

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E. A. P. DE MEDICINA VETERINARIA

**Prevalencia de fasciolosis y paramphistomosis en el
ganado lechero de tres distritos de la provincia de
Oxapampa, Pasco**

Tesis

para optar el título profesional de Médico Veterinario

AUTORA

Silvia Esmeralda Páucar Sinche

Lima-Perú

2008

A Dios, por darme fuerza para ser perseverante en mis metas trazadas.

A mis seres queridos que se encuentran en la eternidad: mis padres, Geriaco Paucar y Victoria Sinche, así como mis hermanos Marino, Pablo, Juan y Carmen, todo lo bueno que tengo se los debo a ellos.

A mis adorables hijos Manuel y Cynthia, por su compañía constante en la vida y por enseñarme en cada momento de ser mejor madre.

A Rosita Dinedo por ser una madre, una hermana, una amiga y por estar siempre en los momentos buenos y difíciles. Gracias por la amistad brindada.

A la Dra. Amanda Chávez, directora de la tesis, gracias por la amistad, consejos y el tiempo brindado para la realización del presente trabajo.

A los Drs. Eva Casas, Francisco Suárez, Néstor Falcón, Manuel Tantaleán, César Náquira, Gina Casas, Miluska Navarrete, Christian Gonzales y al Ing. Rolando Covar que me apoyaron y asesoraron incondicionalmente.

A todos mis amigos que fueron mi apoyo moral, mi fuerza, y mi aliento en todo momento de la carrera, que con sus alegrías y nostalgias compartidas, recuerdos gratos que forman hoy parte importante de mi vida. A todos ellos mil gracias.

A la Universidad de San Marcos, mi Alma Máter. Que me abrió las puertas para forjarme profesionalmente. A ella mi eterna gratitud.

CONTENIDO

	Pág.
LISTA DE CUADROS	i
RESUMEN	ii
SUMMARY	iii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 FASCIOSIS.....	3
2.1.1 <i>Fasciola hepatica</i>	3
2.1.2 Taxonomía.....	3
2.1.3 Características morfológicas.....	4
2.1.4 Hospederos.....	6
2.1.5 Ciclo de vida.....	8
2.1.6 Epidemiología.....	9
2.1.6.1 Prevalencias.....	9
2.1.6.2 Formas de presentación.....	10
2.1.7 Factores de riesgo.....	11
2.1.7.1 Humedad.....	11
2.1.7.2 Temperatura.....	11
2.1.7.3 Edad del Hospedero definitivo.....	12
2.1.7.4 Hospedero intermediario.....	12
2.1.7.5 Disponibilidad de hábitat adecuado para el hospedero intermediario.....	12
2.1.8 Sígnos clínicos.....	13
2.1.9 Patogenia.....	15
2.1.10 Lesiones.....	16
2.1.11 Inmunidad.....	16
2.1.11.1 Inmunidad natural.....	16

2.1.11.2 Inmunidad adquirida.....	17
2.1.12 Diagnóstico.....	18
2.1.12.1 Diagnostico coproparasitológico.....	18
2.1.13 Tratamiento.....	19
2.1.14 Inmunoprofilaxis.....	19
2.1.15 Prevención y control.....	20
2.1.15.1 Control biológico.....	20
2.1.15.2 Control de reservorios domésticos y silvestres.	20
2.1.15.3 Control del hospedero intermediario.....	20
2.1.15.4 Elaboración de programas de manejo.....	21
2.2. PARAMFISTOMOSIS.....	22
2.2.1 Taxonomía.....	22
2.2.2 Características morfológicas.....	22
2.2.3 Hospederos.....	24
2.2.4 Ciclo de vida.....	25
2.2.5 Epidemiología.....	26
2.2.5.1 Prevalencias.....	26
2.2.5.2 Formas de presentación.....	27
2.2.6 Sígnos clínicos.....	27
2.2.7 Lesiones.....	29
2.2.8 Patogenia.....	29
2.2.9 Inmunidad.....	30
2.1.10 Diagnóstico.....	31
2.1.11 Diagnóstico diferencial.....	32
2.1.12 Tratamiento.....	32
2.1.13 Inmunoprofilaxis.....	33
2.1.14 Importancia económica.....	34
2.1.15 Prevencion y control.....	34

III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
3.1 Población y área de estudio.....	36
3.2 Tamaño muestral.....	36
3.3 Toma de muestras.....	38
3.4 Técnica coproparasitológica.....	38
3.4.1 Técnica de sedimentación rápida.....	38
3.4.2 Lectura.....	39
3.5 Análisis de datos.....	39
3.5.1 Prevalencia.....	39
3.5.2 Intervalo de confianza.....	39
3.6 Análisis estadístico.....	40
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41
V. CONCLUSIONES.....	46
VI. RECOMENDACIONES.....	47
VII. BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	48

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1 Ubicación de los diferentes estadios de <i>Fasciola hepatica</i>	5
Cuadro 2 Fasciolicidas empleadas y disponibles en el mercado actual.....	19
Cuadro 3 Eficacia de drogas trematodocidas en ovinos, disponibles en el mercado argentino	33
Cuadro 4 Características geofísicas de los distritos de la provincia de Oxapampa	36
Cuadro 5 Estratificación y tamaño muestral, según lugar de procedencia. Cerro de Pasco. 2006.....	38
Cuadro 6 Prevalencia de <i>Fasciola hepatica</i> y de un Paramfistómido en bovinos, según zona de Procedencia, Oxapampa. 2006.....	44
Cuadro 7 Prevalencia de <i>Fasciola hepatica</i> y de un Paramfistómido en bovinos, según estrato etario, Oxapampa. 2006.....	44
Cuadro 8 Porcentaje de Asociación parasitaria por tremátodos en bovinos de Oxapampa. 2006.....	44
Cuadro 9 Evaluación de las variable lugar y edad, como factores de riesgo para la infección por <i>F. hepatica</i> y un Paramfistómido en bovinos lechero, en 3 distritos de Oxapampa, Pasco. 2006.....	45

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue estimar la prevalencia de *Fasciola hepatica* y de un Paramfistómido en el ganado lechero de los distritos de Huancabamba, Chontabamba y Oxapampa, de la provincia de Oxapampa, Pasco. Se colectaron 408 muestras de heces de bovinos lecheros, durante mayo y noviembre del 2006, las que fueron procesadas en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria, UNMSM, mediante el método de Sedimentación Rápida; diferenciándose los huevos de ambas especies por sus características morfológicas. En el análisis estadístico se consideró las variables lugar de procedencia y edad (2-4, 5-6 y >6 años). Los resultados mostraron prevalencias de 9.0, 5.4 y 13.4% para *F. hepatica* y de 18.6, 29.7 y 38.9% para un digeneo de la familia Paramphistomidae en los distritos de Huancabamba, Chontabamba y Oxapampa, respectivamente. Asimismo, se encontró el 7.5, 10 y 12.4% para *F. hepatica* y 21, 30.8 y 33.1% para un Paramfistómido en animales con 2-4, 5-6 y >6 años, respectivamente. El análisis de regresión logística no reportó asociación entre la presencia de *Fasciola hepatica* y del paramfistómido con el lugar de procedencia; así mismo no mostró asociación entre el distoma hepático y la edad de los animales; sin embargo para el paramfistómido demostró que los animales mayores de 6 años presentaron mayor probabilidad ($p=0,025$) de encontrarse infectados que los animales más jóvenes.

Palabras clave: ganado lechero, *Fasciola hepatica*, Paramphistomidae, paramfistómido Oxapampa, Pasco

ABSTRACT

The aim of the current research was to estimate the prevalence of *Fasciola hepatica* and a Paramfistomide in the dairy cattle from the districts of Huancabamba, Chontabamba and Oxapampa, province of Oxapampa, Pasco. 408 samples of dregs of dairy cattle were collected, during May and November, 2006, which were tested in the Laboratory of Parasitology of the Veterinary Medicine School, UNMSM, using methods such as Rapid Sedimentation test; differentiating the eggs of both species for their morphologic characteristics. In the statistical analysis some variables were considered such as the place of origin and age (2-4, 5-6 y >6 years). The results showed prevalences of 9.0, 5.4 and 13.4 % for *F. hepatica* and of 18.6, 29.7 and 38.9 % for a digeneo of the Paramphistomidae family in the districts of Huancabamba, Chontabamba and Oxapampa, respectively. Likewise, there were found 7.5, 10 and 12.4 % for *F. hepatica* and 21, 30.8 and 33.1 % for a Paramfistomide in animals with 2-4, 5-6 y >6 years, respectively. The analysis of logistic regression did not report association between the presence of *Fasciola hepatica* and of the paramfistomido with the place of origin; likewise it did not show association among the hepatic distoma and the age of the animals; nevertheless for the paramfistomido it demonstrated that the animals older than 6 years presented major probability ($p=0,025$) of being infected than the youngest animals.

Keywords: Dairy cattle, *Fasciola hepatica*, Paramphistomidae, paramfistómido, Oxapampa, Pasco

I. INTRODUCCIÓN

La distomatosis constituye un problema económico de gran importancia, que afecta seriamente a diversos sistemas pecuarios de producción, llegándose a estimar pérdidas económicas de 10.5 millones de dólares al año (Leguía, 1988). Así también, en salud pública esta enfermedad zoonótica adquiere caracteres alarmantes en diversas áreas de la sierra peruana (Acha y Szyfres, 2003).

La distomatosis es causada por la *Fasciola hepatica*, tremátodo que tiene como hospedero definitivo a rumiantes y otros mamíferos incluido el hombre, quienes al infectarse eliminan al medio ambiente los huevos del parásito. Sin embargo, esta parasitosis cobra aún mayor interés cuando coexisten en forma simultánea de otro digeneo de la familia Paramphistomidae, el cual al eliminar sus huevos al medioambiente estos resultan ser similares a los de *F. hepatica*, haciendo difícil su diagnóstico por métodos coproparasitológicos convencionales, requiriéndose de personal de laboratorio con experiencia en este tipo de diagnóstico diferencial (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

Ambos tremátodos se presentan en rumiantes sin embargo se diferencian por afectar distintos órganos , así, la distomatosis causa daños en el hígado y en los conductos biliares, siendo su presentación con frecuencia de carácter crónico y acompañado de transtornos nutricionales (Cordero del Campillo *et al.*,1999), mientras que la Paramfistomosis causa daño en el tracto

gastrointestinal, provocando una inflamación hemorrágica que puede llegar a engrosar la mucosa y submucosa del rumen y retículo (Barriga, 2002).

Oxapampa es una provincia de clima húmedo semi-cálido y eminentemente ganadera, donde la crianza del ganado es generalmente, extensiva, siendo alimentados con pastos naturales y en algunos fundos el ganado es suplementado con alimento concentrado. La raza bovina que predomina, es la Holstein cruzada y la Criolla, en menor cantidad de Brown Swiss. La producción leche promedio en la zona es de 8 litros diarios (Gonzáles, 2003).

En la mayoría de los fundos no llevan registros que permitan medir los índices productivos y reproductivos de estos animales. Así mismo, dentro de los helmintos más frecuentes en la zona destaca la *F. hepatica*, la cual es controlada mediante programas antiparasitarios llevados a cabo por la experiencia del dueño. Al no contar la mayoría de fundos con asesoría profesional, ni registros, por tales razones el objetivo del presente estudio, fue estimar la prevalencia de *Fasciola hepatica* y un Paramfistómido en el ganado lechero de los distritos de Huancabamba, Chontabamba y Oxapampa, de la provincia de de Oxapampa, Pasco.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Fasciolosis

También llamada Distomatosis hepática; es una de las parasitosis más difundidas e importantes a nivel mundial en el ganado de pastoreo. Aunque el término incluye todas las infecciones causadas por especies del género *Fasciola*, las dos especies más importantes son *Fasciola hepatica* localizada en zonas templadas y zonas frías de elevada altitud en los trópicos y subtrópicos y *F. gigantica*, la que predomina en zonas tropicales (Urquhart y Armour, 2001). En nuestro país *Fasciola hepatica* es la de mayor relevancia.

2.1.1. *Fasciola hepatica*

Fasciola hepatica, es un tremátodo digenético y hermafrodita que se localiza en los conductos biliares de mamíferos herbívoros y del hombre. Este parásito es de distribución mundial encontrándose mayormente en zonas dedicadas a la cría de ganado ovino y bovino donde las condiciones para el desarrollo del hospedero intermediario, un caracol de la familia *Lymnaeidae*, es propicia (Espino *et al.*, 2000).

2.1.2. Taxonomía

Phylum:	Platyhelminthes (Schneider, 1872)
Subphylum:	Cercomeria (Brooks, 1982)
Superclase:	Cercomeridea (Brooks <i>et al.</i> , 1985)
Clase:	Trematoda (Rudolphi, 1808)
Subclase:	Digenea (VanBeneden, 1858)

Orden:	Fascioliformes (Skrjabin y Schulz, 1933)
Superfamilia:	Fascioloidea (Stiles y Goldberger, 1910)
Familia:	Fasciolidae (Railliet, 1895)
Subfamilia:	Fasciolinae (Stiles y Hassall, 1898)
Genero:	Fasciola
Especie:	<i>Fasciola hepatica</i> (Linnaeus, 1758)

Fuente: Travassos *et al.*, 1969

2.1.3. Características morfológicas

- **Huevos:** Los huevos miden de 130 a 150 por 63 a 90 micras, poseen un opérculo. Su cáscara es relativamente delgada y está teñida por pigmentos biliares de tonos amarillos en su interior. Entre numerosas células está el cigoto de color claro y posición central (Quiroz, 2000; Urquhart, Armour 2001).
- **Miracidios:** Los miracidios que se forma al final del desarrollo embrionario dentro del huevo, son elementos ciliados que miden 150 por 40 micras. Poseen una mancha ocular en forma de "X", glándulas y espolón cefálico. Estos penetran activamente en el caracol perdiendo su cubierta de cilios y se transformándose en esporoquistes (Borchet, 1981).
- **Esporoquistes:** Miden 500 micras de longitud. A partir de la pared de estos, se forman 5 a 10 masas germinativas que se convierten en redias, las cuales fuerzan la pared del esporoquiste y continúan creciendo en las glándulas intestinales del caracol (Borchet, 1981).
- **Redias:** Estas rompen el esporoquiste y migran a otros tejidos como el hepatopáncreas, riñones, etc., donde desarrollan, y a su vez en su interior se realiza una segunda reproducción asexual llegando a formar 15 a 20 cercarias por cada redia (Rojas, 1990), pudiendo alcanzar de 2 a 3 mm. de longitud. Si la primera generación de redias degenera, una nueva generación de redias se desarrolla desde el esporocisto (Manrique y Cuadros, 2002).
- **Cercarias:** Las cercarias liberadas del caracol, miden de 260 a 320 por 200 a 240 micras, sin considerar la cola propulsora que mide 500 micras

de longitud. En las cercarias se pueden apreciar algunas estructuras de un tremátodo adulto, como ventosas y aparato digestivo. La cantidad de cercarias originadas de un solo miracidio puede llegar a ser de 600. La cercaria nada activamente de un lado para otro y después de poco tiempo se adhiere a la superficie de plantas, perdiendo la cola y transformándose en metacercaria (Soulsby, 1993).

- **Metacercarias:** Este estadio se halla enquistado en pastos aledaños a zonas con alta humedad; pero también pueden enquistarse en la superficie del agua encerrando pequeñas burbujas de aire que le permiten mantenerse a flote. Tienen una medida alrededor de 250 a 300 por 200 a 250 micras, siendo la forma infectiva del parásito (Urquhart y Armourt, 2001). Los hospederos definitivos se infectan al ingerir plantas o agua con metacercarias (Acha y Szyfres, 2003)
- **Fasciola juvenil y adulta:** La fasciola juvenil tiene forma de lanceta y una longitud de 1 a 2 mm cuando penetra en el hígado (Urquhart y Armour., 2001). El parásito adulto es hermafrodita, mide de 18 a 50 mm. por 4 a 14 mm. El cuerpo es aplanado dorso ventralmente de forma foliácea, ancha anteriormente formando un cono posterior. Su cuerpo está cubierto por pequeñas espinas. Posee una ventosa oral en el extremo superior, otra ventral, a la altura de lo que se podría llamar hombros. El tubo digestivo se bifurca a poca distancia de la ventosa oral, formando ramas primarias y secundarias que se extienden hasta la parte posterior del cuerpo, abriéndose debajo de la ventosa ventral el poro genital (Quiroz, 2000; Urquhart y Armour 2001).

Cuadro 1. Ubicación de los diferentes estadios de *Fasciola hepatica*

Localización	Estadio de <i>F. hepatica</i>
Heces-Aguas Estancadas	Huevos-miracidio
Caracoles: <i>Lymnaea viatrix</i> y <i>L. columella</i>	Miracidio, esporocisto, redia, cercaria.
Agua-Plantas	Cercaria-metacercaria
Peritoneo y parénquima hepático	Fasciolas juveniles
Conductos Biliares	Forma adulta de Fasciola

Fuente: Manrique y Cuadros, 2002.

La cronología de los estados evolutivos de *Fasciola* se pueden resumir así: eclosión de los huevos 2 a 4 semanas, emisión de cercarías por los caracoles 5 a 12 semanas, periodo prepatente en grandes mamíferos 10 semanas. El desarrollo de miracidio hasta cercaria a una temperatura de 15 a 20°C: tres meses. La sequía es mortal para las metacercarias y los huevos (Quiroz, 2000).

2.1.4. Hospederos

Hospedero definitivo

La fasciolosis afecta a todos los animales herbívoros y accidentalmente al humano; sin embargo existen grados de resistencia ante la presentación de esta enfermedad, lo cual es dependiente de la especie:

- a. Resistencia baja, con un alto grado de establecimiento de la infección, desarrollo rápido, supervivencia prolongada y marcada patogenicidad: en ovinos, caprinos, conejos, ratas y ratones, principalmente (Leguía, 1988).
- b. Resistencia tardía, donde se incluyen especies que reaccionan con retraso ante el proceso ya implantado en el hígado: ganado vacuno, búfalos, camellos, ciervos, corzos, cobayos y hombre (Leguía, 1988)
- c. Resistencia temprana, donde se incluyen las especies que reaccionan rápidamente frente al parásito, evitando su desarrollo: caballos, cerdos, perros y gatos (Leguía, 1988).

La infección por *F. hepatica*, se da en animales de toda edad, pero los animales más jóvenes son los más susceptibles a infecciones agudas y los vacunos mayores de 1 año tienen a la fasciolosis crónica como la forma más común (Leguía, 1991b). Por otro lado, los ovinos son más susceptibles a la infección que los bovinos, esto debido al hábito de pastorear a ras del suelo que facilitaría la ingestión de metacercarias, por lo cual el hígado pequeño de los ovinos no soporta las altas infecciones (Leguía, 1999a). Las alpacas son también altamente sensibles a la distomatosis, habiéndose reportado una

prevalencia de 18% con una mortalidad de 1% en zonas de Puno (MINAG, 1973)

Los hospederos más importantes de la *F. hepatica* en el Perú son los ovinos y los vacunos, tasas de infección entre el 20 y 100% han sido reportadas en varias zonas geográficas de la sierra, especialmente en los departamentos de Junín, Cajamarca, Cuzco, Pasco y Ayacucho (Leguía y Casas, 1999). En zonas enzoóticas pueden producirse infecciones transplacentarias cuando algunos distomas pasan al feto después de atravesar el útero (Leguía, 1988).

La fasciolosis no es una zoonosis frecuente, sin embargo, se han descritos casos clínicos en más de 40 países, incluida España (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

Hospedero intermediario

F. hepatica tiene como hospedero intermediario a los caracoles de la familia Lymnaeidae, moluscos de concha cónica y pequeña de 9 a 12 mm de alto, de color café brillante, sin bandas coloreadas. Es dextrógiro, con la rotación de la concha en el sentido de las agujas del reloj, cuando se observan desde el dorso, y con la última vuelta ocupando más de la mitad del alto de la concha. Comúnmente habitan en aguas limpias de flujo lento como remansos en la orilla de arroyuelos o canales de regadío, y a menudo están medio incrustados en el barro (Bendezú, 1974; Tantaleán *et al.*, 1975; Borchet, 1981). Especies que solían considerarse en el género *Lymnaea* ahora se asignan a otros géneros como *Pseudosuccinea columella* y *Fossaria viatrix* (Barriga, 2002).

Su distribución geográfica en el Perú abarca desde Tumbes hasta Tacna, en Sudamérica se encuentra distribuida en casi todo el continente (Oviedo *et al.*, 1993)

Existen evidencias de que la prevalencia de *F. hepatica* en países tropicales se incrementa después de varios meses de sequía, lo cual posiblemente se deba a la aglomeración de los caracoles alrededor de los puntos de conservación del agua, y que constituyen a su vez un magnífico biotopo para los caracoles hospederos intermediarios. Ello garantiza la infección de dichos caracoles y una alta concentración de metacercarias disponibles para los hospederos definitivos (Morales y Pino, 1992, Acha y Szyfres, 2003).

La temperatura diaria puede variar en el día hasta 15°C, y por la noche descender hasta por debajo de 0°C y a pesar de estas variaciones existe *F. hepatica*. La explicación radica en que durante el invierno los caracoles (hospederos intermediarios) hibernan durante 3 a 4 meses hasta que mejoran las condiciones climáticas de temperatura y humedad. Es decir que los esporocistos, redias y cercarias, buscan un lugar cómodo que les permite superar las bajas temperaturas y asegurar la supervivencia de la especie (Manrique y Cuadros, 2002).

2.1.5. Ciclo de vida

El ciclo de vida de *F. hepatica* es indirecto, es decir necesita de un hospedero intermediario como el caracol. Los parásitos adultos, localizados en los conductos biliares del hígado, producen huevos los cuales son evacuados a través del conducto colédoco al intestino y de ahí son eliminados al exterior juntamente con las heces. En el medio ambiente, bajo condiciones adecuadas de temperatura y humedad, los huevos desarrollan y liberan embriones ciliados llamados miracidios, los cuales tienen reservas energéticas para nadar sólo por unas pocas horas mientras buscan su hospedero intermediario, un caracol de la familia Lymnaeidae (géneros *Lymnaea*, *Pseudosuccinea*, *Fossaria*). Si no lo encuentra, muere; si lo encuentra, penetra en él. En el interior de estos caracoles, el miracidio se transforma sucesivamente en larvas llamadas esporocistos, redias y finalmente cercarias, semejantes a pequeñísimos renacuajos de color blanquecino que abandonan el caracol adhiriéndose luego a la vegetación circundante, donde pierden su cola y se enquistan

transformándose en metacercarias, que constituyen las formas infectivas (Leguía, 1988).

La infección en el hospedero definitivo se realiza por medio de la ingestión de alimentos (forraje verde) o agua, contaminados con metacercarias. En el intestino se disuelve la membrana quística externa y queda libre el joven trematodo que mide 250 micras; penetra activamente a través de la pared del intestino, alcanzando la cavidad peritoneal en el transcurso de 2 a 28 horas; luego penetra en el hígado, perforando la cápsula de Glisson y de 4 a 6 días después llega al tejido hepático por el que vaga de 6 a 8 semanas para finalmente asentarse en un conducto biliar (Leguía, 1988).

El periodo prepatente es de 9 semanas a tres meses. La vida del parásito en los conductos biliares es aproximadamente de un año; sin embargo, hay casos en que llega a vivir 6 años o más (Leguía, 1988).

Cuando se encuentran ejemplares de fasciolas en la cavidad peritoneal, en el útero de vacas, o en el pulmón y tejido subcutáneo se trata de formas erráticas (Leguía, 1988).

2.1.6. Epidemiología

2.1.6.1. Prevalencias

En nuestro país la fasciolosis ocasiona serios problemas a la ganadería nacional, lo que es evidenciado por los diversos reportes en diferentes regiones. Así se conoce que el ganado de la sierra norte del país muestra valores muy altos de infección; por ejemplo en Cajamarca, al examen post mortem se reportaron valores de 95.6% de distomatosis bovina (Vallena, 1986). Datos más recientes, muestran valores de 80.18% (1266/1579) de distomatosis bovina (Díaz y Rojas, 2004), todas ellas realizadas a partir de inspección visual de vísceras en camales de la zona. Otros estudios en la zona norte del país muestran valores menores, así en Lambayeque y Ancash, se reportan un 22% y 38% de infección, respectivamente (Manrique y Cuadros, 2002).

Así mismo, en la sierra sur del país los porcentajes de infección resultan inferiores respecto a Cajamarca, sin embargo su presencia es importante. Como en el departamento de Puno, donde los porcentajes de distomatosis bovina reportados en el camal municipal fueron de 15 y 18% (Ministerio de Salud, 1989; Vilca, 2000); en Cusco se reportan 43% y en Apurímac, 42% (Manrique y Cuadros, 2002). Estudios similares en Arequipa reportan frecuencias de 17 a 88% de fasciolosis ovina (Manrique y Cuadros, 2002); mientras que bovinos de la irrigación de Majes arrojan porcentajes de 58% (Pérez, 1997); en el centro del país se tiene moderados y altos porcentajes de distomatosis bovina; es así que en Pasco se reporta un 10.2%, Junín un 39%, Huanuco un 21.6% y Huancavelica un 43% (Manrique y Cuadros, 2002).

Las frecuencias departamentales muestran una visión general de la problemática, que ocasiona la distomatosis en el Perú, sin embargo estas frecuencias resultan relativas si quisiéramos aplicarlas a distritos o localidades de su interior, puesto que dentro de cada zona, se pueden encontrar diversos climas y pisos ecológicos, lo que causaría variaciones de la frecuencia de la distomatosis (Ticona, 2007)

2.1.6.2. Formas de presentación

En el hospedero definitivo, se pueden presentar tres formas de fasciolosis, las cuales son dependiente de la carga de metacercarias ingeridas y del tiempo de su ingreso al hospedero (Barriga, 2002; Acha y Szyfres, 2003).

- a. Fasciolosis aguda: ocurre en ovejas que ingieren un alto número de parásitos en un corto tiempo, de modo que sufren gran destrucción hepática. Generalmente se presenta en otoño, unas 5 a 6 semanas después de la infección, con anemia, abdomen distendido, dolor y muerte súbita (Barriga, 2002; Acha y Szyfres, 2003).
- b. Fasciolosis subaguda: ocurre en ovejas que ingieren numerosos parásitos en un período más prolongado. Aparecen generalmente al final del otoño o principios de invierno y se manifiesta principalmente con anemia, debido a las hemorragias; edemas, debidos a la

hipoalbuminemia, y hepatomegalia, debido al daño hepático (Barriga, 2002; Acha y Szyfres, 2003).

- c. Fasciolosis crónica: ocurre al final del invierno o principios de primavera por la acumulación de parásitos ingeridos durante los 4 o 5 meses previos. Las manifestaciones más comunes son mucosas pálidas, edema submandibular, ascitis, pérdida de peso, y emaciación (Barriga, 2002; Acha y Szyfres, 2003).

Las ovejas pueden sufrir las tres formas de la enfermedad, y pueden morir de infecciones crónicas intensas; no desarrollan resistencia inmune contra la infección. Por el contrario, los vacunos generalmente desarrollan alguna resistencia a las reinfecciones, rara vez sufren la enfermedad aguda o subaguda y a menudo no muestran síntomas aún en infecciones crónicas intensas. En el humano la infección causa hepatomegalia febril y dolorosa con eosinofilia (Barriga, 2002; Acha y Szyfres, 2003).

2.1.7. Factores de riesgo

2.1.7.1. Humedad

Los huevos de *F. hepatica*, no realizan desarrollo alguno cuando se encuentran en las heces, siendo necesario un medio hídrico como charcos, potreros, inundaciones, canales de curso lento, para iniciar su desarrollo. En estos casos, las lluvias favorecen este desarrollo y su posterior eclosión (Urquhart y Armour, 2001; Acha y Szyfres, 2003).

2.1.7.2. Temperatura

En el ciclo de *F. hepatica*, las temperaturas inferiores a 10°C no permiten el desarrollo del huevo; sin embargo, a 10°C, estos eclosionan en un mes, mientras que con 17°C.- 19°C eclosionan en 17 a 22 días y a 25°C en 8-12 días (Urquhart y Armour, 2001; Acha Szyfres, 2003).

En cuanto al tiempo de desarrollo y nacimiento del miracidio, la temperatura también desempeña un importante papel; es así que a 26°C los

miracidios eclosionan en 9 días, pero a 10°C no se desarrollan; sin embargo, permanecen viables durante un largo período y pueden continuar su desarrollo cuando las condiciones vuelvan a ser favorables (Leguía, 1988).

2.1.7.3. Edad del hospedero definitivo

Existe una resistencia ante la infección por *F. hepatica*, que se manifiesta con la edad, ya que los animales adultos son más resistentes que los jóvenes, lo cual está aparentemente relacionado con el desarrollo de los mecanismos inmunológicos y el tejido conectivo hepático de los animales (Leguía, 1988; Acha y Szyfres, 2003).

2.1.7.4. Hospedero intermediario

Para el desarrollo de *F. hepatica*, una vez formado el miracidio, es necesaria la participación de un hospedero intermediario, debido a que el miracidio no puede vivir más de 24 horas en vida libre o pocos días a bajas temperaturas (Leguía, 1991b, Acha y Szyfres, 2003).

Posteriormente, la evolución cuantitativa y cualitativa de la descendencia de *F. hepatica* da lugar a la formación de redias. Este desarrollo, aparte de depender de la humedad y temperatura, también depende del estado nutricional y edad del caracol, que es mejor cuando se encuentra en depósitos acuáticos ricos en algas que en medios secos, fríos y en arroyos claros (Borchet, 1981; Acha y Szyfres, 2003).

2.1.7.5. Disponibilidad de hábitat adecuado para el hospedero intermediario

Los hospederos intermediarios de *F. hepatica*, prefieren el barro al agua y sus hábitats permanentes son las orillas de acequias o arroyos y los márgenes de pequeñas charcas. Después de fuertes precipitaciones, las huellas de las pezuñas de los animales, los surcos de las ruedas o los charcos de la lluvia pueden proporcionarle un hábitat temporal, al igual que las zonas de juncos. Aunque, en el caso de *L. truncatula*, es óptimo un pH del medio ligeramente ácido, para otros caracoles, los valores de pH excesivamente

ácidos son perjudiciales como puede ocurrir en las ciénagas y zonas con musgo (Borchet, 1981; Acha y Szyfres, 2003).

2.1.8. Signos clínicos

Se puede observar:

- a. **Depresión del apetito o anorexia:** lo cual produce una importante merma en la producción animal. La intensidad de la anorexia estará relacionada con la carga de fasciolas adultas y duración de la enfermedad (Leguía, 1988; Acha, 2003).
- b. **Anemia:** la cual es producida por una síntesis reducida y/o incremento en la pérdida de glóbulos rojos, debido a: 1) deficiencia de proteínas o vitamina B12, y 2) depresión de la actividad de la médula roja por acción de toxinas liberadas por el parásito, hemólisis y acción hematófaga del parásito. Sin embargo, mediante el uso de radioisótopos como el cromo 51 y hierro 59, se ha demostrado que la causa fundamental de la anemia es una pérdida de glóbulos rojos a través del intestino del hospedero como consecuencia de la actividad hematófaga del parásito. Por otro lado, la mayor parte del hierro de los eritrocitos eliminados por el intestino no es reabsorbido, de tal forma que esto puede conducir a una franca deficiencia de este elemento y contribuir así al agravamiento de la anemia (Leguía, 1988; Acha y Szyfres, 2003).
- c. **Peso corporal:** durante la fase migratoria de los distomas a través del parénquima hepático (1 a 8 semanas), los animales muestran un ligero incremento en la ganancia de peso por la mayor producción de globulinas, en tanto que los valores hematológicos permanecen relativamente constantes, pero cuando los parásitos llegan a los conductos biliares se produce un estancamiento en la ganancia de peso, y la emaciación o enflaquecimiento posterior coincide con una disminución significativa de glóbulos rojos y proteínas plasmáticas por la actividad hematófaga y patología del distoma. Esta situación es conocida en forma empírica por muchos ganaderos, quienes como una forma de engorde pastorean ovinos en zonas distomatósicas por un

período de 6 a 7 semanas y luego los benefician (Leguía, 1988; Acha y Szyfres, 2003).

- d. **Alteración del ciclo reproductivo:** tanto en bovinos, como en ovinos se ha observado una disminución de los porcentajes de fertilidad y preñez, aborto, e incremento de la edad de la pubertad y producción de crías nacidas muertas. Las causas de estas alteraciones no son bien conocidas, pero se ha sugerido: stress nutricional, disminución de la concentración de esteroides y/o desequilibrio en la liberación de gonadotropinas o producción de prostaglandinas en respuesta a intensas reacciones inflamatorias que conducen a la luteolisis y lactación prolongada (Leguía, 1988).
- e. **Cambios en el nivel de proteínas séricas:** Estos ocurren en dos fases: La primera es la migratoria, cuando los distomas están atravesando el parénquima hepático el animal entra progresivamente a un estado de hiperproteïnemia, como resultado de un incremento en la concentración de la alfa, beta y gama globulinas y poco o ningún cambio se observa en los niveles de albúmina, parecería que a este estado los animales infectados están mucho más saludables por cuanto hay un ligero incremento en peso, debido a que la capacidad funcional del hígado está aumentada notablemente a pesar del daño que se esta produciendo en ella. Sin embargo, en la segunda fase, cuando los distomas alcanzan los conducto biliares el animal entra progresivamente a un estado de hipoproteïnemia, hipoalbuminemia y en casos más severos hipoglobulinemia. Paralelamente, se produce un estancamiento y luego una rápida pérdida de peso corporal. Mediante el uso de proteínas marcadas con radioisótopos se ha logrado establecer que esta situación es producida por un drenaje crónico de proteínas plasmáticas a través de la acción hematófaga del parásito y de las aberturas o brechas existentes entre las células hiperplásicas del epitelio de la mucosa biliar. Obviamente, estos dos mecanismos uno más que otro de acuerdo a las circunstancias juegan papel importante en este proceso (Leguía, 1988).

2.1.9. Patogenia

Aunque *F. hepatica* causa considerable morbilidad y mortalidad entre ovejas y puede ser importante para los vacunos, su patogenicidad es dependiente de la carga parasitaria en el hospedero definitivo. Así, en ovejas adultas, 100 vermes adultos causan síntomas leves, 200 a 700 provocan enfermedad crónica y algunas muertes, 700 a 1400 provocan enfermedad subaguda y muerte, y solo cargas superiores provocan enfermedad aguda o per-aguda y numerosas muertes; y en vacunos, 600 vermes adultos no causan síntomas, 1400 provocan síntomas en alrededor de la mitad de los animales y algún caso de mortalidad y 5,000 parásitos o más, generan enfermedad mortal (Leguía, 1988; Acha y Szyfres, 2003)

Cuando las fasciolas jóvenes migran, producen con su cubierta espinosa, una inflamación aguda en el tejido hepático situado en la zona de los conductos de perforación, en cuya génesis también participan los productos metabólicos tóxicos del verme y los de desintegración de las células del tejido. Por intervención de focos de supuración pueden producirse en el hígado procesos purulentos (Leguía, 1988; Acha, 2003.)

Las fasciolas jóvenes también pueden debilitar y perforar la cápsula hepática en su migración, provocando con ello peritonitis. Las fasciolas situadas en los conductos biliares actúan sobre su pared mecánicamente por medio de su revestimiento espinoso, provocando una intensa acción irritativa, pero principalmente los productos metabólicos y secreciones, que liberan en cantidad superior a las fasciolas jóvenes, conducen en los puntos de implantación de los vermes, al desarrollo de inflamaciones crónicas de las vías biliares, y por la conducción linfática de productos irritantes, a una cirrosis hepática colangiолítica, con proliferaciones en los conductos biliares. Estas lesiones hepáticas de amplitud variable, la constante absorción de productos de secreción y, en ocasiones, incluso bacterias que se implantan en los conductos biliares inflamados, originan finalmente los trastornos nutritivos propios de la enfermedad con todo el cortejo sintomático consiguiente. Además se sospecha la existencia de trastornos del metabolismo de las vitaminas del

grupo B, e incluso carencias de aneurina, ácidos nicotínicos y pantoténico, piridoxina y riboflavina (Leguía, 1988; Leguía y Casas, 1999).

2.1.10. Lesiones

Cuando las fasciolas llegan a los conductos biliares, ya ha comenzado una extensa proliferación del epitelio de los conductos y una fibrosis de su pared. La presencia de los parásitos en los canalículos aceleran estos cambios (colangitis). La hemorragia agrava la anemia y su actividad causa destrucción y necrosis del epitelio. La inflamación pericanalicular puede extenderse al parénquima hepático (Leguía y Casas, 1999).

La invasión del hígado causa una hepatitis traumática con puntos de hemorragia que causan anemia en las infecciones masivas o repetidas. A medida que los parásitos crecen, los túneles y las hemorragias se hacen más grandes; la pared de los túneles muestra hepatocitos destruidos, sangre, y células inflamatorias. Posteriormente, las áreas afectadas se fibrosan (Leguía, 1988; Cordero Del Campillo *et al.*, 1999).

En los bovinos, ocurre fuerte calcificación de los conductos. Una eosinofilia intensa aparece después de la infección. La fase de migración intrahepática generalmente va acompañada de hiperglobulinemia, probablemente por una reacción de anticuerpos, pero después se manifiesta una hipoalbuminemia por la pérdida de sangre, que puede provocar edemas, la cual suele aparecer durante la migración hepática en infecciones masivas (Leguía, 1988).

2.1.11. Inmunidad

Existen dos tipos de inmunidad en los hospederos definitivos de *F. hepatica*:

2.1.11.1. Inmunidad natural

Se ha observado bajo condiciones de campo y de laboratorio que los vacunos muestran un moderado a alto grado de resistencia natural a

infecciones por distomas, en comparación con ovinos, caprinos y alpacas que son muy susceptibles. Estas diferencias se han tratado de explicar en términos anatómicos e histológicos, ya que el hígado de vacuno además de ser de mayor tamaño, contiene mayor cantidad de tejido conectivo, lo que le permite soportar infecciones altas y una mayor reacción de fibrosis que tiende a encapsular a los conductos biliares, produciendo la muerte y posterior eliminación de sus productos. En el vacuno el distoma generalmente vive de 9 a 12 meses, en relación con el ovino donde puede vivir hasta 11 años (Leguía, 1988; Acha y Szyfres, 2003).

2.1.11.2. Inmunidad adquirida

Tanto en animales de laboratorio (conejos, ratas, cobayos, etc.) como en terneros se ha demostrado altos niveles de resistencia adquirida a *F. hepatica* a través de la producción de anticuerpos específicos; sin embargo, éstos por sí solos no contienen inmunidad (Leguía, 1988)

Por otro lado, se ha logrado producir inmunidad pasiva ya sea inoculando células linfoides o suero hiperinmune a animales susceptibles sometidos posteriormente al desafío respectivo. Sin embargo, la forma como estos mecanismos operan es poco entendido, ya que cuando altos niveles de inmunidad son transferidos a través de sueros hiperinmunes, los parásitos de la dosis de desafío son destruidos antes que ellos alcancen el hígado; de otro lado, un similar nivel de protección mediante la inoculación de células linfoides está invariablemente asociado con una infiltración celular y muerte de los parásitos inmaduros en el parénquima hepático. En base a esto, algunos investigadores sostienen que un tipo de inmunidad celular inmediata operaría a nivel del hígado, en tanto que la inmunidad humoral actuaría a nivel de la cavidad peritoneal, siendo ésta la primera línea defensiva. Al respecto, existen “factores no específicos” aún no bien conocidos que intervienen en la respuesta inmune (Leguía, 1988)

Otro aspecto interesante en la infección por *F. hepatica*, en su habilidad de sobrevivir por prolongados periodos de tiempo en el hospedero definitivo, es

decir que los parásitos evaden la respuesta inmune; al respecto, existen algunas evidencias de que *F. hepatica* cambia la estructura antigénica de su cubierta durante su migración por el parénquima hepático (Leguía, 1988).

2.1.12. Diagnóstico

El diagnóstico de *F. hepatica* está basado en el empleo de métodos coproparasitológicos para el hallazgo de huevos operculados característicos del parásito, y una determinación cuantitativa de la infección, especialmente en los casos crónicos y sub-agudos (Rojas, 1993; Quiroz, 2000). Sin embargo, durante los últimos 25 años diversas pruebas diagnósticas muy sensibles y específicas han sido desarrolladas, las cuales vienen sustituyendo cada vez más a las técnicas coproparasitológicas. Estas pruebas están basadas en la detección de antígenos de *Fasciola* en suero sanguíneo y heces (Mezo *et al.*, 2004) o en la detección de anticuerpos específicos contra *Fasciola* en suero (Farrel *et al.*, 1981; Salimi-Bejestani *et al.*, 2005) y en leche (Boulard *et al.*, 1985; Reichel *et al.*, 2005).

2.1.12.1. Diagnóstico Coproprasitológico

Los métodos de sedimentación son los más usados, para el diagnóstico coproparasitológico, ya sea de manera cualitativa y cuantitativa, esto último se consigue con el peso de las heces y el factor de dilución usado.

En bovinos, la sensibilidad de la prueba es del 70% con un solo examen; mientras, un examen seriado de tres eventos aumenta a 93%. En ovinos es también del 70% en un evento y sube a 97% con tres. Los resultados encontrados no reflejan el 100% del total de animales infectados, teniendo un adicional porcentaje significativo de falsos negativos (Quiroz, 2000).

Los métodos de flotación requieren el empleo de soluciones de alta densidad como el sulfato de zinc saturado o yodo mercurato de potasio. En estos casos resulta necesario evaluar el costo de insumos, así como los cuidados respecto a la corrosión y deformación de los huevos (Souslby, 1993; Quiroz, 2000).

2.1.13. Tratamiento

Dentro de la gama de fasciolicidas existentes en el mercado nacional, existen drogas que matan a los estadios adultos, mientras que otras destruyen el trematodo a partir de los estadios juveniles hasta las formas adultas, así en el cuadro 2 se muestra la eficacia de alguno de los más usados en nuestro medio.

Fasciolicida	Dosis mg/Kg.		Actividad contra <i>Fasciola</i>		
	Ovinos	Bovinos	1-4 sem.	5-8 sem.	Adulto
Nitroxinil	10 s.c.	10 s.c.	-	+/-	+
Dianfetidina	105	N.D.	+	+	+/-
Oxiclonaxida	15	10	-	+/-	+
Brotianida	5.6	N.D.	-	+/-	+
Rafoxanide	7.5	7.5	-	+/-	+
Closantel	10	5	-	+/-	+
Albendazol	7.5	10	-	-	+
Netobimin	20	20	-	-	+
Triclabendazole	10	12	+	+	+
Clorsulon	N.D.	2 s.c.	-	+/-	+

N.D.: No disponible

s.c.: Subcutánea

Fuente: Becerra, 2001

2.1.14. Inmunoprofilaxis

Se ha intentado elaborar vacunas contra *F. hepatica* mediante la utilización de metacercarias irradiadas y éstas han dado resultados alentadores en terneros, donde se observó un buen nivel de protección, no así en ovinos donde no se encontraron evidencias de inmunidad protectora y si consideramos que bajo condiciones naturales el ovino es incapaz de producir una respuesta inmune, es bastante dudoso al menos en esta especie, que este método tenga éxito. Sin embargo, los resultados alentadores en terneros sugieren que este método podría ser de utilidad en vacunos, superando por

supuesto las dificultades prácticas de la producción en masa de metacercarias irradiadas (Leguía, 1988).

2.1.15. Prevención y Control.

La prevención y el control de los casos de fasciolosis, están basados la sumatoria de acciones frente a:

2.1.15.1. Control biológico

Al respecto, se han realizado experimentos para controlar biológicamente el distoma a través del oliqueto *Chaetogaster lymmaei* y larvas de moscas del género *Sciomycidae*, cuya aplicación en el campo no han dado resultado satisfactorio (Leguía, 1988).

2.1.15.2. Control de reservorios domésticos y silvestres

Especies domésticas como los cerdos, caprinos, equinos, cobayos y conejos, entre otros, son fácilmente infectados cuando pastorean en zonas distomatósicas, de tal forma que estos deben ser también dosificados periódicamente. Por otro lado, deben tomarse medidas adecuadas a fin de que animales silvestres como el venado, cuyes silvestres, vizcachas, entre otros, no dispersen la enfermedad (Leguía, 1988).

2.1.15.3. Control del hospedero intermediario

La fasciolosis se ha combatido tradicionalmente destruyendo los parásitos en el hospedero definitivo y en menor grado afectando los hospederos intermediarios.

La lucha contra los caracoles representa un aspecto muy importante en la prevención de la enfermedad puesto que en su erradicación o la disminución de su población estaría la esperanza de eliminar o disminuir el riesgo de contraer la enfermedad; sin embargo su control no resulta práctico y además es muy caro, por lo que en los últimos años se ha relegado al olvido y se recomienda sólo su uso en granjas pequeñas, debido a que la multiplicación de

los caracoles es muy rápida y la erradicación incompleta, consiguiéndose sólo un descenso temporal de la población de moluscos (Cáceres, 1989).

Para el control de los caracoles se emplea mayormente el Sulfato de cobre, el cual presenta una serie de desventajas:

- Es poco efectivo, ya que no causa mortalidad en los caracoles; además, no tiene efecto ovicida, por lo que requiere de tratamientos adicionales.
- Debe alcanzar una concentración suficiente durante largo tiempo.
- Posee acción tóxica sobre el medio ambiente, observándose que insectos, batracios y aún peces son eliminados.
- El pasto se torna de color café y su utilización en cuencas lecheras produce sabor a óxido en los subproductos lácteos (Leguía, 1988).

2.1.15.4. Elaboración de Programas de Manejo

En nuestro país, en la región Quechua y Suni se puede recomendar el siguiente programa de control combinado contra parásitos gastrointestinales y distoma así:

- Dosificación a principios de primavera (setiembre) contra larvas hipobióticas de *Ostertagia* y *F. hepatica*.
- Dosificación a inicios de verano (diciembre – enero) contra Nemátodos y *F. hepatica*.
- Dosificación a principios de otoño (abril – mayo) contra Nemátodos y *F. hepatica* (Leguía, 1988; 1991b).

Sin embargo, se debe tener en cuenta que en explotaciones intensivas a base de pastos permanentes, la frecuencia de dosificaciones contra nemátodos gastrointestinales en terneros nacidos durante la primavera debe realizarse cada dos meses, a partir de los 30 días de su ingreso a las pasturas, hasta los 6 meses de edad, debido a los altos niveles de infección de las pasturas con larvas de nemátodos.

Asimismo, se debe tener en cuenta que luego de lograr la disminución o eliminación de los niveles de infección del medio ambiente, se debe reducir gradualmente la frecuencia de tratamientos hasta llegar virtualmente a cero, recomendándose, sin embargo, que la infección en animales y caracoles sea examinada periódicamente (Leguía, 1988).

2.2. Paramfistomosis

Es una infección parasitaria debida a la presencia y acción de varias especies de trematodos de la familia Paramphistomidae, alojados en el rumen, retículo, abomaso e intestino de los bovinos, ovinos y caprinos en pastoreo (Quiroz, 2000; Urquhart y Armour, 2001). La enfermedad está caracterizada por epidemias de gastroenteritis parasitaria aguda y pérdida de la producción asociada con alta mortalidad y morbilidad particularmente en animales jóvenes. Los trematodos de la familia Paramphistomidae incluyen varios géneros como *Paramphistomum*, *Cotylophoron*, *Calicophoron*, *Explanatum*, *Ugandocotyle* y *Gigantocotyle* (Soulsby, 1987). Es de distribución mundial, pero de escasa importancia veterinaria, excepto la forma intestinal aguda que es importante en áreas de clima tropical y subtropical (Kassai, 2002).

2.2.1. Taxonomía

Phylum:	Platyhelminthes (Schneider, 1872)
Subphylum:	Cercomeria (Brooks, 1982)
Superclase:	Cercomeridea (Brooks, Grady & Glen, 1985)
Clase:	Trematoda (Rudolphi, 1808)
Subclase:	Digenea (Van Beneden, 1858)
Orden:	Paramphistomiformes (Travassos <i>et al.</i> , 1969)
Superfamilia:	Paramphistomoidea (Stiles & Goldberger, 1910)
Familia:	Paramphistomidae (Fischoeder, 1901)
Subfamilia:	Paramphistominae (Fischoeder, 1901)
Género:	<i>Paramphistomum</i> sp.

Fuente: Travassos *et al.*, 1969

2.2.2. Características morfológicas

- **Huevos:** Los huevos son similares a los de *F. hepatica*, grandes y operculados (Urquhart y Armourt, 2001); sin embargo, son de color claro, a diferencia de *F. hepatica* que son de color amarillo, lo cual se adquiere por la localización de los parásitos adultos. Asimismo, los huevos son de mayor tamaño (115 a 175 x 75 a 100 micras) que los de *F. hepatica* (Barriga, 2002).
- **Miracidio:** Es la forma infectiva para el hospedero intermediario. El miracidio es ancho en su parte anterior con una papila móvil y una glándula apical, que permiten la penetración en el caracol (hospedero intermediario). Su tegumento se halla recubierto de cilios que permiten su desplazamiento en el agua (Soulsby, 1993; Cordero del Campillo *et al.*, 1999).
- **Esporocisto** Es la primera forma larvaria que se desarrolla dentro del molusco, es de forma sacciforme de 93 por 53 micras. Al cabo de 11 días los esporocistos ya están maduros y contienen cada uno de ellos un máximo de 8 redias (Borchert, 1981; Soulsby, 1993).
- **Redia:** Miden de 1, 2 por 0, 15 mm. de tamaño, los cuales después de 20 días, se liberan y producen las redias hijas, y alrededor de los 39 días, a nivel de las glándulas del intestino medio producen redias nietas
- **Cercaria:** Las cercarias maduras son de color marrón oscuro y poseen 2 manchas oculares. Miden de 350 x 280 micras (cercarías pigmentadas), que poseen una cola propulsora más larga que el cuerpo y una faringe de 50 micras. Las cercarias abandonan los caracoles en los momentos de gran claridad, en condiciones óptimas durante las horas de mayor intensidad solar nadan cerca de la superficie del agua de un lado para otro y se fijan a las plantas (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).
- **Metacercaria:** Forma quística infectiva, que son ingeridas por los animales que pastan. Los quistes, miden 250 micras, y están rodeados de unas membranas resistentes, una externa de estructura fibrosa y otra interna (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).
- **Paramphistomum adulto:** El color de los ejemplares adultos vivos es rojo claro o rosado (Olsen, 1977; Soulsby1987; Urquhart, 2001; Barriga, 2002). El cuerpo es piriforme, ligeramente cóncavo ventralmente y

convexo dorsalmente (Olsen, 1977; Soulsby, 1987). Así también, el cuerpo esta recubierto por un tegumento con papilas distribuidas por todas las regiones. Los vermes miden alrededor de 5 a 13 por 2 a 5 mm de diámetro (Soulsby, 1987). Dirksen (2005) menciona rangos de 5 a 10 mm de largo y 2 a 4 mm de ancho y Barriga (2002) señala rangos de unos 6 a 10 mm de largo por unos 3 a 5 mm de diámetro. Poseen una ventosa ventral terminal más grande y más potente que la oral (Cordero del Campillo *et al.*, 1999). La ventosa oral se encuentra en el polo anterior más delgado (Barriga, 2002). La abertura genital o poro genital se encuentra al final del primer tercio del cuerpo (Soulsby, 1987). Los testículos son ligeramente lobulados, localizados en la mitad posterior del cuerpo y anteriores al ovario (Olsen, 1977).

2.2.3. Hospederos

Al igual que en *F. hepatica*, el *Paramphistomum* sp. tiene como hospederos definitivos a los rumiantes, vacas, búfalos, ovejas y cabras, pero también pueden infectarse los rumiantes silvestres y como hospederos intermediarios a los caracoles, principalmente del género *Planorbis* y *Bulinus* (Urquhart y Armour., 2001). Se han realizado estudios sobre la infestación natural y experimental de caracoles de la familia Lymnaeidae, por estadios larvarios de la familia Paramphistomatidae (Percedo y Larramendy, 1989) destacando la significativa asociación entre la infestación por *F. hepatica* y trematodos de la familia Paramphistomidae lo que sugiere al mismo hospedador intermediario para ambos (Bouvry y Rau, 1984; Malone, 1986). En cuanto a la distribución de los caracoles predominan en África, Asia y Australia, las familias *Planorbidae* y *Bulinidae*, y en América y Europa la familia *Lymnaeidae* (Cordero del Campillo *et al.*, 1999) Tomando ejemplos de América, en Venezuela (Pino y Morales, 1982) y México (Castro *et al.*, 1990), *L. cubensis* se comportó como un eficiente hospedero intermediario de *C. cotylophorum* y *P. cervi* respectivamente, mientras que en Brasil *Drepanotrema* spp. y *Biomphalaria tenagophila* se mencionan como hospedero intermediario de *Paramphistomum* spp (Tonetto *et al.*, 2001).

2.2.4. Ciclo de vida

Cuando los huevos son eliminados, mezclados con las excretas del hospedero definitivo, al igual que en el caso de la Fasciola, requiere de un medio líquido para iniciar su desarrollo. El tiempo varía según la temperatura, aproximadamente de 12 a 21 días. Cuando los miracidios abandonan el huevo, nadan en el agua y penetran en un caracol acuático a través del neumostoma posterior de la cavidad del manto; también, pueden penetrar por las partes expuestas del caracol. Al respecto, los caracoles jóvenes son más receptivos que los mayores, porque la cavidad del manto está completamente llena de agua y la abertura pulmonar está siempre abierta. Posteriormente, los miracidios pierden los cilios superficiales y al cabo de unas 12 horas, se forma un esporocisto alargado 93 por 53 micras (Borchet, 1981; Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

El desarrollo en el caracol es similar al de *F. hepatica* y en condiciones favorables (26-30°C) puede completarse en cuatro semanas. Existe un gran desarrollo de los esporocistos al cabo de 11 días, encontrándose ya maduros y conteniendo cada uno de ellos un máximo de ocho redias, éstas se liberan y experimentan un notable crecimiento y, al cabo de unos 21 días post infestación, miden entre 0,5 y 1 mm de longitud, y contienen entre 15 y 30 cercarias. En ciertas condiciones se forman redias hijas. Cuando las cercarias son eliminadas de las redias, aún son inmaduras y necesitan un tiempo de maduración en los tejidos del molusco antes de ser eliminadas. Este periodo a 27°C es de 13 días (Soulsby, 1993).

Las cercarias son eliminadas del caracol cuando se estimulan con la luz. Las cercarias liberadas son fácilmente reconocibles como “anfistoma” por la presencia de la ventosa oral y la posterior. Son activas por algunas horas, y luego se enquistan en la vegetación u otros objetos que se encuentran en el agua. Al cabo de unos 10 minutos, el enquistamiento se ha completado, y las nuevas metacercarias se oscurecen hasta ser casi negras. La viabilidad de esta fase se mantiene durante un periodo de alrededor de tres meses (Borchet, 1981; Cordero del Campillo *et al.*, 1999)

Después de la ingestión de las metacercarias enquistadas con la hierba, todo el desarrollo en el hospedero definitivo tiene lugar en el tracto digestivo. Después de desenquistarse en el duodeno, las fases juveniles se fijan y alimentan en dicha localización durante aproximadamente seis semanas antes de desplazarse hacia los preestómagos donde alcanzan la madurez. El periodo de prepatencia oscila entre 7 y 10 semanas (Soulsby, 1993; Urquhart y Armour, 2001).

2.2.5. Epidemiología

2.2.5.1. Prevalencias

Los paramfistomas tienen una distribución mundial, pero la enfermedad se presenta con mayor frecuencia en regiones más cálidas, especialmente Austria, África y la India. Entre las especies más comunes tenemos a *Paramphistomum cervi*, *P. microbothrioides*, *P. liorchis*, *P. ichikawai*, *P. microbothrium*, *Calicophoron calicophoron*, *Ceylonocotyle streptocoelium*, *Calicophoron calicophorum* y *Cotylophoron cotylophorum* (Radostis et al., 2002).

A menudo, los brotes ocurren en animales pastando en zonas que habían estado anegadas y donde las aguas se han retirado recientemente (épocas de sequía) dejando los pastos cargados de metacercarias, o durante las lluvias de otoño que reactivan los caracoles en estivación. Estas condiciones favorecen la proliferación de los caracoles y la contaminación de los pastos con metacercarias (Barriga, 2002).

En la actualidad son escasos los estudios realizados sobre la distribución de *Paramphistomum* en nuestro país, Tantaleán et al., (1975) describe al *Paramphistomun cervi*, en la región de Loreto en un estudio realizado para la detección de trematodos en nuestro país. En 1999 Trigueros notifica la presencia de *Paramphistomum* sp. en un grupo de ovinos de un centro productor de Pucallpa.

2.2.5.2. Formas de presentación

La enfermedad desarrolla una forma intestinal, provocada por trematodos inmaduros migratorios y una forma ruminal determinada por trematodos maduros (Dirksen *et al.*, 2005).

a. Paramfistomosis aguda o intestinal

La paramfistomosis intestinal es causada por paramfistomas migratorios. presenta riesgo de infección el ganado bovino y en menor grado el ovino. Se observa solamente en infecciones masivas, especialmente en animales jóvenes; mientras que los animales mayores que son capaces de soportar las exposiciones masivas a las formas parasitarias, contaminan los pastos con huevos (Soulsby, 1993).

La evolución es de 2-3 semanas en el ganado vacuno. Los síntomas principales: diarrea, anorexia, sed, anemia, hipoalbuminemia, edema y emaciación. En este caso la mortalidad puede ser elevada (Cordero del Campillo *et al.*, 1999)

b. Paramfistomosis crónica o ruminal

Los trematodos adultos sexualmente maduros no están asociados con la enfermedad clínica y han sido descritos como comensales que viven en el contenido ruminal del hospedador (Dirksen *et al.*, 2005). Es la forma típica de la infección. Los trematodos adultos fijados a la mucosa del rumen y retículo son bien tolerados y habitualmente no se observan síntomas. Se puede desarrollar inmunidad, que proporciona protección parcial frente a infecciones posteriores, especialmente en ganado vacuno, aunque los trematodos adultos continúan produciendo huevos (Kassai, 2002).

2.2.6. Signos clínicos

Las primeras manifestaciones clínicas se ponen de manifiesto a las 2 semanas de la infección como diarrea fétida y profusa, anorexia importante, pérdida de peso e incluso muerte. Los animales beben agua frecuentemente producto de la deshidratación. En los animales adultos disminuye la producción

láctea. Los trastornos producidos por los vermes adultos fijados a la mucosa de la panza son menores que los originados por las fases juveniles emigrantes, que pueden producir gastroenteritis combinadas con diarreas sanguinolentas, sobre todo en el ganado vacuno joven (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

En infecciones masivas del duodeno, el síntoma más obvio es diarrea acompañada por anorexia y sed intensa. En ocasiones, en el ganado vacuno se produce hemorragia rectal. La mortalidad en los brotes agudos puede alcanzar el 90% (Urquhart y Armou., 2001).

Un factor importante, desde el punto de vista patogénico, es la actividad ejercida por los estados inmaduros del parásito en la primera parte del intestino delgado. Las formas inmaduras salen del quiste en el intestino delgado y penetran en la mucosa causando erosiones, petequias y necrosis. Estas lesiones causan trastorno intestinal con pérdida de apetito que en ocasiones llega a anorexia completa. Al mismo tiempo se produce una pérdida plasmática, desarrollándose una hipoalbuminemia. Esta pérdida proteica unida a la reducción del apetito causa importantes consecuencias fisiopatológicas. Además la baja concentración de proteínas plasmáticas desencadena el desarrollo de edemas generalizados. De esta manera se observa diarrea, reducción del apetito a tal grado que puede llegar a anorexia completa; como consecuencia de la anorexia hay pérdida de peso y disminución de la condición corporal, hidropericardio, hidrotórax, edema submandibular, atrofia de la grasa corporal y ascitis, entre otros signos. Finalmente puede ocurrir la muerte, o de lo contrario, el animal sobrevive con cierto grado de atrofia muscular (Quiroz, 1980; Cordero del Campillo *et al.*, 1999; Radostis *et al.*, 2002).

El curso agudo en ovinos y cabras es de 5 a 10 días y en bovinos de 2 a 3 semanas. La morbilidad y la mortalidad son altas. Durante la paramfistomosis crónica, la principal manifestación como consecuencia de la mala digestión de los alimentos es el retardo en el crecimiento y deficiente estado nutricional del animal. Otras veces hay formación de edema intermaxilar, y ascitis (Quiroz, 1980; Radostis *et al.*, 2002).

2.2.7. Lesiones

Las lesiones dependen del número de tremátodos migratorios y su gravedad varia desde una enteritis local, atrofia de las vellosidades, hasta una grave destrucción de la mucosa (Urquhart y Armour, 2001).

Los efectos clínicos dependen de la extensión de las lesiones ya que en el tramo distal del intestino delgado no lesionado se puede producir un fenómeno de compensación de las deficiencias funcionales. La presencia de trematodos adultos en el rumen no suele implicar una respuesta significativa, pero en infecciones masivas las papilas son cortas y de color rojo, y éstas pueden fusionarse para formar grupos sobre cuya superficie se adhiere firmemente al contenido ruminal (Radostis *et al.*, 2002).

En casos crónicos hay atrofia del bazo, atonía ruminal y atrofia muscular. Los ganglios linfáticos se encuentran edematosos y los grandes vasos sanguíneos se encuentran congestionados. Un fluido seroso claro reemplaza a la grasa peritoneal (Urquhart y Armour, 2001).

En cuanto a las lesiones microscópicas, en el rumen hay proliferación de epitelio en las zonas que rodean al parásito y una evidente proliferación del epitelio estratificado escamoso de las papilas, así como signos de degeneración. Asimismo, se ha encontrado edema en la capa epitelial e infiltración linfocitaria en la lámina propia y algunas veces el epitelio de las criptas de Lieberkühn están descamadas y necróticas; los capilares de las vellosidades están congestionadas, distendidas y algunas veces rotas. Las glándulas Brunner están distendidas e infiltradas de eosinófilos, linfocitos y células plasmáticas (Quiroz, 2000).

2.2.8. Patogenia

Los trastornos clínicos producidos por los vermes adultos fijados a la mucosa del rumen son menores que los originados por las fases juveniles migrantes (Borchert, 1981; Urquhart y Armour, 2001) por lo cual los efectos patógenos están asociados con la fase intestinal de la infección. Las fases

juveniles son histiófagas, lo que origina graves erosiones en la mucosa del duodeno. En infecciones masivas provocan enteritis caracterizada por edema, hemorragias y úlceras. En la necropsia, las fases juveniles aparecen apiñadas, de color rosa pardo y unido a la mucosa duodenal y ocasionalmente en el yeyuno y abomaso. Los parásitos adultos situados en el preestómago son bien tolerados, incluso aunque existan varios miles de trematodos adultos y se alimentan de la pared del rumen o retículo (Urquhart y Armour, 2001).

2.2.9. Inmunidad

Diversos factores determinan o intervienen en la respuesta inmune, por ejemplo el número de metacercarias en la primo-infestación, el número de parásitos en el rumen y el tamaño de estos. Al respecto, se han utilizado metacercarias irradiadas que producen infestación intestinal pero no ruminal, dando lugar a una fuerte respuesta inmune a la infestación (Quiroz, 1980)

La paramfistomosis es una enfermedad de animales jóvenes, en los que pequeñas infecciones sucesivas producen una inmunidad completa. Esto se produce cuando los parásitos jóvenes o inmaduros yacen incrustados en la mucosa del duodeno y yeyuno y hasta en la muscular de la mucosa, así como en los folículos linfáticos, infiltrados gelatinosos aparecen en la pared intestinal y en el mediastino, existiendo también enteritis hemorrágica, y destrucción de las células glandulares y nerviosas (Borchet, 1981). La inmunidad tiene como resultado no sólo una marcada reducción del número de parásitos, sino también una protección del efecto letal que esta parasitosis ejerce sobre el hospedero (Urquhart y Armour, 2001).

En el ganado vacuno se desarrolla una buena inmunidad, por lo que los brotes de la enfermedad están habitualmente restringidos a los animales jóvenes. Sin embargo, los adultos albergan un escaso número de parásitos adultos. Por el contrario, el ganado ovino y caprino es relativamente sensible a cualquier edad (Urquhart y Armour, 2001).

2.2.10. Diagnóstico

El diagnóstico se basa en los signos, siendo los más característicos: anorexia, polidipsia y diarrea con olor fétido; así también es basado en la historia de exposición a pastos sospechosos, y la presencia de tremátodos juveniles (rosados y de 1-3 mm de largo) en las heces diarreicas (Urquhart y Armour, 2001; Barriga, 2002).

Como el daño lo producen las formas inmaduras, a menudo no se encuentran huevos en las heces de los animales enfermos. La necropsia puede mostrar el daño típico de la mucosa y los parásitos juveniles (Barriga, 2002).

La presentación en novillos ocasiona una enteritis grave, sin fiebre, en condiciones ambientales favorables a la propagación de los trematodos y donde se encuentran los caracoles hospederos se debe sospechar de una paramfistomosis intestinal. La confirmación de trematodos inmaduros en las heces o la necropsia debe ser muy cuidadoso ya que es fácil pasar por alto los pequeños parásitos (Radostis *et al.*, 2002).

En el diagnóstico de laboratorio para confirmar formas juveniles se necesita un examen coproparasitológico; se recomienda un homogenizado de 100 gr. de heces, lavadas en tamiz de 53 micras de abertura. El residuo se puede examinar microscópicamente o macroscópicamente sobre un recipiente con fondo negro en donde aparecen trematodos, observándose como puntos de color rosa con su gran acetábulo (Quiroz, 2000)

Se han empleado diferentes pruebas serológicas. Extractos antigénicos de gusanos adultos e inmaduros y de metacercarias, pueden emplearse en pruebas intradérmicas (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

Una reacción cutánea de color rojo oscuro, rodeada de una zona edematosa dentro de los 30 minutos que sigue a la inoculación en la región axilar de los antígenos mencionados, denota signos de positividad (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

También se ha usado la fijación del complemento y pruebas de precipitación alrededor de parásitos vivos (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

Últimamente la inmunofluorescencia y el enzimoimmunoensayo (ELISA), empleando como antígeno extracto de vermes adultos, ofrecen resultados aceptables (Cordero del Campillo *et al.*, 1999)

2.2.11. Diagnóstico diferencial

Es importante establecer el diagnóstico diferencial fundamentalmente con la fasciolosis. Los resultados de la coprología podrían inducir a error por la similitud de los huevos de ambos trematodos; por otro lado, en las pruebas serológicas se producen reacciones cruzadas. Por todo ello, la interpretación de lesiones y sobre todo el hallazgo de los trematodos durante la necropsopia resultan ser definitivos (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

2.2.12. Tratamiento

Para el tratamiento de las formas adultas se utilizan el hexaclorofeno, suspensión de Hexacloroetano en bentonita, tetraclorodifluoretano y rafoxanide, en dosis de 8 a 10 mg/Kg. (Quiroz, 2000; Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

Para el tratamiento de formas inmaduras y adultas de *Paramphistomum* sp. se emplean el Bitionol, en la dosis de 25-100mg/Kg. pv., y Resorantel, en la dosis de 65 mg/Kg. pv. El empleo de Bitionol en dosis elevadas causa toxicidad (Barriga, 2002)

Para el tratamiento de infecciones mixtas de *Fasciola* sp. y *Paramphistomum* sp., se emplean la oxiclosanida a dosis de 15 mg/Kg. p.v; el uso de tricabendazole, elimina las fases inmaduras de ambos parásitos. Así mismo el rafoxanide, nitroxinil, clorsulon y niclofolan son drogas que se vienen comercializando en algunos países y son empleadas en el tratamiento de la Paramfistomosis; el albendazol también es eficaz aunque a dosis elevadas (Barriga, 2002).

En vacas lecheras cuya leche se destina para el consumo humano los anteriores fármacos están prohibidos o tienen periodos de retiro prolongado en la mayoría de países. Una excepción es la oxiclosanida, que se comercializa para uso en bovinos lecheros en muchos países y tiene un periodo de retiro de leche de tres días (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

En Argentina son pocos los productos disponibles y la eficacia de los paramfistomicidas es en general baja (Cuadro 3). El triclabendazole a 10 mg./Kg. es eficaz contra formas maduras e inmaduras de *F. hepatica*, pero a esta dosis resultó ineficaz frente a estadios migrantes de Paramfistómidos en ovinos (50 % de eficacia a una dosis 10 veces mayor) (Rolfe *et al.*, 1987).

Cuadro 3: Eficacia de drogas trematodocidas en ovinos, disponibles en el mercado argentino			
Droga	Dosis (mg/Kg.)	Eficacia evaluada en ovino (%)	
		Intestino Delgado	Rumen
Albendazole	20	99	-
Fenbendazole	4.4	-	0
Niclosamida	50	94.2-99.7	-
	90	99.90	18.20
	100	99.80	0
Nitroxynil	10	0	0
Praziquantel	10	0	0
Triclabendazole	10	0	0
	100	44.90	0

Fuente: adaptado de Rolfe y Boray (1987) y Horak (1967)
 -: sin evaluación para ese caso.

2.2.13. Inmunoprolifaxis

La vacunación experimental contra diversas especies de *Paramphistomum* se ha ensayado en hospedadores naturales mediante la administración de metacercarias γ -irradiadas, registrándose significativas resistencias frente a infecciones ulteriores (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

2.2.14. Importancia Económica

Existen pérdidas económicas importantes en regiones trópicas y subtropicales, encontrándose porcentajes de letalidad del 30 al 70% en Israel, Sudáfrica, India, Australia y América. A diferencia de la invasión masiva del rumen por parásitos sexualmente maduros, donde se producen mermas en el rendimiento, así como adelgazamiento del animal (Dirksen *et al.*, 2005)

2.2.15. Prevención y control

El control debe integrar las acciones quimioterapéuticas con la prevención de la entrada de los animales a los lugares poblados por hospederos intermediarios, especialmente en las épocas que determinan los patrones locales de transmisión, lo que se puede conseguir con el establecimiento de simples barreras mecánicas o rotación de pasto (Dirksen, 2005).

Hasta el momento, no se han desarrollado esquemas de tratamientos profilácticos contra la paramfistomosis como existe para la fasciolosis. El control consiste en evitar la exposición de los rumiantes a pastos sospechosos, tratarlos periódicamente, o en controlar los caracoles (Barriga, 2002).

Debido a que el hospedero intermediario son caracoles, las ovejas y vacas deben pastar en pastos altos; se deben vallar las zonas en las que haya agua, o bien tratar el hábitat de los caracoles con molusquicidas. El drenaje de estanques y chacras constituye una medida de control más permanente (Soulsby, 1993).

Cuando aparece un brote es fundamental alejar a los animales de los pastos infestados ya que las metacercarias pueden persistir viables en los pastos hasta 2 o 3 meses después de que el agua se haya secado en zonas inundadas y los animales susceptibles se deben mantener alejados durante el período de riego (Quiroz, 2000)

En las zonas donde *Paramphistomum* sp. es un problema constante, la administración de un tratamiento entre los picos máximos estacionales de metacercarias debería reducir la cantidad de huevos que caen a los pastos y reducir así las posibilidades de infección de los caracoles. Sin embargo, este sistema aún no se ha llegado a probar sobre el terreno (Radostis *et al.*, 2002).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. Población y área de estudio

La población animal en estudio estuvo conformada por ganado lechero de razas criollas pertenecientes a los distritos de Oxapampa, Chontabamba y Huancabamba, de la provincia de Oxapampa, departamento de Cerro de Pasco; los cuales se encuentran ubicadas entre los 1,666 a 2,000 m.s.n.m., presentando un clima húmedo y cálido con temperaturas promedio anual que oscilan entre 18° C y 27° C; y con precipitación promedio de 1800 mm. (Municipalidad Oxapampa, 2007).

Cuadro 4: Características geofísicas de los distritos de la provincia de Oxapampa

Distrito	Altitud (m.s.n.m.)	Superficie (Km²)	Precipitación Promedio (cc)
Oxapampa	1,814.0	982.04	18.7
Chontabamba	2,000.0	364.96	19.0
Huancabamba	1,747.0	1, 161.78	18.5

(Municipalidad Oxapampa, 2007).

3.2. Tamaño muestral

La población de ganado vacuno en los distritos de Oxapampa, Chontabamba y Huancabamba se hallaba en 12,992 cabezas (III Censo Nacional Agropecuario, 1994) y al no contar con estudios previos en esta zona,

respecto a la prevalencia de alguno de estos trematodos, se optó por tomar la proporción de 0.5 para hallar el tamaño mínimo muestral, mediante la fórmula de proporciones para poblaciones infinitas (Daniel, 1996).

Donde:

$$n = \frac{z^2 p (1 - p)}{d^2}$$

donde:

- n : Tamaño de muestra
- z : Nivel de confianza estandarizada 1.96 (95% de coeficiente de confianza)
- p : Proporción desconocida 0.5
- d : Precisión o error máximo permisible 0.05

Se obtuvo un tamaño muestral mínimo de 385 animales. Asimismo, se realizó la estratificación de las muestras, según lugar de procedencia de acuerdo a las poblaciones de los tres distritos de la provincia de Oxapampa.

Estratificación:

$$nk = \frac{NK}{N} \cdot n$$

donde:

- nk : Tamaño de muestra por estratos
- Nk : Población del estrato k
- N : Población total (12 992)
- n : Tamaño muestral (385)

Cuadro 5: Estratificación y tamaño muestral, según lugar de procedencia. Cerro de Pasco. 2006

Distrito	Población de Estratos	Tamaño de muestras
Oxapampa	4739	141
Chontabamba	2441	72
Huancabamba	5812	172
TOTAL	12992	385

3.3. Toma de muestras

Las muestras fueron tomadas durante los meses de mayo y noviembre del 2006 (época de lluvia), extrayéndose aproximadamente 45 g. de heces del recto del animal con ayuda de guantes obstétricos o bolsas de plástico, las cuales fueron identificadas de inmediato anotando la fecha de muestreo, sexo, edad del animal (dentadura), lugar de procedencia. Las muestras fecales fueron almacenadas con refrigerante en una caja aislante y luego fueron trasladados al Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, para su procesamiento.

3.4 Técnica coproparasitológica

Para diagnosticar si una muestra era positiva a *F. hepatica* o a un Paramfistómido, se usó el método de sedimentación rápida (Tello, 1988).

3.4.1. Técnica de Sedimentación rápida

- Pesar aproximadamente 3 g. de heces en un beacker.
- Añada 40 – 50 ml de agua corriente en el beacker con las heces.
- Mezcle y homogenice.
- Filtre la suspensión de heces a través de un colador o de una capa doble de gasa en otro beacker de 50 ml.
- Ponga el filtrado en un tubo de prueba.
- Permita que la solución sedimente durante 5 minutos.
- Remueva el sobrenadante con una pipeta muy cuidadosamente,
- Resuspenda el sedimento con 5 ml. de agua.

- Permita que sedimente durante 5 minutos.
- Descarte el sobrenadante cuidadosamente con una pipeta Pasteur.
- Tiña el sedimento añadiendo unas gotas de azul de metileno.
- Transfiera el sedimento a un portaobjeto y cubra con un cubreobjeto.

3.4.2. Lectura

Una muestra fue considerada positiva a la evaluación, a partir de la observación de un huevo típico de *F. hepatica* (forma ovoide, opérculo, color amarillo brillante y medidas de 120 x 70 µm.), de huevo típico de un Paramfistómido (forma ovoide, opérculado, transparente y medidas de 114 x 73 µm.). Para diferenciar el huevo de estos dos parásitos se utilizó la coloración de Azul de Metileno que permite visualizar la membrana del *Paramphistomum* de color azul verdusco, mientras que el huevo de *F. hepatica* conserva su color amarillo (Ueno, 1998)

3.5. Análisis de datos

3.5.1. Prevalencia

Una vez determinado el número de muestras fecales positivas, se calculó la prevalencia de la enfermedad haciendo uso de la siguiente fórmula:

$$P = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de positivos}}{n} \times 100$$

donde:

P : Prevalencia

n : Tamaño muestral

3.5.2. Intervalo de confianza

Los resultados obtenidos fueron expresados con intervalos de confianza del 95%, usando la siguiente fórmula:

$$IC = z \sqrt{\frac{p q}{n}} \times 100$$

donde:

IC : Intervalo de confianza

z : 1.96 (nivel de Confianza)

p : Prevalencia

q : 1-p

n : Tamaño de la muestra

3.5.3. Análisis Estadístico:

Para la evaluación de las variables (grupo etario y zona de procedencia), como factores de riesgo para la infección de *F. hepática* y de un Paramfistómido, se utilizó la prueba de regresión logística; empleando para ello el software estadístico STATA 9.

IV RESULTADOS Y DISCUSION

La Fasciolosis es una de las parasitosis más estudiadas y con una amplia distribución en diferentes zonas de nuestro país. Reportes previos, muestran la presencia de la enfermedad con moderados y altos porcentajes en los departamentos de Junín, Huanuco, Huancavelica y Pasco, con prevalencias de 39, 21.6, 43 y 10.2%, respectivamente (Manrique y Cuadros, 2002).

Las prevalencias obtenidas para *F. hepatica* y para un digeneo de la Familia Paramphistomidae, en tres distritos de la provincia de Oxapampa fueron de 10 ± 2.9 y $28.4 \pm 4.4\%$, respectivamente (Cuadro 6); siendo los datos similares a los reportados para *Fasciola hepatica* en Pasco como lo menciona Manrique y Cuadros (2002). Sin embargo, no existen estudios previos que demuestren la prevalencia de algún paramfistómido en nuestro país; ya que los estudios previos solo se basaron en la identificación de especímenes hallados en animales domésticos (Tantaleán *et al.*, 1975; Trigueros, 2003). No obstante estudios paralelos que se vienen ejecutando en el Laboratorio de Parasitología de la FMV-UNMSM, indican también prevalencias elevadas (44.2%), de un paramfistómido en bovinos del distrito de Yurimaguas, Iquitos (R. Pinedo, comunicación personal). Estos resultados no pueden ser comparados por las diferencias geográficas que existen en ambos lugares, sin embargo indican el incremento de este parásito en la ganadería de nuestro país.

Además, estos resultados justificarían la realización de nuevos estudios epidemiológicos, en las áreas evaluadas y en las colindantes que permitan discernir diversas incógnitas entre ellos lo referente a los hospederos intermediarios, identificación de la especie de Paramfistómido presente en esa zona, importancia económica de esta parasitosis, dado que en nuestro país sólo han sido reportados los géneros *Paramphistomum* (Tantaleán *et al.*, 1975; Trigueros, 2003) y *Cotylophoron* (M. Tantaleán, comunicación personal). También existen reportes en Venezuela donde se halló una prevalencia del 44.2% en el *Cotylophoron* (Forlano *et al.*, 2001).

Por otro lado, es posible que prevalencias de *F. hepatica* halladas en otras regiones con geografía similar al presente estudio y donde existan la convivencia simultánea de ambos trematodos, se encuentren sobreestimada, dado que para el diagnóstico del distoma hepático se usan métodos coproparasitológicos convencionales y es probable llegar a un error en el diagnóstico, sino se cuenta con experiencia en diferenciar los huevos de ambos tremátodos (Borchert, 1981).

Respecto a las prevalencias de ambos tremátodos según la zona de procedencia de los animales (Cuadro 6), Oxapampa, presentó una prevalencia mayor a ambos parásitos; sin embargo los resultados no mostraron una diferencia estadística significativa en los tres distritos. Esto puede deberse a las condiciones epidemiológicas favorables de temperatura y humedad presentes en la zona que fluctúan entre 18°C e 30°C durante el año, las cuales son ideales para el desarrollo del hospedero intermediario durante todo el año.

Asimismo la prevalencia de *Fasciola hepatica* y de un Paramfistómido según estrato etario (Cuadro 7), no mostraron diferencia estadística significativa entre los grupos muestreados, esto se debió a la edad adulta de la casi totalidad de los animales evaluados (mayores de 2 años), no pudiéndose apreciar diferencias, como posiblemente hubiese ocurrido con animales jóvenes, en los cuales debido a un sistema inmune menos desarrollado, presentarían una mayor carga parasitaria (Urquhart *et al.*, 2001).

Así mismo en un estudio de prevalencia de *F. hepatica* en ovinos y bovinos, mediante pruebas coprológicas en animales Ticona (2007) no encontró diferencias estadísticas en los grupos etarios en animales menores y mayores de 4 años en Vilcashuamán-Ayacucho.

Asimismo, respecto al tipo de asociación parasitaria por tremátodos en los bovinos evaluados (Cuadro 8), se observó que presentaron infección única por *F. hepatica* y por un paramfistómido en un 2.7 % y 21.1%, respectivamente; mientras que presentaron una infección mixta para ambos tremátodos en un 7.4%. Estas diferencias en los resultados reflejan un incremento en el Paramfistómido posiblemente debido a que en los últimos años, los ganaderos de Oxapampa han demostrado mayor interés en mantener a su animales sanos frente a *Fasciola hepatica* y realizan desparasitaciones frecuentes, utilizando antiparasitarios de amplio espectro como el albendazol, el cual es muy efectivo para el control de nematodos, pero sólo llega a controlar los estadios adultos de *Fasciola*, no así para sus formas inmaduras; menos aun es efectivo para el tremátodo de la familia Paramphistomidae, los cuales requieren de dosis más elevadas para su tratamiento (Barriga, 2002).

Estudios preliminares en el tratamiento de la paramfistomosis utilizando drogas fasciolicidas a dosis estándar en ovinos y bovinos no mostraron reducción del número de huevos en las heces de los animales tratados. La eficacia esperada según la bibliografía frente a inmaduros es muy baja o nula para estos casos, incluso a dosis varias veces superiores. Resultados más actualizados provienen de experiencias llevadas a cabo por Rolfe y Boray (1987) donde el resorantel a 65 mg/Kg y un compuesto butilbenziazol terciario a 25 mg/Kg, resultaron los únicos paramfistomicidas para adultos (ambos 100% de eficacia) y para juveniles (95% y 99.7% de eficacia respectivamente).

Además, es preciso señalar que las pruebas coproparasitológicas para el diagnóstico de trematodos, sólo diagnostican sus estadios adultos; por lo que tienen una baja sensibilidad; al diagnosticar sólo la presencia de huevos en heces, no así las formas juveniles del distoma (Torrel, 1997; Quiroz, 2000), con

lo que se podría dejar un margen de positivos no detectados, pudiendo existir un porcentaje de animales falsos negativos, que incrementarían los valores hallados en el presente estudio.

Cuadro 6: Prevalencia de *Fasciola hepatica* y de un Paramfistómido en bovinos, según zona de Procedencia, Oxapampa. 2006

Lugar de procedencia	Total	<i>Fasciola hepatica</i>		Paramfistómido	
		(+)	(%) ± IC*	(+)	(%) ± IC*
Huancabamba	177	16	9.0 ± 4.2	33	18.6 ± 5.8
Chontabamba	74	4	5.4 ± 5.0	22	29.7 ± 10.4
Oxapampa	157	21	13.4 ± 5.3	61	38.9 ± 7.6
TOTAL	408	41	10.0 ± 2.9	116	28.4 ± 4.4

* Intervalo de confianza del 95%

Cuadro 7: Prevalencia de *Fasciola hepatica* y de un Paramfistómido en bovinos, según estrato etáreo, Oxapampa. 2006

Estrato etáreo (años)	Total	<i>Fasciola hepatica</i>		Paramfistómido	
		(+)	(%) ± IC*	(+)	(%) ± IC*
2-4	133	10	7.5 ± 4.6	28	21.1 ± 6.9
>4-6	130	13	10.0 ± 5.2	40	30.8 ± 8.0
>6	145	18	12.4 ± 5.3	48	33.1 ± 7.7

* Intervalo de confianza del 95%

Cuadro 8: Porcentaje de Asociación parasitaria por tremátodos en bovinos de Oxapampa. 2006

TOTAL	<i>Fasciola hepatica</i>		Paramfistómido		Parasitosis mixta	
	(+)	(%) ± IC*	(+)	(%) ± IC*	(+)	(%) ± IC*
408	11	2.7 ± 1.7	86	21.1 ± 3.4	30	7.4 ± 2.5

* Intervalo de confianza del 95%

Cuadro 9: Evaluación de las variable lugar y estrato etáreo, como factores de riesgo para la infección por *F. hepatica* y un Paramfistómido en bovinos lechero, en 3 distritos de Oxapampa, Pasco. 2006

Variable	<i>Fasciola hepatica</i>				Paramfistómido			
	Odds ratio	P> z	Intervalo de confianza 95%		Odds ratio	P> z	Intervalo de confianza 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
Lugar								
Oxapampa	1	---	---	---	1	---	---	---
Chontabamba	2.70	0.079	0.89	8.18	1.50	0.179	0.83	2.71
Huancabamba	1.74	0.338	0.56	5.39	0.54	0.055	0.29	1.01
Estrato etáreo (Años)								
2 - 4	1	---	---	---	1	---	---	---
5 - 6	1.36	0.478	0.58	3.24	1.67	0.073	0.95	2.91
> de 6	1.74	0.180	0.77	3.93	1.86	0.025	1.08	3.19

A la regresión logística, para el análisis de las variables como posibles factores de riesgo para la infección de *Fasciola* y Paramfistómido solo se encontró que la variable del estrato erario (> 6 años) para Paramfistómido constituye un factor de riesgo (cuadro 9) .La evolución del nivel de significancia ($P < 0,005$) y los intervalos de confianza del Odds ratio > 1 constituyen los criterios para determinar que una variable constituye un factor de riesgo siendo la edad menores de (2-4) el valor basal, los resultados en edad de los bovinos expresan 1.08 y 3.19 veces más riesgo de tener Paramfistómido cuando son más de 6 años siendo significativo 0.025, estos resultados se asume que por tener más tiempo de vida expuestos a la infección del parásito.

IV CONCLUSIONES

- La prevalencia de *Fasciola hepatica* y de un Paramfistómido, en el ganado lechero de 3 distritos de la provincia de Oxapampa, Pasco, fue 10.0 ± 2.9 y 28.4 ± 4.4 % respectivamente.
- El análisis mediante la prueba de regresión logística no reporto asociación entre la presencia de *Fasciola hepatica* y del paramfistómido con la variable lugar de procedencia
- El análisis de regresión logística no mostró asociación entre *Fasciola hepatica* y la edad de los animales; sin embargo para el paramfistómido si se observó significancia para el grupo etáreo de animales mayores de 6 años, quienes presentaron mayor probabilidad de encontrarse infectados que los animales más jóvenes ($p < 0,05$).

V RECOMENDACIONES

- Realizar estudios que demuestren la distribución e implicancia real de la Paramfistomosis en el ganado de nuestro país.
- En los diagnósticos coproparasitológicos de tremátodos se debe tener cuidado con la presentación conjunta de ambos tremátodos hallados en el estudio, para evitar errores en el diagnóstico.
- Realizar estudios que identifiquen el hospedero intermediario del Paramfistómido y de la *F. hepatica*, en la zona estudiada.

VI BIBLIOGRAFÍA CITADA

- 1) **Acha P, Szyres B. 2003.** Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales 3ª ed. Washington: OPS. 413p.
- 2) **Barriga O. 2002.** Las Enfermedades Parasitarias de los animales domésticos en la América latina. 2ª ed. Santiago: Germinal. 247p.
- 3) **Becerra M. 2001.** Consideraciones sobre estrategias sostenibles para el control de *Fasciola hepática* en Latinoamérica. Universidad de Pamplona, Colombia. Rev Col Cienc Pec Vol. 14(1):31-32 p.
- 4) **Bendezú P, Landa A. 1974.** Distomatosis Hepática, Epidemiología y Control, Bol.Div.Nº 14, 1-32 p.
- 5) **Borchert A. 1981.** Parasitología Veterinaria. 3ª ed. Zaragoza: Acribia. 745 p.
- 6) **Boulard CM, Bouvry G, Argente. 1985.** Comparaison de la detection des foyers de fasciolose par test ELISA surlactosérum et sérum et par coproscopie. Ann Rech Vet 16: 363 -368.
- 7) **Bouvry M, Rau M. 1984.** *Paramphistomum* sp. In dairy cattle in Quebec. Can Vet J 25 (9): 353-356.
- 8) **Cáceres E. 1989.** La *Fasciola hepatica* Enfermedad y Pobreza Campesina. OCC.S.D. Organización Canadiense para la Solidaridad y el

Desarrollo- Canadá - H.U.I. Salud Sin Limites – Inglaterra. F.S.E. Fondo Social de Emergencia- de la Presidencia de la República. La Paz: 89p.

- 9) **Castro L, García Z, Casildo J. 1990.** The susceptibility of Lymnaeid snails to *Paramphistomum cervi* in Mexico. *Veterinary Parasitology* 35: 157-161.
- 10) **Cordero del Campillo M, Rojo FA, Sánchez C, Hernández S, Navarrete J, Diaz P, Quiroz H, Carvalho M. 1999.** *Parasitología veterinaria*. Madrid: McGraw-Hill Interamericana. 968p.
- 11) **Daniel D. 1996.** *Bioestadística Base para el análisis de las ciencias de la salud*. 5ªed. México: Limusa. 878p.
- 12) **Díaz E, Rojas J. 2004.** Helminthosis que causan pérdidas económicas por decomisos en animales beneficiados en el camal de Cajamarca. Libro Resum XXVII Reunión científica APPA. 150p.
- 13) **Dirksen GH, Dieter M, Stober. 2005.** *Medicina interna y cirugía del bovino*. 4ª ed. Argentina: Intermedica. 632p.
- 14) **Espino A, Borges A, Duménigo B. 2000.** Coproantígenos de *Fasciola hepatica* de posible utilidad en el diagnóstico de la fascioliasis. *Rev. Panam. Salud Pública*. 7(4): 225-231.
- 15) **Farrel CT, Shen T, Wescott R, Lang B. 1981.** An enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of *Fasciola hepatica* infection in cattle. *Am. J. Vet. Res.* 42: 237-240
- 16) **Forlano MD, Henríquez RH, Meléndez RD. 2001.** Incidence and prevalence of *Cotylophoron* spp (Trematoda: Digenea) in cattle at Asentamiento Campesino “Las Majaguas”, Portuguesa State, Venezuela. *Gac Vet* 7: 51-58

- 17) **González C, 2003** Frecuencia y caracterización: Anatómo-Histopatológica de las lesiones encontradas en bovinos con Hematuria en Oxapampa – Pasco.
- 18) **Horak IG. 1967.** Host – Parasite relationships of Paramphistomum microbothrium (Fischoeder, 1901), in experimentally infested ruminants, with particular reference to sheep. J. vet. Res. 34 (2): 451-540.
- 19) **Kassai T. 2002.** Helminología Veterinaria 1^a ed. Zaragoza: Acribia. 258p.
- 20) **Leguía G. 1988.** Distomatosis hepática en el Perú: Epidemiología y Control. Ciba Geigy – Hoesch. Lima, .42p.
- 21) **Leguía G 1991a.** Parasitismo Gastrointestinal y Pulmonar en Vacunos, Ovinos y Alpacas. Ciba Geigy – Hoesch. Lima 25p.
- 22) **Leguía G. 1991b.** La distomatosis en el Perú, En: Zooparásitos de interés veterinario en el Perú. p 3-5. S.R. Zaldívar (eds.). Ed. Ministerio de Salud. Lima.
- 23) **Leguía G, Casas E. 1999.** Distomatosis hepática. Enfermedades parasitarias y Atlas Parasitológico de Camélidos Sudamericanos. Ed: del Mar, Lima p. 40-63.
- 24) **Malone J. 1986.** Fasciolosis and cestodiasis in cattle. Vet. Clin. of North America: Food Anim. Prac. 2(2): 261-275.
- 25) **Manrique MJ, Cuadros CS. 2002.** Fasciolosis: Buscando Estrategias de Control. Ed. Akuarella. Arequipa. Perú. p.126.
- 26) **Ministerio de Salud. 1989.** Anales de Seminario internacional de Zoonosis y Enfermedades de transmisión Alimentaria. Programa Nacional de Zoonosis. Ministerio de Salud. Lima, Perú. p.90

- 27) **MINAG, 1994.** III Censo Nacional Agropecuario: Resultados definitivos departamento de Ayacucho. P. 2360-2363. Tomo IV. Ministerio de Agricultura. Lima. Perú.
- 28) **Municipalidad de Oxapampa. 2006.** Informe de actividades del 1er semestre correspondiente al 2006. Pasco. [Internet], [8 agosto 2006]. Disponible en: <http://www.munioxapampa.gob.pe>
- 29) **Morales G, Pino LA. 1992.** *Fasciola hepatica*. Aspectos Ecoepidemiológicos de interés para el desarrollo de estrategias de control. Ganadería mestiza de doble propósito en Venezuela, editado por González, C, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela p.301-324.
- 30) **Olsen OW. 1977.** Parasitología Animal. 3ªed. Barcelona. Aedos.719p
- 31) **Oviedo M, Larrea R, Huaman P, Pachas L, 1993.** Distribución geográfica de la familia Lymnaeidae (Mollusca, Gastropoda) en el Perú y su importancia como transmisores de la fasciolosis Bol. De Lima, 15: 43-50.
- 32) **Percedo M, Larramendy. 1989.** Infestación natural de *Fossaria cubensis*, Pfeiffer, 1839, por estadios larvarios de la familia Paramphistomidae. Rvta. Cuba. Cienc. Vet. 20(4) 233-238.
- 33) **Pino L, Morales G. 1982.** *Lymnaea cubensis*, Pfeiffer 1839 hospedador intermediario de *Cotylophoron cotylophorum* (Fischoeder, 1901) Stiles and Goldberg, 1910, en condiciones naturales. Acta Científica Venezolana. 33: 57-60.
- 34) **Quiroz H. 2000.** Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. México: Uteha. 875p.
- 35) **Rojas CM. 1993.** Parasitismo de los Rumiantes domésticos. Terapia, prevención y modelos para su aprendizaje. Lima: Ed. Maijosa. 383 p.

- 36) **Radostis O, Gay C, Blood D, Hincheliff K. 2002.** Medicina Veterinaria. 9^{na}. ed. Madrid : Mc Graw – Hill. 2215p.
- 37) **Reichel M, Vanhoff K, Baxter B. 2005.** Performance characteristics of an enzyme-linked immunosorbent assay performed in milk for the detection of liver fluke (*Fasciola hepatica*) infection in cattle. Vet. Parasitol. 129: 61- 66.
- 38) **Rolfe P, Boray JC. 1987.** Chemotherapy of paramphistomosis in sheep. Australian Veterinary Journal. 65 (5): 148-150.
- 39) **Salimi B, McGarry J, Felstead S, Cripps P, Mahmood H, William D. 2005.** Development of an antibody-detection ELISA for *Fasciola hepatica* and its evaluation against a commercially available test. Res. Vet. Sci. 78: 177 -181.
- 40) **Soulsby E.J.L. 1987.** Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7^a ed. México: Interamerica. 823p.
- 41) **Tantaleán MR, Martínez D, Juárez. 1975.** Estudio de algunos trematodos del Perú. Rev. Per. Med. Trópic 3-4(1): 46-56.
- 42) **Tello R. 1988.** Empleo de una nueva técnica parasitológica rápida de sedimentación espontánea en el diagnóstico de protozoos y helmintos V Jornadas Científicas. Lima: UPCJ. 238p
- 43) **Ticona D. 2007.** Prevalencia de *Fasciola hepatica* en bovino y ovinos de Vilcashuamán, Ayacucho: Estudio Coproparasitológico. Tesis de Médico Veterinario. Lima. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 70p.
- 44) **Tonetto CJ, Lovato M, Correa M, Albuquerque VR, Noal SA, Gai T. 2001.** Casuística de *Paramphistomum* sp (Fischöeder, 1901) em ruminantes – uma revisao. R Bras Med Vet. 23(6):250-256.

- 45) **Torrel, P. T. 1997.** Detección de coproantígenos de *Fasciola hepatica* en ovinos y bovinos mediante un método de ELISA. Rev Inv Pec IVITA. 6(1) : 74 -78.
- 46) **Travassos L, Freitas JFT, Kohn A.1969.** Trematodeos do Brasil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 67p.
- 47) **Trigueros A. 2003.** Parasitosis gastrointestinal en ovinos pelibuey en trópico húmedo peruano. En: XXVI Reunión Científica Anual de la APPA. Pucallpa: Asociación Peruana de Producción Animal.
- 48) **Urquhart G, Armour J. 2001.** Parasitología veterinaria. 2^a ed. Zaragoza: Acribia. 355p.
- 49) **Vallena R. 1986.** Prevalencia de fasciolosis en animales beneficiados en el camal municipal de Cajamarca. Tesis de Médico Veterinario. Cajamarca: Univ. Nacional de Cajamarca. 70p.
- 50) **Vilca F. 2000.** Fasciolosis en bovinos beneficiados en el camal municipal de Puno mediante dos métodos de diagnóstico. Puno: Ofic. Unidad de Invest. UNA. 3p.