C
- Temperatura mínima promedio : 8,5 °C
- Precipitación pluvial anual : 801,8 mm
- Humedad relativa media anual : 68,3 %
- Humedad mínima : 35,2 %
- Humedad máxima : 90,1 %
- Clima : Templado seco, con lluvias en los meses de diciembre a marzo.

## **Población, Muestra y Unidad de Análisis**

La población en estudio estuvo conformado por un total de doce terneros (12) destetados de raza Holstein, de 3 meses de edad, infectados artificialmente para el estudio comparativo del Amaro y el Triclabendazol, de los cuales, 04 terneros (A) son el grupo control, 04 (B) se le aplicó el Amaro en comprimido (Cápsulas) y los otros 04 (C) se le aplicó el Triclabendazol según lo recomendado por la Asociación Mundial para el Avance de la Parasitología Veterinaria(W. A. A. V. P.) Segunda Edición de directrices para evaluar la eficacia de los antihelmínticos en rumiantes (bovinos, ovinos, caprinos).<sup>(74)</sup>

### **3.3 Material biológico**

#### **3.3.1 Material biológico animal**

12 terneros de raza Holstein de 3 meses de edad.

#### **3.3.2 Material biológico vegetal**

Las hojas de *Chuquiraga werberbaueri* fueron colectadas en el kilómetro 23.5 de la carretera Cajamarca a Celendín, esta luego fue procesadas hasta obtener un Decocto (extracto acuoso) y luego molido y liofilizado para luego ser envasado en cápsulas.

#### **3.3.3 Material químico**

Suspensión de Triclabendazol al 12% en suspensión, Bilevon®

### **3.4 Metodología**

#### **3.4.1 Obtención de los comprimidos de Amaro**

Se realizó en laboratorio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica en la Universidad Nacional de Trujillo, 2020

**Estabilización de la muestra:** Se secó por 24 horas a 45°C en una estufa.

**Selección de la muestra:** Una vez estabilizada la muestra se procedió a deshojar y triturar las hojas secas, y otra parte se almacenó en frascos herméticamente sellados.

**Decocto:** Se pesó 100 g de hoja seca previamente triturada y se colocó en un matraz de 4 Lt, se agregó 2 Lt de agua destilada y se llevó a ebullición por 10 min, luego se dejó enfriar y se filtró en gasa, luego con papel de filtro en un embudo Büchner, se filtró al vacío para eliminar sólidos restantes. Se colocó el filtrado en un balón previamente pesado, se llevó a concentrar al vacío mediante un evaporador rotatorio (rotaevaporador) hasta la cuarta parte de su volumen. El extracto concentrado se colocó en un frasco para liofilización y se llevó a un baño de enfriamiento por 15 a 20 min a 42°C, para impregnar el extracto en las paredes del vaso de liofilización y solidificarlo. Finalmente se colocó en una ultracongeladora a -80 °C por 72 horas y después se colocó a liofilizar a 66 mTorr a -80 °C por 48 h.

**Elaboración de las cápsulas de Amaro de 500 mg:** Se llevó a cabo en un ambiente controlado de 24 °C y 50 % de humedad; se utilizó cápsulas de gelatina, se pesó; luego se obtuvo el peso promedio de las cápsulas de gelatina vacías tomando el peso de 20 cápsulas, para sacar su promedio. Para la encapsulación se utilizó una encapsuladora semiautomática doble cero, se incorporó las 50 cápsulas vacías (parte más grande de la cápsula hacia abajo) se acopló la tapa de la encapsuladora la cual permite separar las dos partes de la cápsula; se procedió a agregar la muestra previamente pesada y con ayuda de una paleta se esparció la muestra en las cápsulas rellenando a todas de manera equitativa, luego se acopló la parte superior del instrumento uniendo las dos partes de las cápsulas. Se procedió a pesar 20 cápsulas llenas para obtener el peso promedio y se comparó con el

peso promedio de las cápsulas vacías. Las cápsulas fueron almacenadas en una bolsa plástica para evitar su degradación y fueron colocadas en un frasco de polipropileno de alta densidad herméticamente cerrado.

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

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

**Primera etapa. Se realizó las siguientes actividades:**

**Identificación de los animales.** Se llevó a cabo mediante el aretado de todos los terneros.

**Primera recolección de muestras de heces.** Se extrajo del recto aproximadamente 100g y se realizó un examen coproparasitológico, después se procedió a infectar los terneros en forma artificial con 200 metacercarias cultivadas in vitro a partir de huevos de *Fasciolas*, obtenidas del Laboratorio de Inmunología, Grupo de Investigación en Trematodos de la Universidad Nacional de Cajamarca.

**Infección artificial:** 200 metacercarias de *Fasciola hepatica* a cada ternero.

**Permanencia y alimentación.** Todos los terneros fueron alimentados exclusivamente con leche hasta cumplir los tres meses, luego de este tiempo se realizó el destete y fueron alimentados con heno de alfalfa durante todo el experimento, a los 100 días se infectaron con metacercarias y se esperó un total de 77 días pos infección, para que las fases larvarias de *F. hepatica* llegaran a su fase adulta en los conductos biliares.

**Formación de los grupos A, B y C.** A las 11 semanas de permanencia de los terneros pos infección se formaron los grupos, para lo cual se realizó un HPG

(Recuento de huevos) a cada uno, de modo que cada grupo tenga una sumatoria de huevos similares y sean homogéneos.

**Segunda etapa:** Se llevó a cabo las siguientes actividades:

**Estimación del peso vivo.** Se realizó con ayuda de una cinta bovinométrica.

**Dosificación con liofilizado de Amaro en comprimidos (cápsulas).**

Se efectuó al día siguiente de haberse conformado los grupos y solo fue para los terneros del grupo B.

**Dosificación con Triclabendazol al 12% en suspensión.**

Se efectuó al día siguiente de haberse conformado los grupos y solo fue para los terneros del grupo C.

**Tercera etapa.**

Se realizó un HPG (número de huevos por gramo de heces) cada 8 días hasta los 32 días pos dosificación. La extracción de la muestra de heces fue similar al muestreo pre dosificación, tanto para el grupo A como para el grupo B y grupo C.

**Trabajo de Laboratorio:** La carga parasitaria se determinó mediante la técnica de Sedimentación Natural Modificada por Rojas y Torrel <sup>(64)</sup>, que tiene una sensibilidad en terneros del 93% y se llevó a cabo mediante el siguiente protocolo:

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

Balanza de precisión.

Vasos plásticos de 400 ml de capacidad.

Vasos de vidrio cónico de 260 ml de capacidad.

Embudo con malla metálica de 80 hilos/pul.

Placas Petri de 10 centímetros de diámetro, con líneas paralelas de 1 centímetro de separación.

Estereoscopio con luz incorporada.

Agitador eléctrico (batidora de mano).

Estilete (aguja N°22x ½pulg.).

Mortero de madera.

### **3.5 Técnica:**

De la muestra total de heces (aproximadamente 100g), se homogenizó y luego se pesó 1 gr de heces, lo que fue llevado a un vaso de plástico de 400 ml de capacidad.

Se agregó aproximadamente 200 ml de agua de caño, se homogenizó la muestra con un agitador eléctrico (batidora de mano), por un tiempo aproximado de 10 segundos.

Se pasó por un embudo con malla metálica de 80 hilos por pulgada hacia otro vaso de vidrio de forma cónica de 250 ml de capacidad, se agregó más agua de caño hasta llenar a 1 cm del borde del vaso.

Se dejó reposar por 5 minutos.

Se decantó el sobrenadante dejando aproximadamente 15 ml de sedimento en el vaso.

Se trasladó el sedimento a una placa petri con rayas paralelas a 10 mm de distancia entre ellas.

Se colocó 3 gotas de lugol fuerte, esperar 5 minutos para colorearlos huevos.

Se observó el sedimento en el esteroscopio a 16 aumentos. Es necesario separar

las fibras vegetales con un estilete (aguja N.º 22 x ½ pulgada) para mejor observación.

### **3.5 Cálculo del HPG (huevos por gramo de heces).**

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.

### **3.6 Cálculo de la dosis terapéutica de la cápsula de Amaro**

Se obtuvo multiplicando el peso vivo del animal por la dosis de 200 mg/kg de peso vivo por 4 días consecutivos.

### **3.7 Cálculo de la dosis terapéutica del Triclabendazol al 12% en suspensión.**

Se obtuvo multiplicando el peso vivo del animal por la dosis de 12 mg/kg y el resultado se dividió entre la concentración del fasciolicida, teniendo en consideración que la concentración del Triclabendazol es del 12% en suspensión.

**Registro de datos.** Cada animal fue registrado con los siguientes datos:

Identificación, edad aproximada, peso vivo, huevos por gramo de heces (HPG pre dosificación y pos dosificación), dosis terapéutica.

**GRUPO A (Control)**

<b>N° Animales</b>	<b>Identidad</b>	<b>Peso vivo (kg)</b>	<b>Dosis (mg)</b>	<b>HPG Día 0 pre dosif.</b>	<b>HPG Día 8 pos dosif.</b>	<b>HPG Día 16 pos dosif</b>	<b>HPG Día 24pos dosif.</b>	<b>HPG Día 32 pos dosif.</b>
<b>1</b>								
<b>2</b>								
<b>3</b>								
<b>4</b>								

**GRUPO B (Tratamiento con Amaro)**

<b>N° animales</b>	<b>Identidad</b>	<b>Peso vivo (kg)</b>	<b>Dosis (mg)</b>	<b>(HPG) Día 0 pre dosif.</b>	<b>(HPG) Día 8 pos dosif.</b>	<b>(HPG) Día 16 pos dosif.</b>	<b>(HPG) Día 24pos dosif.</b>	<b>(HPG) Día 32 pos dosif.</b>
<b>1</b>								
<b>2</b>								
<b>3</b>								
<b>4</b>								

**GRUPO C (Tratamiento con Triclabendazol)**

<b>N° animales</b>	<b>Identidad (ID)</b>	<b>Peso vivo (kg)</b>	<b>Dosis (mg)</b>	<b>(HPG) Día 0 pre dosif.</b>	<b>(HPG) Día 8 pos dosif.</b>	<b>(HPG) Día 16 pos dosif.</b>	<b>(HPG) Día 24 pos dosif.</b>	<b>(HPG) Día 32 pos dosif.</b>
<b>1</b>								
<b>2</b>								
<b>3</b>								
<b>4</b>								

### **3.8 Cálculo del porcentaje de eficacia del Amaro en liofilizado en comprimidos (cápsulas) y del Triclabendazol al 12% en suspensión.**

Se aplicó la fórmula de porcentaje de eficacia.

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

$$C=A - B$$

Dónde:

**%E** : Es el Porcentaje de eficacia.

**C** : Es la diferencia de A – B.

<p><b>A</b> : Es el número de huevos encontrados en el grupo control.</p> <p><b>B</b> : Es el número de huevos encontrados día 8, 16, 24 y 32 pos dosificación.</p>
---

### **Análisis de hepatotoxicidad pos tratamiento**

Al finalizar el tratamiento se extrajo sangre de la vena coxígea para la obtención de suero sanguíneo, con las que se realizaron pruebas bioquímicas de Transaminasas GOT y GTP, para determinar si existe algún efecto de hepatotoxicidad.

### **3.9 Eficacia Absoluta: Prueba crítica por Necropsia (conteo de Fasciolas adultas en hígado).**

En el día 34 pos dosificación se realizó la necropsia de los 12 terneros, con la intención de recolectar los parásitos que se encontraron en cada hígado. En la necropsia, se obtuvo el hígado, en el cual se practicaron cortes longitudinales a través de los conductos biliares con la finalidad de recuperar las fasciolas adultas.

### **Procesamiento y análisis de datos**

Los datos obtenidos fueron tabulados en Microsoft Excel 2019, y luego se obtuvieron promedios, para seguidamente ser analizados estadísticamente mediante prueba de t de Student para comparar los promedios de huevos y luego calcular la eficacia mediante fórmula.

### **Consideraciones éticas.**

El proyecto fue presentado al comité de ética de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca. Además, se contó con el apoyo profesional de Médicos Veterinarios que participaron durante todo el experimento. Los animales estuvieron aislados en el Fundo Tartar Pecuario de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, en dos corrales de 20mt \* 20mt, mitad del corral bajo techo y la otra mitad al aire libre, con agua ad libitum y alimentación con forraje seco y concentrado paletizado. Todos los días se realizó la limpieza y cambio de agua. Las camas fueron acomodadas con paja de arroz, manteniéndolas secas bajo techo.

### **Dificultades y limitaciones para el estudio**

El desarrollo de la investigación se realizó en su totalidad durante la Pandemia de la COVID 19, lo que impidió cumplir adecuadamente con los tiempos de desarrollo de cada una de las actividades.

### **Definición De Términos Básicos**

Eficacia: Capacidad de un producto o tratamiento de lograr un objetivo

Eficacia clínica: Disminución del número de huevos pos tratamiento mediante el TRCH.

Eficacia Absoluta: Disminución del número de Fasciolas pos tratamiento mediante la prueba crítica por necropsia.

Fasciolicida: Fármaco que elimina Fasciola.

Amaro: *Chuquiraga weberbaurei*

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de la Eficacia del Amaro (*Chuquiraga weberbaurei*).

**TABLA 1. Eficacia fasciolicida del extracto acuoso liofilizado de Amaro (*Chuquiraga weberbaurei*) en comprimidos (cápsulas) en terneros infectados artificialmente mediante el test de reducción del conteo de huevos (TRCH). A dosis de 200 mg.kg /día P.V. por 4 días consecutivos.**

Grupo	ID	N° huevos pre Tto (0)	Conteo de huevos pos tratamiento con intervalos de 8 días:			
			8 días	16 días	24 días	32 días
Amaro	6 (arete amarillo)	13	6	5	6	5
	7	12	7	9	6	5
	9	14	12	8	8	8
	12	14	6	5	8	9
Suma		53	31	27	28	27
Promedio		<b>13.25</b>	7.75	6.75	7	6.75
% Eficacia			<b>41.51%</b>	<b>49.06%</b>	<b>47.17%</b>	<b>49.06%</b>
			p=0.012650	p=0.0080725	p=0.000070	p=0.001042

\*p<0.05 existe diferencia estadísticamente significativa

Los datos obtenidos fueron analizados mediante la **fórmula de Eficacia por Ueno y Concalves 1998.**

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

Donde:

%E: porcentaje de eficacia

C: diferencia A – B

A: número de huevos encontrados en el grupo control (pre tratamiento)

B: número de huevos encontrados en los días 8, 16, 24, 32 pos dosificación

%E al día 8	$13.25 - 7.75/13.25*100=41.51\%$
%E al día 16	$13.25 - 6.75/13.25*100=49.06\%$
%E al día 24	$13.25 - 7/13.25*100=47.17\%$
%E al día 32	$13.25 - 6.75/13.25*100=49.06\%$

**TABLA 2. Eficacia fasciolicida del Triclabendazol 12% en suspensión en terneros infectados artificialmente mediante el test de reducción del conteo de huevos (TRCH).**

Grupo C	ID	N° huevos pre Tto (0)	Conteo de huevos pos tratamiento con intervalos de 8 días:			
			8 días	16 días	24 días	32 días
Triclabendazol	Lucero	10	10	7	7	8
	2	10	5	9	8	8
	3	16	5	12	9	9
	5	11	15	9	9	11
Suma		47	35	37	33	36
Promedio		<b>11.75</b>	8.75	9.25	8.25	9
			<b>25.53%</b>	<b>21.28%</b>	<b>29.79%</b>	<b>23.40%</b>
			p=0.2114	p=0.015	p=0.0302	p=0.0813

Los resultados de eficacia solo fueron estadísticamente significativos los días 16 y 24.  $p < 0.05$

%E al día 8	$11.75 - 8.75/11.75*100=25.52\%$
%E al día 16	$11.75 - 9.25/11.75*100=21.22\%$
%E al día 24	$11.75 - 8.25/11.75*100=29.73\%$
%E al día 32	$11.75 - 9/11.75*100=23.40\%$

**TABLA 3. Cuadro comparativo de la Eficacia fasciolicida del extracto acuoso liofilizado de Amaro (*Chuquiraga weberbaurei*) en comprimidos (cápsulas) y el Triclabendazol al 12% en suspensión, mediante el Test de Reducción del conteo de huevos (TRCH).**

Día Pos Tto.	Amaro (grupo B)	Triclabendazol (grupo C)
8	41.51%	25.53%
16	49.06%	21.28%
24	47.17%	29.79%
32	49.06%	23.40%
<b>Promedio. % E</b>	<b>46.70%</b>	<b>25.00%</b>

**TABLA 4. Eficacia Absoluta: Prueba crítica por Necropsia para determinar la eficacia entre el extracto acuoso liofilizado de Amaro (*Chuquiraga weberbaurei*) en comprimidos (cápsulas) y el Triclabendazol, conteo de *Fasciola hepatica* adulta en hígados.**

Grupo	IDENTIFICACIÓN (ID)	Peso vivo en Kg	N° de Fasciolas		%Eficacia a la necropsia
			recuperadas al día 32 pos tratamiento	Promedio geométrico	
<b>Control</b>	1	130	4		
	4	170	12		
	6	125	4		
	8	95	32	<b>8.85</b>	
<b>Amaro</b>	6 (Arete amarillo)	150	3		
	7	115	4		
	9	110	5		
	12	155	3	<b>3.66</b>	<b>58.63%</b>
<b>Triclabendazol</b>	Lucero	150	2		
	2	149	2		
	3	190	5		
	5	164	4	<b>2.99</b>	<b>66.22%</b>

La eficacia del tratamiento antihelmíntico fue determinada por comparación del promedio geométrico de *Fasciola hepatica* encontrada en el grupo Control y los grupos tratados, sea Amaro o Triclabendazol según la fórmula propuesta por La Asociación Mundial para el Avance de la Parasitología Veterinaria (W.A.A.V.P) (Wood et al., 1995).

$$\%E = \frac{\text{promedio geométrico } F. \text{ hepatica del grupo control} - \text{promedio geométrico de } F. \text{ hepatica del grupo tratado}}{\text{promedio geométrico de } F. \text{ hepatica del grupo control}}$$

Los resultados observados en las **tablas 1 y 2** nos muestran que la eficacia del Amaro (*Chuquiraga weberbaurei*) en comprimidos (cápsulas) a dosis de 200 mg por kg de peso vivo por día por cuatro días mediante el Test de reducción de conteo de huevos (TRCH), éste fue de 41.51% a los 8 días, de 49.06% a los 16 días; 47.17 % a los 24 días y de 49.06 % a los 32 días postratamiento; obteniendo una eficacia promedio de 46.7 % lo que difiere con el 90.8% de efectividad reportado Fernández G<sup>(7)</sup> el cuál usó extracto acuoso de Amaro en ovinos y el 92.5% de Fernández N<sup>(8)</sup> que usó un extracto alcaloide de Amaro en forma acuosa y en pastillas proporcionándoles a 40 bovinos encontrando una eficacia del 90% en forma líquida y 95% en pastillas y con el ensayo realizado en cuyes a la necropsia por Abanto M<sup>(9)</sup> que obtuvo un 100% de eficacia en forma líquida.

En el presente estudio, para el caso del Triclabendazol al 12% en suspensión, se obtuvo 25.53% a los 8 días, 21.28 % a los 16 días, 29.79 % a los 24 días y 23.40 % a los 32 días postratamiento; obteniendo una eficacia promedio de 25 %, esta eficacia promedio difiere de los reportado por Rojas en el 2012 con 3% en bovinos en Cajamarca<sup>(13)</sup> y en el 2013 en bovinos en San Juan, Cajamarca con 77%<sup>(15)</sup> y por Chávez A. en bovinos en Jauja en el 2012 con 34.9%<sup>(75)</sup>, pero es muy similar al 25% reportado por Ortiz et al. en ovinos en el 2013<sup>(6)</sup>.

En la **tabla 3** al comparar la eficacia acumulada del Amaro con 46.70% frente a Triclabendazol con 25%, el primero que tiene una mejor respuesta a la infección por *Fasciola hepatica* coincidiendo con lo mencionado por Fernández G<sup>(7)</sup>.

Seguidamente en la **Tabla 4**, en la Prueba crítica por necropsia, se observa que la eficacia del Amaro 200 mg por Kg de P.V y del Triclabendazol al 12 %; realizada en terneros infectados artificialmente 32 días pos tratamiento fue de 58.63% para el Amaro y 62.22% para el Triclabendazol respectivamente, del mismo modo que en la

reducción de huevos, los resultados de necropsia difieren con el 92.5% de eficacia hallada por Fernández G <sup>(7)</sup> usando extracto acuoso en ovinos.

En las tablas mencionadas se observa que no hay relación entre la reducción del número de huevos mediante la prueba de sedimentación con la reducción del número de *Fasciolas* encontradas a la necropsia, la cual puede ser desde el punto de vista inmunológico debido a que en el presente trabajo se utilizó terneros destetados y se los infectó artificialmente (primo infección) no contaban con la resistencia ni humoral, ni celular debido a que la inmunidad se adquiere a partir de los 18 meses de edad, datos que coinciden por lo reportado por Alpízar et al., que mencionan que la mayor frecuencia de infección se encuentran en animales de 18 a 24 meses de edad <sup>(14)</sup>.

Por otro lado en el presente trabajo queda demostrado que el número de huevos de *Fasciola* está en relación directa con el número de parásitos adultos, coincidiendo con lo mencionado por Clery et al. <sup>(38)</sup> quien menciona que la respuesta inmune de los bovinos reduce de forma proporcional el número de parásitos y el número de huevos. También puede deberse a la dosis baja del amaro y a la resistencia del parásito al Triclabendazol.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES

Se concluye que:

1. La eficacia del extracto acuoso liofilizado de Amaro (*Chuquiraga weberbaurei*) en comprimidos (cápsulas) a dosis de 200 mg/kg PV vía oral para el control de *Fasciola hepatica* por infección artificial en terneros medida mediante el test de reducción del conteo de huevos (TRCH) fue 40.76% y el recuento promedio es estadísticamente significativo con respecto al promedio de huevos pre tratamiento ( $p < 0.05$ ).
2. La eficacia del Triclabendazol al 12% en suspensión vía oral para el control de *Fasciola hepatica* por infección artificial en terneros medida mediante el test de reducción del conteo de huevos (TRCH), fue en promedio del 25% y el recuento promedio no es estadísticamente significativo con respecto al promedio de huevo pre tratamiento ( $p > 0.05$ ).
3. La eficacia absoluta de los comprimidos del extracto acuoso liofilizado de Amaro (*Chuquiraga weberbaurei*) en comprimidos (cápsulas) mediante la prueba crítica por necropsia fue de 58.63% y para el Triclabendazol 12% en suspensión vía oral fue de 66.22%.

## RECOMENDACIONES

1. Finalmente, como recomendaciones se sugiere realizar trabajos de investigación en los que se aumente la dosis.
2. Realizar estudios en otras especies que sean afectadas por *Fasciola hepatica*, en lo posible monogástricos debido a que el microbiota ruminal puede interferir en la adecuada absorción del extracto.
3. Proponer estudios clínicos en seres humanos afectados con *Fasciola hepatica* como alternativa de tratamiento en casos de resistencia.

## CAPÍTULO VI

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cordero M, Rojo F, Martínez A, Sánchez M, Hernández S, Navarrete I, et al. Parasitología Veterinaria. 1ra Edició. McGraw-Hill-Interamericana, editor. Madrid - España; 1999. 260–271 p.
2. Bargues MD, Funatsu IR, Oviedo JA, Mas-Coma S. Natural water, an additional source for human infection by *Fasciola hepatica* in the Northern Bolivian Altiplano. *Parassitologia*. 1996;38(1–2):251.
3. Martínez-Moreno A, Jiménez-Luque V, Moreno T, Redondo ESH, de Las Mulas JM, Pérez J. Liver pathology and immune response in experimental *Fasciola hepatica* infections of goats. *Veterinary Parasitology*. 1999;82(1):19–33.
4. Dalton JP, Mulcahy G. Parasite vaccines: a reality? *Veterinary Parasitology*. 2001;98(1–3):149–67.
5. Rojas J. Resistencia de *Fasciola hepatica* al Triclabendazol en Bovinos de la Campiña de Cajamarca – Perú 2012. 2012;
6. Ortiz P, Scarcella S, Cerna C, Rosales C, Cabrera M, Guzmán M, et al. Resistance of *Fasciola hepatica* against Triclabendazole in cattle in Cajamarca (Peru): A clinical trial and an in vivo efficacy test in sheep. *Vet Parasitol*. 2013;195(1–2):118–21.
7. Fernández G. Efecto del Amaro (*Chuquiraga weberbaueri*) contra *Fasciola hepatica* en ovinos. [Tesis]. Cajamarca: Universidad Nacional de Cajamarca; 1991.
8. Fernández N, Torrel S. Efecto del Amaro (*Chuquiraga weberbaueri*) contra *Fasciola hepatica* en Vacunos. [Tesis]. Cajamarca: Universidad Nacional de Cajamarca; 1998.
9. Abanto M. Validación del Amaro como Fasciolicida en cuyes (*Cavia porcellus*). [Tesis]. Cajamarca: Universidad Nacional de Cajamarca; 2001.
10. Mendoza J. Primer encuentro taller de granjeros en la crianza del cuy (*Cavia porcellus*). En: Sanidad en Cuyes. Cajamarca; 1986.

11. Kassai T. Helminología veterinaria. Acribia; 2002. (Ciencias veterinarias). Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=vISIPQAACAAJ>
12. Gil LC, Díaz A, Rueda C, Martínez C, Castillo D, Apt W. Fascioliasis hepática humana: resistencia al tratamiento con triclabendazol. Rev Med Chil.;142(10):1330–3. doi:10.4067/S0034-98872014001000014
13. Rojas J. Resistencia de *Fasciola hepatica* al triclabendazol en bovinos de Cajamarca. Perú. Universidad Nacional de Cajamarca. 2012.
14. Alpizar C, Olivera J, Jimenez A, Hernández J, Romero J. *Fasciola hepatica* en ganado bovino de carne en Siquirres y lesiones anatómo-histopatológicas de hígados bovinos decomisados en mataderos de Costa Rica. Agronomía Costarricense. 2013;37(2):7–16.
15. Rojas J, Palomino G, Terán J. Diagnóstico de Resistencia Antihelmíntica de *Fasciola hepatica* a los antiparasitarios de uso más común en bovinos de cuatro distritos de Cajamarca, Perú. Sitio Argentino de Producción Animal. 2013.
16. Chávez V A, Sánchez R L, Arana D C, Suárez A F. Resistencia a antihelmínticos y prevalencia de fasciolosis bovina en la ganadería lechera de Jauja, Perú. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. 2012; 23(1):90–7.
17. Deleveau P. Secretos y virtudes de las plantas medicinales. 2da ed. Madrid: Selecciones del Reader's Digest; 1980.
18. Booth N. Farmacología y terapéutica veterinaria. 1988a ed. Vol. 1. España: Editorial Acribia;
19. Delgado H. Los recursos curativos vegetales en la Medicina Tradicional (Visión Antropológica sobre los Recursos Vegetales en el Perú. Revista de Humanidades de la Facultad de Humanidades. 2000;2.
20. Ringuet J, Viña S. Productos Naturales Vegetales Libros de Cátedra. 1a ed. La Plata: Editorial de la Universidad de La Plata; 2013.
21. Landa A, Casado R, Calvo MI. Identification and Quantification of Flavonoids from *Chuquiraga spinosa* (Asteraceae). 2009;4(10):1353–5.
22. Ferraro F, Merlino A, dell'Oca N, Gil J, Tort JF, Gonzalez M, et al. Identification of

- Chalcones as *Fasciola hepatica* Cathepsin L Inhibitors Using a Comprehensive Experimental and Computational Approach. PLoS Negl Trop Dis. 2016;10(7):e0004834.
23. Hind N. An Annotated Preliminary Checklist Of The Compositae Of Bolivia. Royal Botanic Gardens. 2001;705–10.
  24. Urtubey E. A revision of genus *Barnadesia* (Asteraceae: Barnadesioideae, Barnadesieae). Annals of the Missouri Botanical Garden. 1999;86(1):57–117. doi:10.2307/2666218
  25. Alva AS, Sagastegui Alva A, Sánchez Vega I. Una nueva especie de *Chuquiraga* (Asteraceae-Mutisieae) del norte del Perú. Araldoa : revista del Herbario HAO [Internet]. 1991 [citado el 1 de septiembre de 2022];1:1–4.
  26. Goteborg S. Flora of Ecuador. Göteborg,: Dept. of Systematic Botany, University of Göteborg, Section for Botany, Riksmuseum.; 1976.
  27. Ezcurra C. Revisión del Genero *Chuquiraga* (*Compositae: Mutisieae*). Darwiniana;26:219–84.
  28. Brack Egg Antonio. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú. 1999;550.
  29. Rutter RA. Catálogo de plantas útiles de la Amazonía peruana. Ministerio de Cultura. 1990;
  30. de Fed V. Medicinal and magical plants in the northern Peruvian Andes.
  31. Senatore F, Feo V de. Composition of the essential oil of *santolina neapolitana* Jordan et Fourr. Flavour Fragr J. 1994;9(2):77–9. doi:10.1002/FFJ.2730090208
  32. Mabry TJ, Markham KR, Thomas MB. The Systematic Identification of Flavonoids. The Systematic Identification of Flavonoids. 1970; doi:10.1007/978-3-642-88458-0
  33. Casado R, Landa A, Calvo J, García-Mina JM, Marston A, Hostettmann K, et al. Anti-inflammatory, antioxidant and antifungal activity of *Chuquiraga spinosa*. Pharm Biol. 2011;49(6):620–6. doi:10.3109/13880209.2011.577436
  34. Harborne J. The Flavonoids. Harborne J, editor. Vol. 1, The Flavonoids. New York: Springer New York, NY; 1988. doi:10.1007/978-1-4899-2913-6
  35. Mendiondo ME, Juárez BE, Seeligmann P. Flavonoid patterns of some Barnadesioideae (Asteraceae). Eventual chemosystematic significance. Vol. 25, Biochemical Systematics

- and Ecology. Elsevier Ltd; 1997. 673–674 p. doi:10.1016/S0305-1978(97)00060-4
36. Carriço C, Pinto ZT, Dutok CMS, Caetano RL, Pessanha RR, Chil-Nuñez I, et al. Biological activity of *Pouteria sapota* leaf extract on post-embryonic development of blowfly *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) (Calliphoridae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2014;24(3):304–8. doi:10.1016/J.BJP.2014.07.007
  37. Silva CAM, Simeoni LA, Silveira D. Genus *Pouteria*: chemistry and biological activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia* [Internet]. 2009 [citado el 1 de septiembre de 2022];19(2 A):501–9. doi:10.1590/S0102-695X2009000300025
  38. Clery D, Torgerson P, Mulcahy G. Immune responses of chronically infected adult cattle to *Fasciola hepatica*. *Veterinary Parasitology*. 1996;62(1–2):71–82.
  39. Mendiondo ME, Juárez BE, Zampini C, Isla MI, Ordoñez R. Bioactivities of Chuquiraga *Straminea* Sandwith: <https://doi.org/10.1177/1934578X1100600710>. 2011;6(7):965–8.
  40. Kerboeuf D, Riou M, Guegnard F. Flavonoids and related compounds in parasitic disease control. *Mini Rev Med Chem* . 2008;8(2):116–28. doi:10.2174/138955708783498168
  41. Kassai T, Sánchez Acedo C. *Helmintología Veterinaria*. España: Acribia; 2002. 1–296 p.
  42. Mas-Coma S, Bargues MD. Human Liver Flukes : a Review. *Research and Reviews in Parasitology*. 1997;57(3–4):145–218.
  43. Marcos LA, Terashima A, Leguia G, Canales M, Espinoza JR, Gotuzzo E. La infección por *Fasciola hepática* en el Perú: una enfermedad emergente. *Revista de Gastroenterología del Perú* . 2007 ;27(4):389–96.
  44. Quiroz H. *Parasitología*. 1990. p. 876.
  45. Kadhim JK. Hematological changes During The Course Of Experimental Infection With *Fasciola Gigantica* In Sheep A2 - SOULSBY, E.J.L. BT - Pathophysiology of Parasitic Infection. En Academic Press; 1976. p. 105–14.
  46. Conboy GA, Stromberg BE. Hematology and clinical pathology of experimental *Fascioloides magna* infection in cattle and guinea pigs. *Vet Parasitol*. 1991;40(3–4):241–55. doi:10.1016/0304-4017(91)90104-4
  47. Thorpe E. The pathology of experimental fascioliasis in the albino rat. *J Comp Pathol*

- [Internet]. 1965;75(1):39-IN7. doi:http://dx.doi.org/10.1016/0021-9975(65)90046-0
48. Martínez-Pérez JM, Robles-Pérez D, Benavides J, Morán L, Andrés S, Giráldez FJ, et al. Effect of dietary supplementation with flaxseed oil or vitamin E on sheep experimentally infected with *Fasciola hepatica*. *Res Veterinary Science*. 2014;97(1):71–9. doi:10.1016/j.rvsc.2014.05.009
  49. Aitken MM, Jones PW, Hall GA, Hughes DL, Collis KA. Effects of experimental *Salmonella dublin* infection in cattle given *Fasciola hepatica* thirteen weeks previously. *J Comp Pathology*. 1978;88(1):75–84. doi:http://dx.doi.org/10.1016/0021-9975(78)90063-4
  50. Zhang WY, Moreau E, Hope JC, Howard CJ, Huang WY, Chauvin A. *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica*: Comparison of cellular response to experimental infection in sheep. *Exp Parasitol*. 2005;111(3):154–9. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.exppara.2005.06.005
  51. Cruzreyes A, Malek EA. Suitability of 6 Lymnaeid Snails for Infection with *Fasciola Hepatica*. *Vet Parasitol*. 1987;24(3–4):203–10.
  52. Rice-Ficht AC, Dusek KA, John Kochevar G, Herbert Waite J. Eggshell precursor proteins of *Fasciola hepatica*, I. Structure and expression of vitelline protein B. *Mol Biochem Parasitol* [Internet]. 1992;54(2):129–41. doi:http://dx.doi.org/10.1016/0166-6851(92)90106-T
  53. Rainsford KD. The chemistry of egg-shell formation in *Fasciola hepatica*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*. 1972;43(4):983–9. doi:http://dx.doi.org/10.1016/0305-0491(72)90242-8
  54. Dar Y, Rondelaud D, Vignoles P, Dreyfuss G. *Fasciola hepatica*: Development of redial generations in experimental infections of *Pseudosuccinea columella*. *Parasitol Res*. 2014;113(7):2467–73. doi:10.1007/s00436-014-3893-x
  55. Vignoles P, Dreyfuss G, Rondelaud D. Redial growth and cercarial productivity of *Fasciola hepatica* in three species of young lymnaeid snails. *J Helminthol*. 2002;76(3):269–72. doi:10.1079/JOH2002118

56. Cruz-Mendoza I, Quiroz-Romero H, Correa D, Gómez-Espinoza G. Transmission dynamics of *Fasciola hepatica* in the Plateau Region of Mexico. Effect of weather and treatment of mammals under current farm management. *Veterinary Parasitology*. 2011;175(1–2):73–9. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.09.034
57. Dalton JP. Fasciolosis [Internet]. CABI Pub.; 1999. (CABI Publishing Series). Disponible en: [https://books.google.com.pe/books?id=YQ1\\_QgAACAAJ](https://books.google.com.pe/books?id=YQ1_QgAACAAJ)
58. Gil Gil F, Cervero Jiménez M, Torres Perea R, Jusdado Ruiz-Capillas JJ. Fasciolosis hepatobiliar sin eosinofilia. *Rev Clin Esp* . 2006;206(9):464. doi:http://dx.doi.org/10.1157/13093479
59. The biology of the fasciola hepatica L. *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*. 1920;33(0):221–4. doi:http://dx.doi.org/10.1016/S0368-1742(20)80036-8
60. Dalton JP, Robinson MW, Mulcahy G, O'Neill SM, Donnelly S. Immunomodulatory molecules of *Fasciola hepatica*: Candidates for both vaccine and immunotherapeutic development. *Veterinary Parasitology*. 2013;195(3–4):272–85
61. Cordova M, Reategui L, Espinoza JR. Immunodiagnosis of human fascioliasis with *Fasciola hepatica* cysteine proteinases. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1999;93(1):54–7.
62. O'Neill SM, Parkinson M, Strauss W, Angles R, Dalton JP. Immunodiagnosis of *Fasciola hepatica* infection (fascioliasis) in a human population in the Bolivian Altiplano using purified cathepsin L cysteine proteinase. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 1998;58(4):417–23.
63. Lumbreras H, Cantella R, Burga R. Acerca de un procedimiento de sedimentación rápida para investigar huevos de *Fasciola hepatica* en las heces, su evaluación y uso en el campo. *Revista Médica del Perú*. 1962;(31):167–74.
64. Rojas J, Torrel T, Raico M. Validación de la Técnica de Sedimentación Natural Modificada por Rojas y Torrel en el Diagnóstico de Fasciolosis Crónica en Bovinos, Cajamarca – Perú – Perulactea 2015.
65. González LC, Esteban JG, Bargues MD, Valero MA, Ortiz P, Náquira C, et al. Hyperendemic human fascioliasis in Andean valleys: An altitudinal transect analysis in

- children of Cajamarca province, Peru. *Acta Tropica*. 2011;120(1–2):119–29.
66. Duménigo BE, Espino AM, Finlay CM. Detection of *Fasciola hepatica* antigen in cattle faeces by a monoclonal antibody-based sandwich immunoassay. *Res Veterinary Science*. 1996;60(3):278–9.
  67. Jefferies JR, Barrett J, Turner RJ. Immunomodulation of sheep and human lymphocytes by *Fasciola hepatica* excretory-secretory products. *International Journal of Parasitology*. 1996;26(10):1119–21.
  68. Pardo J, Luis Pérez-Arellano J, Galindo I, Belhassen M, Cordero M, Muro A. Diagnóstico de helmintiasis importadas. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2007;25(5):329–35.
  69. Esteban JG, Bargues MD, Mas-Coma S. Geographical distribution, diagnosis and treatment of human fascioliasis: a review. *Research and Reviews in Parasitology*. 1998;58(1):13–42.
  70. Hanna REB, Forster FI, Brennan GP, Fairweather I. *Fasciola hepatica*: Histological demonstration of apoptosis in the reproductive organs of flukes of triclabendazole-sensitive and triclabendazole-resistant isolates, and in field-derived flukes from triclabendazole-treated hosts, using *in situ* hybridisation. *Veterinary Parasitology*. 2013;191(3–4):240–51.
  71. Apt W, Aguilera X, Vega F, Miranda C, Zulantay I, Perez C, et al. Treatment of human chronic fascioliasis with triclabendazole: Drug efficacy and serologic response. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 1995;52(6):532–5. doi:10.4269/ajtmh.1995.52.532
  72. Talaie H, Emami H, Yadegarinia D, Nava-Ocampo AA, Massoud J, Azmoudeh M, et al. Randomized trial of a single, double and triple dose of 10 mg/kg of a human formulation of triclabendazole in patients with fascioliasis. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2004;31(11):777–82. doi:10.1111/j.1440-1681.2004.04093.x
  73. Devine C, Brennan GP, Lanusse CE, Alvarez LI, Trudgett A, Hoey E, et al. Potentiation of triclabendazole action *in vivo* against a triclabendazole-resistant isolate of *Fasciola hepatica* following its co-administration with the metabolic inhibitor, ketoconazole. *Vet*

Parasitol [Internet]. 2012;184(1):37–47.

doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.08.006>

74. Wood IB, Amaral NK, Bairden K, Duncan JL, Kassai T, Malone Jr. JB, et al. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). *Vet Parasitol* [Internet]. 1995;58(3):181–213. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0304-4017\(95\)00806-2](http://dx.doi.org/10.1016/0304-4017(95)00806-2)
75. Chavez A, Sanchez L, Arana C, Suarez F. Resistance to anthelmintics and prevalence of bovine fasciolosis in dairy farms in Jauja, Peru. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru*. 2012;23(1):90–7.

## ANEXO 1

### 1. Cálculo del porcentaje de eficacia del Amaro en terneros infectados artificialmente mediante el test de reducción del conteo de huevos (TRCH):

Fórmula de Eficacia por Ueno y Concalves 1998.

$$\%E = \frac{C}{A} \times 10$$

$$C=A - B$$

A: Es el número de huevos encontrados en el grupo control

B: Es el número de huevos encontrados día 8, 16, 24 y 32 pos dosificación.

### 2. Recuento de huevos del Grupo A (Grupo Control), estos animales no recibieron tratamiento.

Grupo	ID	N° huevos día (0)	Conteo de huevos pos tratamiento con intervalos de 8 días:			
			8 días	16 días	24 días	32 días
Amaro	1	13	12	9	7	9
	4	9	11	9	7	9
	6	8	8	7	5	8
	8 (anaranjado)	6	6	8	6	8
Suma		36	37	33	25	34
Promedio		9	9.25	8.25	6.25	8.5

## ANEXO 2

### 1.-Fotografías que muestran el trabajo realizado.



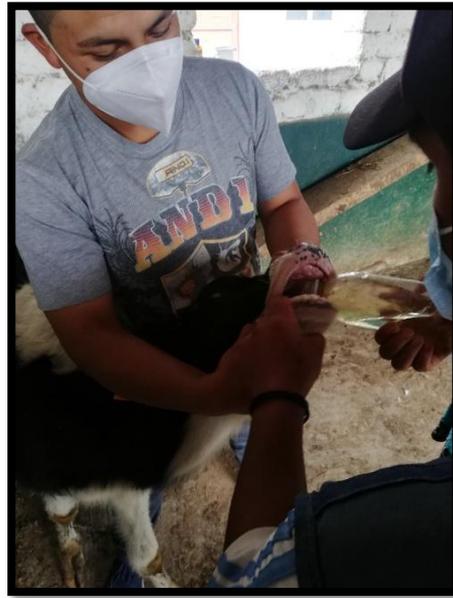
Amaro (*Chuquiraga werberbaueri*) en su habitat natural, distrito de La Encañada, provincia Cajamarca, Perú



Colocación de aretes en la oreja para identificación de grupos



Toma de muestra de heces para detección de huevos de *Fasciola hepatica*.



Administrando cápsulas con Amaro (*Chuquiraga weberbaurei*) y luego agua para su completa deglución



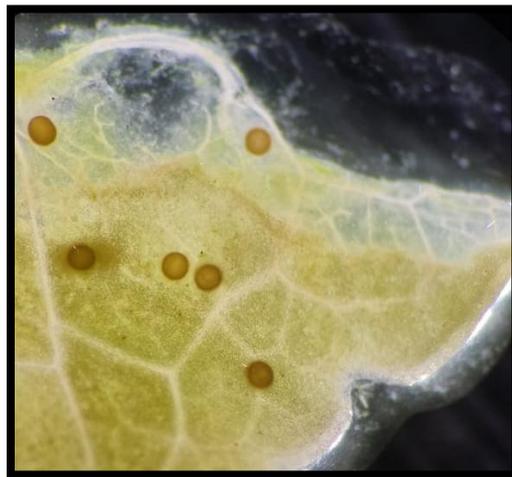
Alimento seco, heno de alfalfa, para ser dado a terneros. En un inicio se los alimentó hasta los tres meses solo con leche.



Establo en el que permanecieron los terneros, en la esquina inferior derecha se aprecia fuente de agua.



Camas de paja para que puedan descansar los terneros.



Metacercarias enquistadas en lechuga. Cultivo de caracoles laboratorio de Inmunología e Investigación Universidad Nacional de Cajamarca. Foto; Cortesía del M.V. Cristian Angel Hobán Vergara, enero del 2020

### ANEXO 3

#### Resumen gráfico de la metodología de la investigación.

