



# Determinación de los residuos de triclabendazol en leche de vacas procedentes de dos centros de crianza de ganado destinadas a la producción de derivados lácteos en el departamento de Cajamarca.

Determination of triclabendazole residues in cow milk from two cattle rearing centers dedicated to the production of dairy products in the department of Cajamarca.

María Huamán <sup>1,a</sup>, León Villegas<sup>2,3</sup>, Marco Canales <sup>4</sup>, Angélica Terashima <sup>4,5,b</sup>

## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia y concentración de residuos de triclabendazol (TCBZ) en leche cruda procedentes de dos centros ganaderos de productos lácteos en Cajamarca, Perú. Se realizaron técnicas de sedimentación rápida (TSR) y Kato-Katz para detectar y cuantificar huevos de *Fasciola hepatica* a partir de muestras de heces y la detección y cuantificación de Triclabendazol TCBZ, sulfóxido de triclabendazol (TCBZSO) y sulfona de triclabendazol (TCBZSO<sub>2</sub>) se realizó mediante Cromatografía Líquida de Alta Performance con detector de Arreglo de Diodos (HPLC-DAD) a partir de muestras de leche. Se encontraron huevos de *Fasciola hepatica* en muestras de heces de vaca tratadas con TCBZ solo de uno de los centros. Tras un tiempo de retiro de 20 días, se detectaron TCBZSO y TCBZSO<sub>2</sub> en la leche a una concentración mínima de 0,006 ug/mL y 0,015 ug/mL, respectivamente. No se encontró TCBZ en el mismo tiempo de retiro. Tanto la dosis única de TCBZ como la basada en la experiencia del criador (criterio personal arbitrario) fueron ineficaces para el tratamiento y control de la fasciolosis entre el ganado infectado dentro de este estudio. En este sentido, la autoridad sanitaria nacional debe establecer un tiempo de retiro y un límite máximo de residuos para garantizar la inocuidad de los productos lácteos y descartar la probabilidad de asociación con la resistencia a TCBZ en humanos.

PALABRAS CLAVE: Triclabendazol, triclabendazol sulfóxido, triclabendazol sulfona, leche.

## SUMMARY

The objective was to determine the presence and concentration of triclabendazole (TCBZ) residues in raw cow milk from two cattle rearing centers dedicated to the production of dairy products in Cajamarca, Peru. The Rapid Sedimentation Technique (RST) and Kato-Katz technique were employed to detect and quantify the presence

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú.

<sup>2</sup> Sección Ciencias Farmacéuticas, Departamento de Ciencias Celulares y Moleculares, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú.

<sup>3</sup> Servicio de Control de Calidad, Laboratorios de Investigación y Desarrollo, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú

<sup>4</sup> Laboratorio de Parasitología, Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt, Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú.

<sup>5</sup> Departamento de Enfermedades Infecciosas, Tropicales y Dermatológicas, Hospital Nacional Cayetano Heredia. Lima, Perú.

<sup>a</sup> Químico Farmacéutico

<sup>b</sup> Médico Infectólogo

of *Fasciola hepatica* eggs from stool samples and the detection and quantification of Triclabendazole (TCBZ), triclabendazole Sulfoxide (TCBZSO) and Triclabendazole Sulfone (TCBZSO<sub>2</sub>) were quantified by High-Performance Liquid Chromatography with Diode-Array Detection (HPLC-DAD) from milk samples. *Fasciola hepatica* eggs were found in fecal samples from cows treated with TCBA at one of the centers only. After an approximate withdrawal time of 20 days, TCBZSO and TCBZSO<sub>2</sub> were detected in the cow milk at a minimum concentration of 0.006 ug/mL and 0.015 ug/mL, respectively. No TCBZ was found in the same withdrawal time. In this study, both the single dose of TCBZ and the dose based on the breeder's experience (arbitrary personal judgment) were ineffective for the treatment and control of fasciolosis of the infected cattle. In this sense, the national health authority should establish a withdrawal time and a maximum residue limit to guarantee the safety of dairy products and rule out the likelihood of association with TCBZ resistance in humans.

**KEYWORDS:** Triclabendazole, Triclabendazole sulfoxide, Triclabendazole sulfone, milk.

## INTRODUCCIÓN

El Perú es un país hiperendémico de fasciolosis (Chang et al., 2016), enfermedad que afecta especialmente a los bovinos criados por los pequeños productores quienes sufren pérdidas económicas por consecuencia de la disminución de la producción de leche y pérdida de peso de los animales (Pérez et al., 2016). En la ganadería se usa el triclabendazol (TCBZ) para tratar la fasciolosis, siendo este principio activo el mismo que se utiliza en medicina humana para el tratamiento de la fasciolosis, el cual es recomendado por la Organización Mundial de la Salud para uso exclusivo en humanos (Organización Mundial de la Salud (OMS), 2021).

Recientemente se han reportado casos de resistencia de *F. hepatica* frente a TCBZ, tanto en animales como en seres humanos en varios países (Álvarez et al., 2006; Gil et al., 2014; Elliott et al., 2015) y en el Perú, donde por décadas el TCBZ ha sido empleado masivamente en el ganado vacuno y ovino para el tratamiento de fascioliasis (Terashima y Marcos, 2016; Cabada et al., 2016; Marcos et al., 2020; Terashima et al., 2021)

Por otro lado, se sabe que el uso indiscriminado de medicamentos en animales es un problema de salud pública, ya que existe la posibilidad de la ingesta de residuos en los productos y subproductos alimenticios derivados del animal según lo descrito en la Norma Sanitaria 120-MINSA/DIGESA (NTS N° 120-MINSA/2016, 2016). El tiempo de retiro del TCBZ debe ser aproximadamente de 21- 28 días, según las recomendaciones de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA), 2014).

Sin embargo, las indicaciones del fabricante establecen que el TCBZ no debe ser utilizado en animales que producen leche para consumo humano. Esto último debe considerarse antes que la leche sea

tratada para producir derivados lácteos, para así evitar la presencia de residuos de TCBZ y garantizar la inocuidad alimentaria. El límite máximo de residuos (LMR) del TCBZ, propuesto provisionalmente que expiró el 1 de enero del año 2014, era de 10 µg/kg ceto-TCBZ, establecido en el Diario oficial de la Unión Europea (2010).

Una serie de estudios han demostrado que los residuos de TCBZ, se encuentran en productos lácteos de vacas tratadas experimentalmente con TCBZ (Imperiale et al., 2011; Power et al., 2013a; Power et al., 2013b; Cabrera, 2019) y que estos se concentran más en los derivados lácteos que en la leche cruda (Power et al., 2013a; Imperiale et al., 2011). Se reportó que el TCBZSO<sub>2</sub> (metabolito inactivo) es el compuesto de mayor concentración excretado en leche (Imperiale et al., 2011).

No hemos encontrado publicaciones sobre estudios de los efectos farmacológicos del TCBZSO y TCBZSO<sub>2</sub> en humanos, pero sí en animales *in vitro*. Los residuos de TCBZ tienen efecto fetotóxicos en ratas y conejos (Hurt et al., 2003). El TCBZ, TCBZSO y TCBZSO<sub>2</sub> son potentes inhibidores *in vitro* e *in vivo* del transportador de membrana ABCG2/BCRP, involucrado en la farmacocinética de medicamentos contra el cáncer, antibióticos y otros (Barrera et al., 2012). Además, estos son capaces de inhibir *in vitro* al citocromo (CYP) P450 y otros CYP, y así afectar en las interacciones fármaco-fármaco (Giri et al., 2018), los cuales podrían ser nocivos para la salud de las personas.

En este contexto, el presente estudio exploratorio tuvo como objetivo determinar la presencia y concentración de residuos de triclabendazol (TCBZ) en leche cruda procedentes de dos centros ganaderos de productos lácteos en Cajamarca, Perú que es el

principal departamento productor de leche y en donde la fasciolosis es hiperendémica y el que muestra mayor índice de resistencia al TCBZ en el Perú (Rojas et al., 2013; Marcos et al., 2020).

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Procedencia y selección de las muestras

Las muestras de heces y leche fueron tomadas de 10 vacas lecheras de dos ganaderías extensivas (identificado como centros de crianza de ganado C1 y C2) ubicados en un centro poblado de Jaén-Cajamarca a 2,623.00 metros sobre el nivel del mar, en el 2021.

Se obtuvieron dos muestras de leche (15-20 mL) de cada vaca (n=20) según las técnicas de ordeño de las ganaderías estudiadas, a las 0 y 24 h. Las muestras se recogieron en envases estériles, se identificaron y trasladados en congelación a Lima en donde se almacenaron a -18 °C hasta la fecha de su análisis.

Luego, del recto se recolectó una muestra de heces de cada vaca (n=10, identificada como V1, V2, V3... V10) en envases de plástico de 75 mL (VITLAB, Alemania). Se realizó la Técnica de Sedimentación Rápida según lo descrito en la Norma Técnica de Salud N°148-Ministerio de Salud (MINSa) (NTS N° 148-MINSa/2019, 2019), y se cuantificaron los huevos de *F. hepatica* mediante la técnica original de Lumbreras *et al.*, 1962. Ello se hizo para encontrar los huevos de *F. hepatica* y elucidar si el tratamiento en dosis única brindado fue efectivo o no.

### Técnica de Sedimentación Rápida

Se usó la técnica original de Lumbreras. Se homogenizaron 4-8 g de heces con 10-20 mL de agua corriente filtrada en un tubo cónico de 50 mL. Luego, se tamizó y vertió la mezcla a un recipiente de 200-300 mL de capacidad. Se completó el volumen con agua corriente y se dejó reposar por 20 minutos para luego desechar 2/3 del sobrenadante, se completó cada 5' con más agua corriente hasta que el sobrenadante quedó limpio. Se observó al microscopio a 100X (Lumbreras *et al.*, 1962).

### Técnica de Kato-Katz

Con una bajalengua se colocó 0,5 g-1 g aproximadamente de heces sobre papel absorbente y encima se colocó una malla de 2 x 3 cm. Con el aplicador del Kit se tamizó la muestra. Seguido, se puso el molde con perforación central de 6 mm de

diámetro sobre una lámina portaobjeto y se llenó con la muestra tamizada. Para finalizar, se sacó el molde y sobre la muestra se colocó una laminilla glicerizada con verde de malaquita y se extendió la muestra, se dejó secar a temperatura ambiente durante 30-45 minutos y se observó al microscopio a 100 X, 400 X. El resultado se expresó en número de huevos por gramo de heces (hph), donde el número de huevos encontrados se multiplicó por k=24. Cuando las heces eran líquidas o pastosas, se usó el factor de corrección que se incluía en el kit: k/2 para heces sueltas o blandas y k/3 para heces diarreicas, según lo descrito en la Norma Técnica de Salud N°148-Ministerio de Salud (MINSa) en el 2019.

### Estandarización del método para detección de TCBZ, TCBZSO y TCBZSO2.

Seguido, se hizo la estandarización del método donde se evaluaron los parámetros de linealidad (método propio), estabilidad (método propio), precisión (Reyna y Giussepe, 2014; Bor *et al.*, 2007), límite de cuantificación (Herrera *et al.*, 2008), límite de detección (Herrera *et al.*, 2008) y recuperación (Bor *et al.*, 2007), para todos los casos se usó los estándares de TCBZ, TCBZSO y TCBZSO2.

Se usó como soluciones madre los estándares de TCBZ (Rakshit Drugs Private Limited), TCBZSO (Sigma-Aldrich, USA) y TCZSO2 (Sigma-Aldrich, USA) a 1 mg/mL. Se usó acetonitrilo como disolvente y a partir de ello se hicieron las diluciones de la mezcla de los estándares a 0,0626 ug/mL, 0,125 ug/mL, 0,25 ug/mL, 0,5 ug/mL, 1 ug/mL y 2 ug/mL. Los gráficos de calibración se obtuvieron midiendo el área de los picos obtenidos.

Se evaluó la estabilidad a temperatura ambiente, para verificar si existe algún cambio en las concentraciones de los estándares de TCBZ, TCBZSO y TCBZSO2 durante el tiempo que estuvieron dentro del sistema HPLC-DAD. Se hizo dos mezclas de los 3 estándares y se realizaron 3 inyecciones a cada mezcla de 1 ug/mL durante los días 1 (concentración al 100%), 2 y 4.

### Preparación de las muestras de leche

Luego de realizar la estandarización del método, se corrió las muestras de leche por el sistema de HPLC-DAD modelo 1260 (Agilent, USA) según la metodología original de Takeba *et al.*, (2000), pero en vez de usar un concentrador al vacío, se evaporó en

un baño a 70 - 75°C con un flujo de nitrógeno en una campana extractora.

### Aspectos éticos

El estudio fue aprobado por el Comité Institucional de Ética para Uso de Animales (CIEA) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (constancia de aprobación 058-08-19 y constancia de renovación R-017-05-21).

### RESULTADOS

Mediante la técnica de TSR se detectó el 50% (5/10) de muestras positivas, todas ellas de la segunda ganadería. Para la técnica de Kato-Katz se usó el factor de corrección  $k=2$ , el 50% (5/10) de las muestras fueron positivas, todas ellas fueron de la segunda ganadería, se halló 12 hpg para las muestras V1C2, V2C2, V4C2 y V5C2, mientras que 24 hpg para la V3C2.

Se halló una relación lineal entre el área y la concentración los estándares de TCBZ ( $R^2=0,9973$ ), TCBZSO ( $R^2=0,9964$ ) y TCBZSO2 ( $R^2=0,996$ ) (grafico 1). Los estándares eran estables, ya que las concentraciones estuvieron cerca al 100%. Las DSR % (desviación estándar relativa) para las áreas fueron 0,140%, 0,063%, 0,068%, para el TCBZ, TCBZSO Y TCBZSO2, respectivamente. El método fue preciso ya que las DSR% fueron menores al 2%. Los LD (límite de detección) y LC (límite de cuantificación) fueron 0,142 ug/mL y 0,475 ug/mL para el TCBZ; 0,135 ug/mL y 0,450 ug/mL para el TCBZSO; y 0,174 ug/mL y 0,579 para el TCBZSO2. Las recuperaciones obtenidas para TCBZSO2, TCBZSO y TCBZ fueron

97,6 %, 99,1 % y 98,3 %, respectivamente y sus DSR % fueron de 0,3%, 0,2% y 0,3 %, respectivamente.

Por otro lado, en la primera ganadería, las concentraciones promedio de TCBZSO2 a las cero horas fue 0,076 ug/mL (78,791 ug/Kg de leche), y a las 24 horas fue 0,035 ug/mL (36,433 ug/Kg de leche). Todas las concentraciones del TCBZSO estuvieron por debajo del LC, el promedio de estas fueron 0,015 ug/mL (15,074 ug/Kg) a las 0 horas, y a las 24 horas estuvieron por debajo del LD. Las concentraciones del TCBZ estuvieron por debajo del LD (tabla 1).

En la segunda ganadería, a las cero horas las concentraciones promedio de las muestras V1C2, V2C2, V3C2 y V4C2 de TCBZ, TCBZSO y TCBZSO2, fueron 0.268 ug/mL (279,135 ug/Kg de leche), 0,448 ug/mL (466,367 ug/Kg de leche) y 1,128 ug/mL (1 172,591 ug/Kg de leche), respectivamente. A las 24 horas se halló 0,149 ug/mL (154,810 ug/Kg de leche), 0,272 ug/mL (282,746 ug/Kg de leche) y 0,756 ug/mL (785,759 ug/Kg de leche), respectivamente (tabla 2).

Las concentraciones promedio de la muestra V5C2 (tiempo de retiro de 2 días) del TCBZ, TCBZSO y TCBZSO2 a las 0 horas fueron 0,846 ug/mL (879,464 ug/Kg de leche), 1,268 ug/mL (1 318,854 ug/Kg de leche), 2,070 ug/mL (2 152,683 ug/Kg de leche), respectivamente. A 24 horas las concentraciones de la muestra V5C2 de TCBZ, TCBZSO y TCBZSO2 fueron 0,275 ug/mL (285,817 ug/Kg de leche), 0,599 ug/mL (623,016 ug/Kg de leche) y 1,839 ug/mL (1 911,160 ug/Kg de leche), respectivamente (tabla 3).

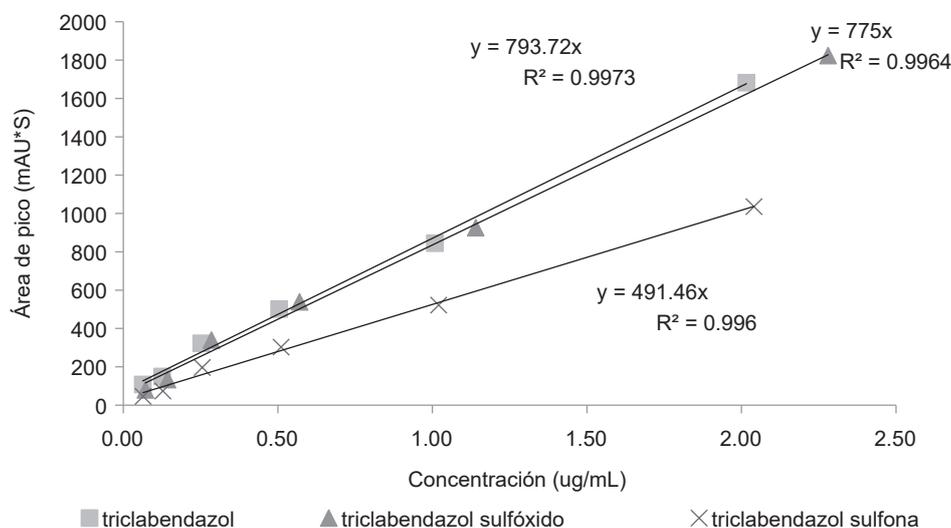


Gráfico 1. Curva de calibración para los estándares de TCBZ, TCBZSO, TCBZSO2

**Tabla 1.**

Concentraciones de los residuos de TCBZ, TCBZSO y TCBZSO2 en muestras de leche tras un tiempo de retiro aproximado de 20 días en el centro de crianza de ganado I. Cajamarca – Perú, 2020.

Compuesto	Momento de muestreo (horas)	Muestras positivas (%)	Concentración promedio		Rango	
			(ug/mL)	(ug/Kg de leche)	(ug/mL)	(ug/Kg de leche)
TCBZ	0	0	-	-	-	-
	24	0	-	-	-	-
TCBZSO	0	40	0,015	15,074	0,006 – 0,023	6,531 – 23,618
	24	0	-	-	-	-
TCBZSO2	0	80	0,076	78,791	0,016 – 0,157	16,929 – 163,084
	24	80	0,035	36,433	0,015 – 0,085	15,942 – 87,891

**Tabla 2.**

Concentraciones de los residuos de TCBZ, TCBZSO y TCBZSO2 en muestras de leche (excepto la muestra V5C2) tras un tiempo de retiro aproximado de 7 días en el centro de crianza de ganado II. Cajamarca – Perú, 2020.

Compuesto	Momento de muestreo (horas)	Muestras positivas (%)	Concentración promedio		Rango	
			(ug/mL)	(ug/Kg de leche)	(ug/mL)	(ug/Kg de leche)
TCBZ	0	100	0,268	279,135	0,196 – 0,367	203,269 – 382,079
	24	100	0,149	154,810	0,111 – 0,262	115,219 – 271,928
TCBZSO	0	100	0,448	466,367	0,339 – 0,575	352,840 – 598,145
	24	100	0,272	282,746	0,168 – 0,330	175,167 – 342,909
TCBZSO2	0	100	1,128	1172,591	0,847 – 1,275	880,880 – 1325,976
	24	100	0,756	785,760	0,379 – 0,991	393,744- 1030,139

**Tabla 3.**

Concentraciones promedio de los residuos de TCBZ, TCBZSO y TCBZSO2 en la muestra V5C2 de leche del centro de crianza de ganado II. Cajamarca – Perú, 2020.

Compuesto	Tiempo	ug/mL	ug/Kg de leche
TCBZ	0	0,846	879,464
	24	0,275	285,817
TCBZSO	0	1,268	1318,854
	24	0,599	623,016
TCBZSO2	0	2,070	2152,683
	24	1,839	1,911,160

## DISCUSIÓN

En la primera ganadería no se detectaron huevos de *F. hepatica* mediante las técnicas de TSR y Kato-Katz en las cinco muestras de vaca. Lo antedicho puede deberse a varios factores, como la baja sensibilidad de la técnica de Kato-Katz, o que efectivamente los animales fueran negativos. Ello al contrastar con los resultados de la técnica de TSR que es considerada la mejor técnica coprológica para la detección de

fasciolosis (Flores, et al., 2022) y que tuviera también resultados negativos. Otros factores que pueden afectar la detección de huevos es la etapa de la infección como es la prepatencia (Li, et al., 2005) y las vesículas como barrera para la eliminación de huevos, por lo que el recuento de huevos no establece con certeza la concentración de parásitos (Fiel, et al., 2011).

En la segunda ganadería se pudo detectar y cuantificar huevos de *F. hepatica* en las cinco muestras.

Estos resultados podrían significar que el TCBZ en dosis única y aplicado en base a la experiencia del tratante (dosis administrada a criterio personal y arbitrario del ganadero) no fue eficaz para el tratamiento o existía una posible resistencia al TCBZ en las vacas que estaban infectadas con *F. hepática*, probablemente debido al uso irracional, subdosificación, reinfección y falta de alternativa terapéutica al TCBZ a lo largo de varios años (Chávez et al., 2012; Rojas et al., 2013; Marcos et al., 2020).

Lo mencionado guarda relación con un estudio realizado en un fundo de Cajamarca, donde se encontró que el TCBZ tenía una insuficiente eficacia en el control de *F. hepática* de la zona (Moncada, 2007). Es preciso destacar que no es recomendable el uso de dosis única de TCBZ para el tratamiento de *F. hepática* en humanos, por lo que se recomienda dos dosis de TCBZ por lo menos en Perú, donde durante el 2003 al 2013 la eficacia de dosis única de 10 mg/kg de TCBZ en humanos cayó del 100% al 8.3% (Terashima y Marcos, 2016). Se requiere más estudios para evaluar nuevas estrategias terapéuticas y nuevos fármacos para el tratamiento de la fasciolosis animal y humana.

En la muestra V5C2 de leche cruda, cuyo tiempo de retiro fue de 2 días, se halló la mayor concentración de residuos de TCBZ, seguido de las muestras cuyo tiempo de retiro fueron a los 7 y 20 días respectivamente. En todas las muestras de ambas ganaderías se encontró mayor concentración del TCBZSO<sub>2</sub> comparado con el TCBZSO y TCBZ. A un tiempo de retiro de 7 días se halló una concentración máxima de 382.079 ug/kg de TCBZ, esto es acorde con lo publicado por Power et al., (2013b), quienes, hasta un tiempo de retiro de 5,5 días hallaron 244 ug/Kg de TCBZ. Lo mencionado puede deberse a que el TCBZ es rápidamente metabolizado en el hígado a TCBZSO y finalmente a TCBZSO<sub>2</sub>. Pese a no encontrar en la literatura estudios farmacocinéticos de eliminación en leche, es posible que el TCBZSO<sub>2</sub> se elimine en mayor tiempo, pese a la diferencia de metabolismo y patologías de cada individuo; además el TCBZSO<sub>2</sub> es el único metabolito del TCBZ capaz de detectarse incluso en tejidos (Palma, et al., 2006).

Por otro lado, a un tiempo de retiro aproximado de 20 días la máxima concentración del TCBZSO<sub>2</sub> fue 163,084 ug/Kg. Los hallazgos del estudio fueron congruentes con lo publicado por Power et al., (2013a), quienes concluyeron que el TCBZSO<sub>2</sub> fue el residuo más importante y de mayor concentración (1.710 ug/Kg)

en leche incluso hasta 20 días; el cual discrepa en 10,5 veces de la concentración máxima hallada en nuestro estudio, posiblemente porque las muestras del presente estudio fueron recolectadas de acuerdo con la realidad ganadera donde administraron el TCBZ a criterio personal arbitrario del ganadero.

Además, a un tiempo de retiro de 20 días se encontró como mínimo 0,006 ug/mL y 0,015 ug/mL de TCBZSO y TCBZSO<sub>2</sub>, respectivamente, estas concentraciones son superiores al LMR provisional que ya expiró. A este tiempo de retiro no se detectó el TCBZ quizás porque su total eliminación es a los 10 días de la administración, según lo descrito por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (2016).

Es importante mencionar que en las contraindicaciones de los medicamentos veterinarios del TCBZ se refiere, a que no se debe administrar en animales productores de leche para el consumo humano, esta indicación es ambigua y no se adecua a la realidad de Cajamarca, productor líder de leche, donde *F. hepática* es hiperendémico y donde por muchos años se usa el TCBZ de manera no controlada en los rumiantes (Rojas et al., 2013; Marcos et al., 2020). Por eso, la autoridad sanitaria competente debe establecer el tiempo de retiro de los residuos del TCBZ en las vacas lecheras, y no solo limitar o prohibir su uso como lo menciona en la Guía de Buenas Prácticas de Explotación Lechera (Servicio de Sanidad Agraria del Perú (SENASA), 2020a).

Hasta la fecha, no hay estudios que demuestren la resistencia parasitaria en humanos causada por la ingesta de residuos de medicamentos veterinarios a través de la leche u otros alimentos, pero sí en antimicrobianos (Okocha et al., 2018; Salas et al., 2013). Sin embargo, se infiere que existe la posibilidad que los residuos de TCBZ puedan causar resistencia en humanos, debido a la exposición continua al medicamento en bajas dosis causadas por el consumo involuntario de dichos residuos presentes en la leche. Se requiere mayor evidencia científica para ratificar esta conjetura.

La Norma Sanitaria 120-MINSA/DIGESA (2016) vigente no contempla el LMR para los residuos de TCBZ en leche y sus derivados. Esto es preocupante ya que los residuos del TCBZ pudieron ser detectados y cuantificados en las muestras de leche cruda como muestran los resultados del estudio; estos incluso se concentran más en los derivados lácteos como

plantean otros estudios (Imperiale et al., 2011; Power et al., 2013a; Reyna y Giussepe, 2014; Cabrera, 2019).

La falta y/o poco control por parte de la autoridad sanitaria competente, explica la presencia del TCBZ y sus metabolitos (TCBZSO y TCBZSO<sub>2</sub>) en las muestras de leche cruda analizadas en el presente estudio. Esto podría deberse a que el Programa Nacional de Monitoreo de Contaminantes en Alimentos agropecuarios primarios y piensos (SENASA, 2020b) considera solo a 10 ciudades de gran abasto, pero no incluye a los pequeños proveedores de leche cruda, alejadas de la ciudad de Cajamarca o ubicados en centros poblados donde las condiciones climáticas favorecen la replicación de los hospederos de *F. hepatica* y donde se comercializan una variedad de marcas del TCBZ que son usados de manera no controlada.

## CONCLUSIONES

Se determinó los residuos de TCBZ hasta un tiempo de retiro de 20 días, por ello se necesitan nuevos regímenes de control por parte de la autoridad sanitaria competente, ya que no existe un tiempo de retiro y un límite máximo de residuos (LMR) vigente para el TCBZ, que garanticen la inocuidad de los lácteos para consumo humano. Se propone que el tiempo de retiro en leche sea superior a los 20 días, como lo indica la Agencia Europea de Medicamentos, lo cual no está en el envase primario del producto de los fabricantes de TCBZ para ganado comercializados en Perú.

*Fuentes de financiamiento:* El trabajo fue financiado por el Laboratorio de Parasitología del IMT AvH como estímulo a la titulación de pregrado promovido en la Universidad Peruana Cayetano Heredia y el Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt.

## Correspondencia

Maria Cristina Huaman Tito

Correo electrónico: maria.huaman.t@upch.pe

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. (2016). *Ficha técnica (Resumen de características del producto)- Fasinex 100mg/mL Bovino*. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios [https://cimavet.aemps.es/cimavet/pdfs/es/ft/227+ESP/FT\\_227+ESP.pdf](https://cimavet.aemps.es/cimavet/pdfs/es/ft/227+ESP/FT_227+ESP.pdf)
2. Álvarez, S., Mainar, J., Pérez, G. & Rojo, V. (2006). Resistance of *Fasciola hepatica* to triclabendazole and albendazole in sheep in Spain. *Veterinary Record*, 159(13), 424–425.
3. Barrera, B., Otero, J., Egido, E., Prieto, J., Seelig, A., Álvarez, A. & Merino, G. (2012). The Anthelmintic Triclabendazole and Its Metabolites Inhibit the Membrane Transporter ABCG2/BCRP. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(7), 3535–3543. <https://doi.org/10.1128/AAC.06345-11>
4. Bor, M., Guilarte, A., Guzmán, L., Macías, K. & Mendoza, W. (2018). Validación de un método por RP-HPLC para la determinación de Tiocolchicósido en tabletas. *Afinidad*, 75(581), 32-38.
5. Cabada, M.M., Lopez, M., Cruz, M., Delgado, J.R., Hill, V. & White, A.C. (2016). Treatment Failure after Multiple Courses of Triclabendazole among Patients with Fascioliasis in Cusco, Peru: A Case Series. *PLoS Negl Trop Dis*, 10(1), e0004361.
6. Cabrera, M. (2019). Determinación de niveles de metabolito de triclabendazol y albendazol en leche y sus potenciales efectos inmunotóxicos por exposición crónica en ovinos. [Tesis doctoral]. Universidad Nacional de Cajamarca.
7. Fiel, C., Stefan, P. & Ferreyra D. (2011). *Diagnóstico de las parasitosis más frecuentes de los rumiantes: técnicas de laboratorio e interpretación de resultados*. Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnostico. <https://www.aavld.org.ar/publicaciones/Manual%20Diagnostico%20final.pdf>
8. Chang, M., Pinto, J., Guzman, P., Terashima, A. & Samalvides, F. (2016). Caracterización clínica y epidemiológica de la infección por *Fasciola hepatica* entre los años 2003-2010 en el Hospital Nacional Cayetano Heredia, Lima, Perú. *Rev Gastroenterol Perú*, 36(1), 23-28.
9. Chávez A., Sánchez, L., Arana C. & Suárez, F. (2012). Resistencia a antihelmínticos y prevalencia de fasciolosis bovina en la ganadería lechera de Jauja, Perú. *Rev investig vet Perú*, 23(1), 90-97.
10. European Union. (2010). *Commission Regulation (EU) No 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin (Text with EEA relevance)*. European Union. [https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2010/37\(1\)/oj](https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2010/37(1)/oj)
11. Elliott, T.P., Kelley, J.M., Rawlin, G. & Spithill, T.W. (2015). High prevalence of fasciolosis and evaluation of drug efficacy against *Fasciola hepatica* in dairy cattle in the Maffra and Bairnsdale districts of Gippsland, Victoria, Australia. *Vet Parasitol*, 209, 117-24.
12. European Medicines Agency. (2014). *European public MRL assessment report (EPMAR)-Triclabendazole (all ruminants milk) – after the provisional maximum residue limit (MRL)*. European Medicines Agency.

- [https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/triclabendazole-all-ruminants-milk-european-public-maximum-residue-limit-assessment-report-epmar\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/triclabendazole-all-ruminants-milk-european-public-maximum-residue-limit-assessment-report-epmar_en.pdf)
13. Giri, P., Gupta, L., Naidu, S., Joshi, V., Patel, N., Giri, S. & Srinivas, N. (2018). In Vitro Drug-Drug Interaction Potential of Sulfoxide and/or Sulfone Metabolites of Albendazole, Triclabendazole, Aldicarb, Methiocarb, Montelukast and Ziprasidone. *Drug Metabolism Letters*, 12(2):101-116. <https://doi.org/10.2174/1872312812666180816164626>
  14. Herrera, V., Ticona, J., Udaeta, E., Chuqui, R. & Giménez, A. (2008). Validación del método analítico para la cuantificación de alcaloides quinolínicos del extracto de Galipea longiflora Krause Kallunki. *BIOFARBO*, 1,47-53.
  15. Hurtt, M.E., Cappon, G.D. & Browning, A. (2003). Proposal for a tiered approach to developmental toxicity testing for veterinary pharmaceutical products for food-producing animals. *Food Chem Toxicol*, 41(5),611-9. [https://doi.org/10.1016/s0278-6915\(02\)00326-5](https://doi.org/10.1016/s0278-6915(02)00326-5).
  16. Imperiale, F., Ortiz, P., Cabrera, M., Farias, C., Sallovitz, J. & Lanusse, C. (2011). Residual concentrations of the flukicidal compound triclabendazole in dairy cows' milk and cheese. *Food Additives & Contaminants*, 28(4), 438-445. <https://doi.org/10.1080/19440049.2010.551422>
  17. Li, O., Leguía, G., Espino, A., Duménigo, B., Díaz, A. & Otero, O.. (2005). Detección de anticuerpos y antígenos para el diagnóstico de *Fasciola hepatica* en alpacas naturalmente infectadas. *Rev Inv Vet Perú*, 16,143-153.
  18. Gil, L., Diaz, A., Rueda, C., Martínez, C. & Douglas, C. (2014). *Fascioliasis hepática* humana: resistencia al tratamiento con triclabendazol. *Rev Med Chile*, 142, 1330-1333.
  19. Lumbreras, H., Cantella, R. & Burga, R. (1962). 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 Peruana*, 31 (332), 167-174.
  20. Marcos, L., Maco, V. & Terashima, A. (2020). Triclabendazole for the treatment of human fascioliasis and the threat of treatment failures. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 19(7), 817-823. <https://doi.org/10.1080/14787210.2021.1858798>
  21. Maco, V., Marcos, L., Terashima, A., Samalvides, F., Miranda, E. & Espinoza, J. (2002). Fas2-ELISA y la técnica de sedimentación rápida modificada por lumbreras en el diagnóstico de la infección por *Fasciola hepatica*. *Rev Med Hered*, 13(2), 49-57
  22. Moncada, J. (2007). *Efectividad y Resistencia Antihelmíntica de Fasciola hepatica a Triclabendazol en el fundo "El Cortijo", distrito Baños del Inca-Cajamarca, Perú-2006*. Universidad Nacional de Cajamarca. <https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/efectividad-resistencia-antihelmintica-fasciola-t27019.htm>
  23. NTS N° 120-MINSA/2016/DIGESA. Norma sanitaria que establece los límites máximos de residuos (LMR) de medicamentos veterinarios en alimentos de consumo humano. Ministerio de Salud. <https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/2014/11/RM-372-2016-MINSA-con-NTS-120-MINSA-DIGESA-v01-LMR-Medicamentos.pdf>
  24. NTS N° 148-MINSA/2019/DGIESP. Norma Técnica de Salud para la Vigilancia, Prevención y Control de la Fasciolosis Humana en el Perú. Resolución Ministerial N°266-2019/MINSA. Ministerio de Salud. [https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/299908/Resoluci%C3%B3n\\_Ministerial\\_N\\_\\_266-2019-MINSA.PDF](https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/299908/Resoluci%C3%B3n_Ministerial_N__266-2019-MINSA.PDF)
  25. Okocha, R.C., Olatoye, I.O. & Adedeji, O.B. (2018). Food safety impacts of antimicrobial use and their residues in aquaculture. *Public health reviews*, 39, 21. <https://doi.org/10.1186/s40985-018-0099-2>
  26. Organización Mundial de la Salud (2021). *Trematodiasis de transmisión alimentaria*. Organización Mundial de la Salud. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/foodborne-trematode-infections>
  27. Palma, C., Godoy, C., Arboix, M. & Pérez, R. (2006). Determinación de residuos de abamectina-triclabendazol en tejidos bovinos. *Archivos de medicina veterinaria*, 38(3), 265-271
  28. Power, C., Danaher, M., Sayers, R., Clancy, C., Jordan, K. & Furey, A. (2013). Investigation of the migration of triclabendazole residues to milk products manufactured from bovine milk, and stability therein, following lactating cow treatment. *ScienceDirect*, 96 (10), 6223-6232. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7016>.
  29. Power, C., Whelan, M., Danaher, M., Bloemhoff, Y., Sayers, R., O'Brien, B. & Jordan, K. (2013). Investigation of the persistence of triclabendazole residues in bovine milk following lactating-cow and dry-cow treatments. *Food Additives & Contaminants*, 30(6), 1080-1086. <https://doi.org/10.1080/19440049.2013.787654>
  30. Reyna, C. & Giussepe, M. (2014). *Determinación de Residuos de triclabendazol en leche fresca y queso mantecoso que se destina a consumo humano mediante HPLC en el Distrito de Cajamarca, Perú - 2013*. [Tesis doctoral]. Universidad Nacional de Cajamarca.
  31. Rojas, M., Palomino, L., Calderón, S. & Terán, J. (2013). *Diagnóstico de resistencia antihelmíntica de Fasciola hepática a los antiparasitarios de uso más común en bovinos de cuatro distritos de Cajamarca, Perú*. Sitio Argentino de Producción Animal. [https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad\\_](https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_)

- intoxicaciones\_metalicos/parasitarias/parasitarias\_bovinos/74-Resistencia\_Antihelmintica\_de\_Fasciola.pdf
32. Salas, P., Calle, S., Falcón, N., Pinto, C. & Espinoza, J. (2013). Determinación de residuos de antibióticos betalactámicos mediante un ensayo inmunoenzimático en leche de vacas tratadas contra mastitis. *Rev Inv Vet Perú*, 24(2), 252-254.
  33. Servicio Nacional de Sanidad Agraria del Perú. (2020). *Plan Anual de Monitoreo de Residuos Químicos y otros Contaminantes en alimentos agropecuarios primarios y piensos para el año 2020*. Servicio Nacional de Sanidad Agraria del Perú. <https://www.gob.pe/institucion/senasa/informes-publicaciones/1456659-plan-anual-de-monitoreo-de-residuos-quimicos-y-otros-contaminantes-en-alimentos-agropecuarios-primarios-y-piensos-para-el-ano-2020>.
  34. Servicio Nacional de Sanidad Agraria del Perú. (2020). *Guía de Buenas Prácticas en Explotación Lecheras*. Servicio de Sanidad Agraria del Perú. <https://www.gob.pe/institucion/senasa/informes-publicaciones/992144-guiade-buenas-practicas-pecuarias-en-explotacion-de-lechera>
  35. Pérez, M., Giupponi-Cardoso, P., López-Vigoa, O., Sanavria, A., Sánchez-Santana, T. & Labrada-Vázquez, A. (2016). Prevalencia de *Fasciola hepatica* en vacas en pastoreo durante el periodo poco lluvioso. *Pastos y Forrajes*, 39(4), 281-285.
  36. Takeba, K., Fujinuma, K., Sakamoto, M., Miyazaki, T., Oka, H., Itoh, Y. & Nakazawa, H. (2000). Simultaneous determination of triclabendazole and its sulphoxide and sulphone metabolites in bovine milk by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 882(1-2), 99-107. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00054-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00054-6).
  37. Terashima, A. & Marcos, L. (2016). Fracaso de dosis única de Triclabendazole para el tratamiento de Fasciolosis humana. *Acta Med Perú*, 33(3), 228-231.
  38. Terashima, A., Canales, M., Maco, V. & Marcos, L. (2021). Observational study on the effectiveness and safety of múltiples regimens of triclabendazole in human fascioliasis after failure to standard-of-care regimens. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 25, 264-267. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.03.023>

Fecha de recepción: 10 de febrero del 2022

Fecha de aceptación: 15 de junio del 2022