

REPÚBLICA DE CUBA
MINISTERIO DE EDUCACIÓN SUPERIOR



Universidad de Camagüey "Ignacio Agramonte Loynaz"
Facultad de Ciencias Agropecuarias

**Infestación de *Fasciola hepatica* y su asociación a
variables productivas y manejo en la producción lechera
bovina en el municipio Najasa.**

Tesis en opción al título de Máster en Diagnóstico Veterinario

Autor: Dra. MVZ. Tereza Mayelin Peña Pérez

Tutor: Lic. Amilcar Arenal Cruz; DrC

Camagüey 2016

RESUMEN

La fasciolosis es una enfermedad parasitaria que afecta a la mayoría de los animales domésticos incluso el hombre, con alta distribución mundial. El objetivo este trabajo es evaluar el efecto de la infestación de *Fasciola hepatica* asociadas a variables productivas y manejo en la producción lechera bovina en el municipio Najasa. Se emplea un cuestionario para evaluar la asociación de las variables relacionadas al manejo y las características productivas con títulos de anticuerpos anti *Fasciola hepatica* por ELISA. El 19,8 % de las muestras analizadas presentaron valores de densidad óptica por encima de (0,6) lo que indica que la infestación está asociada a la disminución de la producción de leche por vaca por año. El incremento de los niveles de títulos de *Fasciola hepatica* está asociado a la desparasitación cuando hay clínica de parasitismo y a la carga de animales por hectárea ($r^2= 0,12$). Las variables asociadas a la producción de leche son el pastoreo de las vacas con otras especies y los títulos anti-*Fasciola hepatica* ($r^2=0,25$).

Palabras clave: ELISA, ODR., *Fasciola hepatica*, producción láctea.

ABSTRACT

Fasciolosis is a parasitic disease that affects most of the animals even man, with high worldwide distribution. The aim of this work was to evaluate the effect of *Fasciola hepatica* infestation variables associated with production and management in bovine milk production, in the municipality Najasa. A questionnaire was applied to assess the association of variables related to the management and production characteristics to the titers of anti *Fasciola hepatica* antibodies by ELISA. The 19.8% of the samples had optical density values higher than 0.6, indicating that the infestation is associated with the decrease in milk production per cow per year. The increased levels of titles *F. hepatica* was associated with deworming when there is clinical parasitism and density of the animals per hectare ($r^2 = 0.12$). The variables associated with milk production per cow per year were grazing cows with other species and anti *Fasciola hepatica* ($r^2=0.25$).

Keywords: ELISA, ODR, *Fasciola hepatica*, milk production.

Índice

RESUMEN.....	2
ABSTRACT.....	3
1. Introducción.....	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	6
2.1 Fasciola hepatica y Fasciolosis.....	6
2.2 Distribución geográfica.....	6
2.3 Importancia de la Fasciolosis.....	7
2.4 Etiología.....	8
2.5 Morfología general.....	9
2.6 Ciclo biológico de la Fasciola hepatica.....	11
2.7 Aspectos clínicos de la enfermedad.....	14
2.8 Diagnóstico.....	15
2.8.1 Diagnóstico clínico.....	15
2.8.2 Hallazgos ante - mortem de la <i>Fasciola hepatica</i>	15
2.8.3 Hallazgos post - mortem de la <i>Fasciola hepatica</i>	16
2.8.4 Diagnóstico inmunológico.....	17
2.8.5 Diagnóstico coprológico.....	18
2.8.5.1 Técnica de sedimentación.....	18
2.8.5.2 Técnica de flotación.....	19
2.8.6 ELISA para el diagnóstico de fasciolosis bovina en leche.....	19
2.9 Prevención y control.....	20
2.10 Zoonosis.....	20
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
3.1 Localización e información sobre la recogida de datos.....	22
3.2 Procedimientos para la recolección de información.....	22

3.3 Determinación de la infestación de Fasciola hepatica a través de títulos de anticuerpos en leche mediante pruebas inmunoenzimáticas (ELISA).....	23
Toma de muestras.....	23
3.4 Análisis estadísticos.....	24
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	25
4.1. Infestación por Fasciola hepatica en la masa bovina del municipio Najasa a través de ELISA.....	25
4.2 Relación entre los niveles de ODR y el rendimiento lácteo en unidades del municipio Najasa.....	27
4.3 Asociación de las variables productivas y de manejo con los niveles ODR.....	29
5. Conclusiones.....	36
6. Recomendaciones.....	37
7. Referencias bibliográficas.....	38
8. Anexos.....	36
Anexo 1.....	36
Anexo 2.....	38
Anexo 3.....	40

1. Introducción

La importancia de la ganadería es que llevada a cabo de una forma racional es relevante para cualquier país, pues constituye un pilar para la economía del mismo. Es una importante generadora de capital y empleo, produce materias primas necesarias para el establecimiento y desarrollo de la industria, además de producir divisas para la exportación de materias primas.

La producción ganadera tiene varias afectaciones, dentro de ella la degradación de los pastos por factores humanos y naturales que en la actualidad tiene varias consecuencias, donde se reducen los rendimientos de leche, carne y se incrementan los costos de la producción animal ([Ademola y Eloff, 2010](#)).

Las pérdidas más importantes en la productividad de los diferentes sistemas de producción ganadera, ubicados en regiones tropicales y subtropicales del mundo, son causadas principalmente por las afecciones parasitarias. Los daños más observados son: morbilidad y mortalidad de los animales, reducción de los niveles de producción y productividad, alteraciones reproductivas y altos costos del control, entre otros (FAO, 2003).

La epidemiología concibe la enfermedad parasitaria como una alteración de un estado de óptima producción y productividad, mediante una relación dinámica establecida entre el huésped (animal), el parásito y el ambiente. En el caso de los parásitos la relación huésped - parásito, es a veces tan sutil que sería muy difícil demostrar el efecto del parásito en la producción de la enfermedad (Ndlovuet *al.*, 2008).

La fasciolosis es una enfermedad parasitaria de gran impacto económico, que afecta en su mayoría a los rumiantes domésticos; causada por dos especies: *Fasciola hepática* y

Fasciola gigantica (Clase Trematoda). Las pérdidas mundiales en la productividad animal que causa la fasciolosis se estiman en US \$ 3,200 millones por año, con un total de seiscientos millones de animales infestados de las comunidades rurales agrícolas y de los productores comerciales .

Para el control de la fasciolosis un principio fundamental es el manejo; este involucra básicamente la rotación de praderas, en estrecha relación con el número de animales por hectárea y el manejo de condiciones ambientales y micro ambientales, que propicien una menor contaminación de larvas en los pastos; dentro del cual es vital también el manejo del agua consumida por los animales .

En animales, el diagnóstico *post mortem* de fasciolosis se basa en verificar la presencia de trematodos inmaduros o adultos en el parénquima, conductos biliares y vesícula biliar; y el análisis de los huevos se realiza mediante examen coprológico. Los métodos parasitológicos definitivamente tienen las ventajas como su simplicidad, rapidez y bajo costo. Sin embargo, su baja sensibilidad es un problema para los estudios epidemiológicos. Además puede dar resultados negativos cuando la enfermedad se encuentra en la fase aguda, donde el parásito migra por el parénquima hepático sin llegar a la madurez sexual (Mego, 2009).

Se describen en la actualidad innumerables métodos de diagnóstico más sensibles y específicos que las técnicas tradicionales, las cuales consisten en detectar anticuerpos específicos de *F. hepatica* en suero, jugos de carne y leche . Dentro de los métodos más confiables de inmunodiagnóstico, por su fácil manejo, alta sensibilidad y especificidad, se encuentran las pruebas inmunoenzimáticas; la más importante es la técnica de ELISA (Enzyme-linkedimmunoabsorbentassay), la cual se utiliza para la detección de anticuerpos

y antígenos (ELISA indirecto). La sensibilidad y especificidad son superiores cuando se trabaja con antígenos de *F. hepatica* de excreción – secreción (E/S) que cuando se trabaja con antígenos somático de *F. hepatica*.. Recientemente, se comercializan pruebas inmunodiagnósticas para detectar la presencia de anticuerpos que reconocen *F. hepatica* en suero, leche y jugos de carne (SVANOVIR^{RF} *hepatica*-Ab, Svanova Biotech, Uppsala). La disponibilidad y facilidad de estos ensayos comerciales permiten realizar extensos estudios epidemiológicos . La distribución, el alto predominio en algunas áreas y el posible papel como zoonosis (Mas-coma, Bargues, y Valero, 2005) debe animar los esfuerzos para aumentar la investigación en el control y diagnóstico de este parásito. Aunque las infecciones con *F. hepatica* son fatales en el ganado, ellos son de impacto considerable debido a las pérdidas económicas de leche, la ganancia de peso reducida y el decomiso de hígados a causas de las infecciones crónicas. Sin embargo, en cada región deben realizarse los estudios epidemiológicos y la estimación de las pérdidas correspondientes.

Con estos antecedentes esbozamos el siguiente problema:

No existe evidencia del efecto de las variables productivas y manejo asociadas a la infestación por *Fasciola hepatica* en los rebaños lecheros del municipio Najasa.

Para abordar el problema nos planteamos la siguiente hipótesis

Si se emplea el ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la determinación de títulos de anticuerpos anti *Fasciola hepatica*, entonces se puede evaluar el efecto del parásito asociado a variables productivas y manejo en la producción de leche.

Para evaluar la hipótesis nos trazamos como objetivo

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la infestación de *Fasciola hepatica* asociadas a variables productivas y manejo en la producción lechera bovina en el municipio Najasa.

Objetivos Específicos

- Determinar títulos de anticuerpos anti *Fasciola hepatica* en la masa bovina del municipio Najasa mediante pruebas inmunoenzimáticas (ELISA).
- Evaluar la asociación entre los niveles de anticuerpos anti *Fasciola hepatica* (ODR) y la producción láctea en unidades del municipio Najasa.
- Analizar la asociación de las variables productivas y el manejo con títulos de anticuerpos anti *Fasciola hepatica* (ODR) detectados en las unidades productoras de leche del municipio Najasa.

Beneficios esperados

Por primera vez en el municipio Najasa se realiza un estudio epidemiológico a través del (ELISA), para determinar la infestación por *Fasciola hepatica* en rebaños lecheros y su asociación a variables productivas y manejo.

Límite y alcance de la investigación

Se puede determinar mediante la técnica de ELISA, rebaños infestados por *Fasciola hepatica* lo que permite realizar un monitoreo del programa de prevención, la evaluación de estrategias de control y predecir la afectación en la producción lechera.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Fasciola hepatica y Fasciolosis

La fasciolosis es una enfermedad parasitaria (helminthiasis) causada por dos especies de trematodos digéneos, *Fasciola hepatica* y *Fasciola gigantica*, conocidas vulgarmente

como duelas del hígado. Los adultos se localizan en la vesícula biliar o en los conductos biliares del hígado .

2.2 Distribución geográfica

La fasciola está distribuida por todo el mundo. Mientras que la fasciolosis animal se presenta en países con una producción ganadera elevada (especialmente bovinos y ovejas), la fasciolosis humana es más común, excepto en Europa Occidental, en países en vías de desarrollo. La fasciolosis se da solo en las áreas en que existen los hospedadores intermediarios apropiados y ciertas especies de caracoles acuáticos (Mas-Coma, Bargues, y Esteban, 1999).

Los países en que se detecto la fasciolosis en el ganado son los siguientes: (Angulo, Molero, Escalona, Muñoz, y Ramírez, 2007);

- Europa: Reino Unido, Irlanda, Francia, Portugal, España, Suiza, Italia, Holanda, Turquía, Alemania, Polonia y Rusia.
- Asia: Rusia, Tailandia, Irak, Irán, China, Vietnam, India, Nepal, Japón, Corea, Filipinas
- África: Kenia, Zimbabue, Nigeria, Egipto, Gambia, Marruecos.
- Australia y Oceanía: Australia, Nueva Zelanda.
- América: Estados Unidos, México, Cuba, Perú, Chile, Uruguay, Argentina, Jamaica, Brasil.

2.3 Importancia de la Fasciolosis

La fasciolosis se reconoce actualmente como la parasitosis más importante en la ganadería extensiva en el mundo. Aparte de ser una de las principales causas de rechazo de hígados en mataderos, también ocasiona muchos daños. Se asocia a las parasitosis reducción en la producción de carne, leche y peso corporal, infertilidad, atraso en el crecimiento, retraso reproductivo, abortos, disminución de la resistencia a otras enfermedades, y aumento de los costos por los tratamientos antihelmínticos. Así como por las frecuentes infecciones bacterianas secundarias, las que pueden conllevar a la muerte del animal . La [ganadería](#) mundial reporta grandes pérdidas por los daños que ocasiona esta parasitosis, tiene en la actualidad gran importancia epidemiológica y zootécnica perfectamente estudiada y documentada donde se demuestra la importancia en cuanto al impacto que se produce por esta, sobre todo en el ganado bovino, ovino-caprino, reportándose cifras de doscientos millones de ovinos y trescientos millones de bovinos potencialmente infestados por esta entidad . Representa la misma un grave problema de salud animal, reportándose que existen trescientos millones de bovinos y doscientos millones de ovinos en riesgo de ser afectados, además de las pérdidas económicas que superan a los tres millones de dólares anuales a nivel mundial .

En Cuba, durante el último decenio, la infestación por *Fasciola hepática* se incrementó. En 1992, en mataderos, la tasa de hígados afectados fue de 9,5% y ascendió a 37,5% en el 2000. La tendencia es a seguir aumentando por no aplicarse correctamente el programa de prevención. Actualmente la situación de la enfermedad se considera crítica al no disponerse de los fasciolicidas requeridos. Aunque existe una gama de medicamentos de alto costo que constituyen una barrera obstaculizadora, del uso a gran escala por los

criadores de ganado en los países subdesarrollados y Cuba no es la excepción . Además, es enzoótica del ganado bovino, constituyendo uno de los problemas más emergentes a resolver en la ganadería nacional. El 35% de las pérdidas en el ganado adulto está ocasionado por la *F. hepatica*, y donde la pérdida por decomiso de hígados, tanto en la losa sanitaria como en el matadero, llega a ser del 70% . En los países desarrollados el decomiso de hígados por infestación de *Fasciola hepatica* está entre un 10 y un 20% del total de animales llevados al sacrificio . Elevándose entre un 45 y un 55% en países subdesarrollados.

2.4 Etiología

Clasificación taxonómica descrita por Cordero del Campillo *et al.* (1999):

Phylum: Platyhelminthes

Clase: Trematoda

Subclase: Digenea

Superorden: Anepitheliocystidia

Orden: Echinostomatida

Suborden: Prosostomata

Familia: Fasciolidae

Género: Fasciola

Especie: *Fasciola hepatica* y *Fasciola gigantica*

La *Fasciola gigantita* es la segunda más grande de áreas tropicales, mientras que la *Fasciola hepatica* es más chica y de áreas con condiciones climáticas templadas. En América la única que existe de estas dos especies es la *Fasciola hepatica*. El ciclo biológico es complejo e indirecto, o sea, para poder realizar el ciclo la *Fasciola hepatica*

necesita la presencia de hospedadores intermediarios, en este caso se trata de algunos caracoles del género *Limnea*. En dicho caracol se reproducen algunos de los estadios juveniles del trematodo. Estos caracoles miden entre 0,5 y 1 cm, son de color pardo oscuro y el caparazón tiene de 2 a 5 espirales (Vázquez *et al.*, 2013).

2.5 Morfología general

Fasciola hepatica es un trematodo hematófago hermafrodita, aplanado dorso ventralmente, de forma foliácea y color café parduzco. Puede medir de 2 a 3 cm de largo, por 1 cm de ancho (Urquhart *et al.*, 2001). Su superficie corporal es un tegumento cubierto de espina a modo de púas dirigidas hacia atrás, que se disponen en hileras transversales sobre la superficie ventral hasta la mitad de la cara dorsal del parásito (Rojas, 2004; Urquhart *et al.*, 2001; Carrada, 2007). En su extremo anterior se encuentra una porción anterior cefálica de 3 a 4 mm de longitud, donde se ubica la boca; la cual está rodeada por la ventosa oral de aproximadamente 1mm de longitud. Después de la porción cefálica, el parásito presenta un ensanchamiento en forma de hombros y a este nivel se encuentra la ventosa ventral, la cual le sirve para fijarse a las paredes de los conductos biliares. Entre estas dos ventosas se abre el poro genital, el que se identifica por la convergencia de los tractos reproductores masculino y femenino. El cuerpo continúa ensanchado, pero a partir del primer tercio se estrecha para terminar en forma roma (Cordero del Campillo *et al.*, 1999; Bowman *et al.*, 2004).

El aparato digestivo se forma por la prefaringe (equivalente a una cavidad bucal), faringe, esófago y ciego, el cual se divide en dos tubos ramificados muy desarrollados, que

cumplen la función de absorción de nutrientes. El aparato reproductor masculino está compuesto por dos testículos uno detrás del otro y situados en los dos tercios anteriores del cuerpo. Mientras que el aparato reproductor femenino situado a la derecha de la línea media y anterior a los testículos, lo conforman el ovario y el útero las glándulas vitelógenas ocupan los márgenes laterales del trematodo (Cordero del Campillo et al., 1999; Drugueri, 2005). Los huevos tienen forma elipsoidal y miden entre 130 a 150 μm de largo, por 63 a 90 μm de ancho. La cáscara es relativamente gruesa y lisa de color amarillento, debido a la tinción de los pigmentos biliares. Uno de sus extremos posee una estructura a manera de tapa llamada opérculo. El huevo se mantiene metabólicamente activo y utiliza hidratos de carbono y lípidos (vitelo) como fuente de energía. Pueden resistir temperaturas de 0 a 37 °C, pero solo desarrollan entre los 10 a 30 °C (Acha y Szyfres, 2003; Soulsby, 1993; Cordero del Campillo, *et al.* 1999)

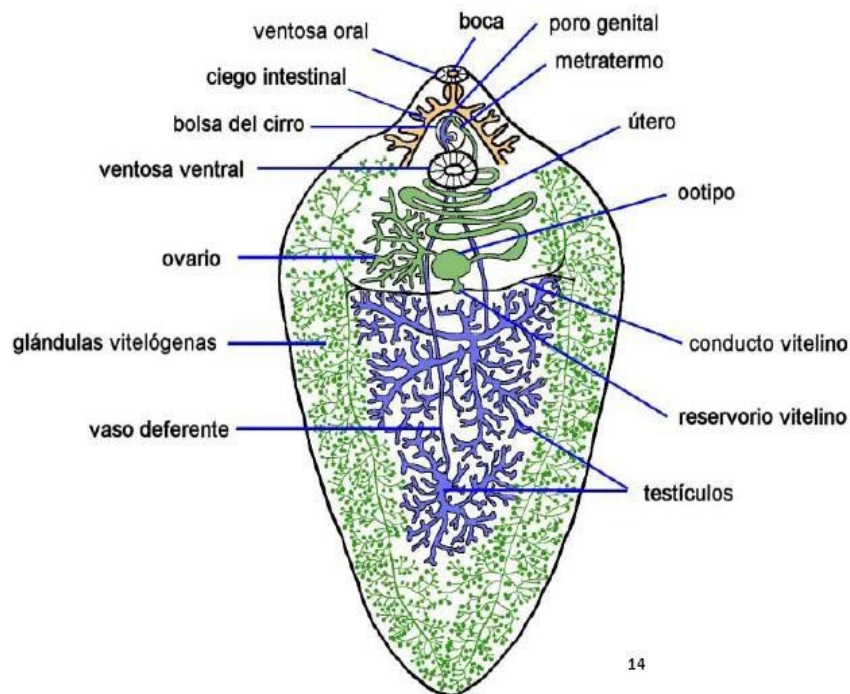


Figura 1. Estadio adulto de la *Fasciola hepatica*.

Fuente: <http://veterinariosdemexico.com/la-fasciola-hepatica>

2.6 Ciclo biológico de la *Fasciola hepatica*

El ciclo de la *Fasciola hepatica* es de tipo indirecto o heteroxeno. Cuenta con la participación de un hospedador definitivo, donde se produce la reproducción sexual, y un hospedero intermediario, donde se da la reproducción asexual (Rojas, 2004, Olaechea, 2007).

Los parásitos adultos hermafroditas se localizan en los conductos biliares del hospedador definitivo, depositan los huevos y son llevados por la bilis al intestino delgado a través del conducto colédoco y son arrastrados hacia el exterior junto con las heces. Una *Fasciola hepática* adulta puede poner un promedio de 20 000 huevos por día dependiendo de factores como: grado de parasitación, edad del hospedador y tiempo de infección (Rojas, 2004; Gállego, 2007).

Una vez los huevos en el medio ambiente requieren para su incubación un tiempo de 9 a 15 días y su eclosión depende de la temperatura (entre 10 °C a 30 °C), además de humedad, dióxido de carbono y oxígeno presente en el medio. Las variaciones en la temperatura participan significativamente en la eclosión, así a temperaturas que varían entre 22 a 26 °C. La eclosión puede darse entre 7 a 9 días, mientras que a temperaturas por debajo de 10 °C el desarrollo se detiene (Cordero del Campillo et al., 1999 y Carrada, 2007).

El embrión se divide y en dos semanas se forma la mórula para luego desarrollar la larva ciliada miracidio, que al salir del huevo comienza a nadar buscando al hospedero intermediario (caracol de la familia Lymnaeidae). El mismo tiene que encontrarlo en menos de 24 horas debido a que sus reservas energéticas son limitadas, de lo contrario morirá. Al encontrar al caracol lo penetra a través del tegumento de su piel mediante contracciones musculares por movimiento ciliar, y se apoya por la lisis de las células del hospedador debido al potencial enzimático del miracidio, luego migra hacia la cámara pulmonar dando lugar al estadio de esporocisto (Cordero del Campillo *et al.*, 1999; Drugueri, 2005; Carrada, 2007).

Cada esporocisto al cabo de 15 días aproximadamente dará entre cinco y ocho redias, siendo esta la primera generación y si las condiciones medioambientales resultan desfavorables para el caracol, mediante multiplicación asexual, se forma la segunda generación de redias, de lo contrario la siguiente generación es de cercarías. Se ha estimado que por cada miracidio salen cerca de 250 cercarias. El desarrollo completo dentro del molusco, en condiciones naturales lleva entre 7 a 10 semanas (Cordero del Campillo *et al.*, 1999; Drugueri, 2005; Carrada, 2007).

Las cercarias salen del hospedador y rápidamente se fijan a las hojas de hierbas u otras plantas e incluso al nivel del agua luego pierden la cola móvil. Sus glándulas cistógenas secretan una cubierta resistente que en un periodo de 2 ó 3 días contribuirán con el proceso de enquistamiento, dando lugar a la metacercaria (forma infectiva del hospedero definitivo). Algunas cercarias también pueden enquistarse en el agua, donde suelen permanecer en suspensión adheridas a las burbujas. Las metacercarias soportan mejor

las bajas temperaturas, pero son sensibles a temperaturas altas (Cordero del Campillo *et al.*, 1999; Mas-Coma *et al.*, 1999; Bowman *et al.*, 2004; Rojas, 2004)

El hospedero definitivo se infecta después que ingiere el alimento (plantas y/o agua contaminado con metacercarias. Estas se desenquistan y liberan las fasciolas hepáticas juveniles al intestino delgado; atraviesan la pared duodenal ayudadas por sus glándulas histolíticas, migran por el peritoneo alrededor de las dos horas de ingestión; luego de 2 a 6 días penetran en la cápsula de Glisson del hígado y migran por el parénquima hepático. Al cabo de 5 a 6 semanas. Los parásitos asentados en los conductos biliares alcanzan la madurez sexual y son capaces de producir huevos. Los huevos saldrán con las heces entre las 8 y 10 semanas post infección (Urquhart *et al.*, 2001; Acha y Szyfres, 2003; Rojas, 2004; Shore, 2007).

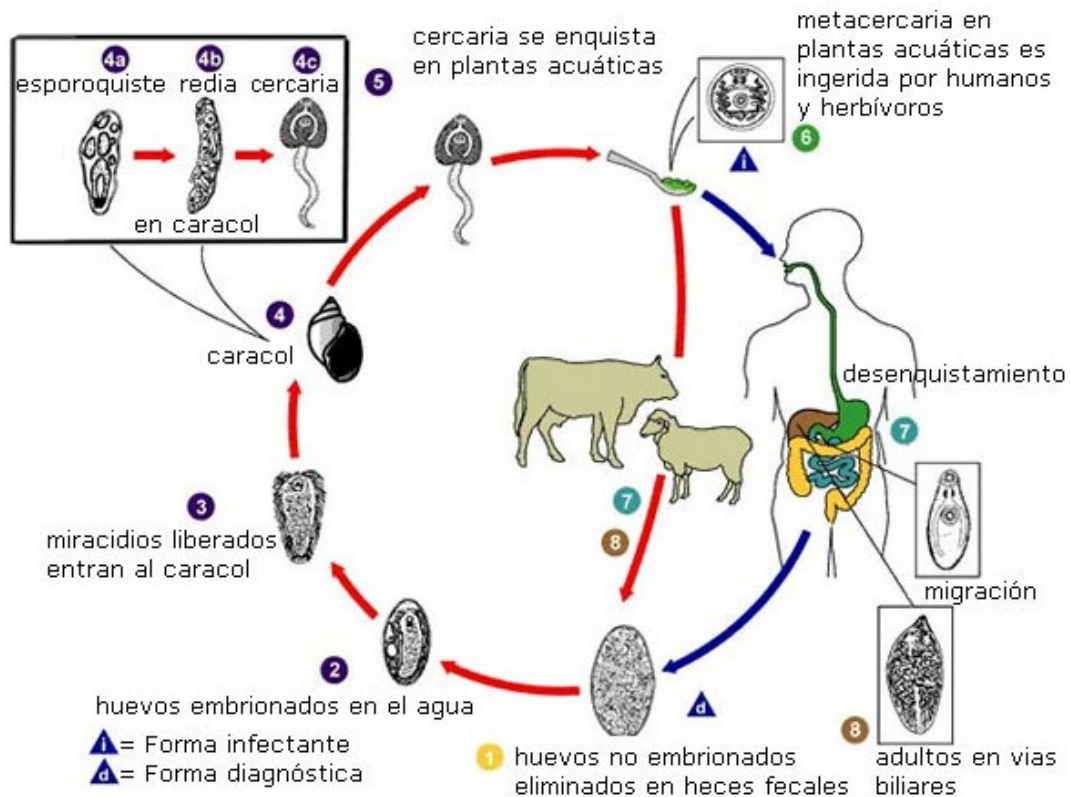


Figura 2. Ciclo biológico de la *Fasciola*

Fuente: <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/htm/fasciolosis.htm>

2.7 Aspectos clínicos de la enfermedad

La fasciolosis se presenta de tres formas clínicas: aguda, subaguda y crónica. La presentación depende de la época del año, la cantidad y disponibilidad de metacercarias presentes en el medio y las que puedan ingerir el hospedero en un periodo de tiempo determinado. Además del número de parásitos presentes en el hígado y de su estado de desarrollo (Leguía, 1999; Cordero del Campillo *et al.*, 1999; Urquhart *et al.*, 2001).

2.8 Diagnóstico

Para el diagnóstico de fasciolosis se cuenta con diferentes métodos o técnicas como: coprológicas, inmunológicas, hallazgo directo por cirugía y necropsia de animales, entre otras.

Se debe tener en cuenta la etapa de infección en la que se encuentra el animal y la sintomatología clínica observada.

2.8.1 Diagnóstico clínico

La fasciolosis es un proceso enzoótico cuyas manifestaciones clínicas dependen de la especie de hospedero afectado, del número y fase de desarrollo de las *Fasciolas hepaticas* presentes en hígado (Leguía, 1991).

2.8.2 Hallazgos ante - mortem de la *Fasciola hepatica*

El diagnóstico de fasciolosis en el animal vivo se basa en el hallazgo de huevos del parásito en heces; sin embargo, este método carece de sensibilidad en la fase aguda de la infección, debido a que el parásito se encuentra migrando por el parénquima hepático sin llegar a la madurez sexual, por lo que los exámenes parasitológicos son negativos a la presencia de huevos. Por otro lado, durante la fase patente, la intermitencia en la expulsión de los huevos hace que también se presenten dificultades en el diagnóstico coprológico, por lo que se requiere de exámenes seriados .

La vesícula biliar puede presentar erosión del epitelio por presencia de juveniles que junto con los adultos producen obstrucción y causan retención de bilis, aumento de la presión arterial, leucocitosis y anemia hipocrómica .

2.8.3 Hallazgos post - mortem de la *Fasciola hepatica*

La mayoría de los trabajos sobre este tema, dentro o fuera del país, abordan casi exclusivamente las tasas de prevalencia de la fasciolosis, establecidas a partir de decomisos de hígados en mataderos y frigoríficos . Los hallazgos post-mortem dependen del número de parásitos y del tiempo de infección. Se observan las perforaciones hepáticas, la inflamación y focos hemorrágicos que muestran un cuadro de hepatitis aguda esto si la infestación es reciente. También pueden observarse líquidos serosos en peritoneo y engrosamiento de los conductos biliares con alteraciones cirróticas cuando la infestación es de tipo crónico . La cápsula de glisson se observa engrosada, al mismo tiempo se aprecia hepatomegalia, hematómas, abscesos subcapsulares y necrosis. Puede encontrarse también formaciones nodulares y zonas con fibroesclerosis periductal y ensanchamiento de los conductos biliares intrahepáticos.

Hay que destacar que cuando el daño hepático se hace crónico, el decomiso es inminente, independientemente de la presencia o no de estos parásitos, esto se debe a que el órgano se torna fibrótico o cirrótico . A los hígados con decomiso total se les estimó un peso de 4 kg y cuando el decomiso fue parcial se les estimó un peso de 1 Kg, en ambos casos, a partir de resultados previos reportados en Cuba .

2.8.4 Diagnóstico inmunológico

Este tipo de diagnóstico ofrece varios métodos que permiten detectar en forma temprana (1 a 2 semanas post infección) en sueros humanos y animales, aplicables en todas las etapas de la enfermedad. Se tienen las siguientes técnicas: inmunodifusión, inmunolectroforesis, contrainmunolectroforesis, ELISA y Western Blot.

En la técnica de inmunolectroforesis se detectan anticuerpos contra el antígeno 2, y que da lugar a la formación del arco 2 y es muy específica. La técnica de ELISA tiene un alto valor diagnóstico por la especificidad de su antígeno. Se usa para el hallazgo de anticuerpos séricos y de coproantígenos. Demuestra también ser altamente sensible, con la detección de la infección activa por *Fasciola hepatica* tanto en la fase prepatente como en la fase patente de la infección (Leguía, 1999; Espino et al., 2000; Duménigo y Finlay, 1998).

El ELISA indirecto se usa como herramienta útil para el diagnóstico en detección de anticuerpos contra *Fasciola hepatica* en la leche y suero, brindando porcentajes altos de sensibilidad y especificidad en ganado vacuno y ovino. Se observan ventajas de esta técnica respecto a otras técnicas serológicas, pues los estudios lo corroboran obteniéndose sensibilidades de 96,8; 74,2 y 47,6 % para Fas2-ELISA, Western blot y Arco 2, aunque el arco 2, posee una mayor especificidad (98,24 %) frente al 91,2 % de ELISA y 88,6 % de Western blot (Marco et al, 2002).

2.8.5 Diagnóstico coprológico

Es el tipo de diagnóstico más económico pero también el menos sensible. En comparación con las pruebas serológicas que muestra mayores valores de sensibilidad en la detección de la fase crónica y aguda de la infección. En el análisis coprológico sólo se obtienen diagnósticos de la fase crónica, momento en el cual el parásito ya es sexualmente maduro y se encuentra en las vías biliares emitiendo los huevos suficientes que son excretados por las heces. El diagnóstico se puede dar a partir de las 8-10 semanas de infección, a causa del bajo número de huevos eliminados durante etapas tempranas de la infección (Happich y Boray, 1969; Taira *et al.*, 1997).

2.8.5.1 Técnica de sedimentación

Estos métodos son los más usados, se emplean para diagnósticos cualitativos y cuantitativos. Se beneficia del peso específico de los huevos de trematodos que es mayor que el del agua y la velocidad de sedimentación que es de 10 mm por minuto, mucho mayor que la de los restos de las materias fecales (Dennis *et al.*, 1954; Parffit, 1970; Conceição *et al.*, 2002). Debido a que no se detectan formas prepatentes de infección, esta técnica no resulta ser 100% eficaz ni refleja el 100% de animales infectados, *teniendo* un adicional porcentaje significativo de falsos negativos (Quiroz, 2000). Su uso resulta limitado en hospedadores infectados con pocos trematodos o que se encuentran en periodo de invasión, Este examen coprológico toma como promedio 20 minutos por muestra, lo que resulta mayor al tiempo empleado con técnicas serológicas (Girão y Ueno, 1985; Gorman *et al.*, 1991; Quiroz, 2000)

2.8.5.2 Técnica de flotación

Esta técnica necesita adicionar soluciones de alta densidad como son: sulfato de zinc saturado o yodo mercurato de potasio, lo cual además resulta necesaria la evaluación de costo de insumos, así como los cuidados respecto a la corrosión y deformación de huevos. Es una técnica confiable y con precisión alta; considerando las preocupaciones ambientales, el yodo mercurato de potasio está siendo prohibido en varios países (Quiroz, 2000).

La gran mayoría de estudios se basan principalmente en hallazgos de necropsia en bovinos y ovinos, se encuentra en esta última especie la presentación en las tres formas clínicas de la enfermedad (aguda, subaguda y crónica), mientras que, en bovinos, la presentación más frecuente es la forma crónica (Leguía, 1999; Cordero del Campillo *et al.*, 1999; Urquhart *et al.*, 2001).

2.8.6 ELISA para el diagnóstico de fasciolosis bovina en leche

El ELISA para la determinación de anticuerpos específicos a nivel de leche, permite desarrollar métodos rentables para supervisar el estado de infestación del ganado lechero. Se efectúa por una herramienta de diagnóstico para el descubrimiento del índice parasitario con nematodos gastrointestinales; y así reducir las pérdidas en la productividad; . Permite demostrar una correlación positiva entre el predominio del nivel de anticuerpos específicos para *F. hepatica* y el suero de leche del ganado .

2.9 Prevención y control

El control debe estar orientado a prever o limitar el contacto entre el parásito y su hospedero definitivo, y trata de ofrecer pastos seguros. Es necesario establecer

estrategias de control y prevención, que abarquen su acción contra las diversas etapas del ciclo del parásito. La lucha integral contra esta enfermedad según Leguía (1999) y Quiroz (2000), se basa en tres aspectos fundamentales:

-Modificación del medio.

-Control químico de los hospederos intermediarios.

-Control químico del parásito.

2.10 Zoonosis

Desde el punto de vista de la salud pública, la fasciolosis cobra cada vez mayor importancia. No se trata simplemente como una enfermedad zoonótica secundaria, sino como una infección parasitaria emergente debido al incremento significativo de casos humanos en los últimos años, y la presentación de verdaderas endemias .

El término zoonosis, etimológicamente, deriva de las raíces griegas zoo: animal y gnosis: enfermedad, y comprende a las enfermedades infecciosas transmisibles en condiciones naturales, entre los animales vertebrados y el hombre. Los animales son la parte esencial en el ciclo biológico del agente etiológico, que pueden ser priones, virus, bacterias, hongos y parásitos. La FAO estima que el 60 % de los patógenos humanos están relacionados con las zoonosis . Las zoonosis presentan dos aspectos a considerarse en su análisis, la infección humana y la infección animal. En algunos países tropicales y subtropicales, las zoonosis parasitarias son muy importantes por sus repercusiones en la economía y en la salud humana y animal. En especial si se trata de zoonosis, en las que están involucrados animales de abasto. La importancia de las zoonosis parasitarias varía

entre los países, de acuerdo con las tasas de prevalencia en seres humanos y animales, así como la posibilidad de controlarlas o erradicarlas. Estas zoonosis tienen altas tasas de prevalencia en animales y seres humanos, principalmente en países de pobre desarrollo económico; los cálculos indican que las pérdidas económicas son muy altas en la producción ganadera y en la recuperación de la salud en la población humana afectada. Como entidad patológica constituye un determinante en el retardo del desarrollo de dichos pueblos. Es una agravante de afectación en el ganado de abasto, de restar proteína animal al alimento de la población ya que se tiene que desechar las vísceras y carnes infectadas, según sea la clase de zoonosis involucrada .

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización e información sobre la recogida de datos

El presente trabajo se realizó en granjas del municipio Najasa, que tiene como características topográficas el predominio de las penillanuras y terrazas marinas. Cuenta además con una serranía que ocupa aproximadamente el 9,7% del territorio. En la parte central, se levanta la Sierra de Najasa, cuyo punto culminante es la [Sierra del Chorrillo](#), con 301 m de altura; hacia el sur, su territorio pertenece a la Llanura meridional de Camagüey, con tierras magníficas para la agricultura.

El clima de llanuras con humedad estacional, alta evaporación y [humedad ambiental](#), con promedio anual de sensaciones débiles de calor sofocante, que alcanzan fuerte magnitud en verano, durante la tarde y primeras horas de la noche. Los días con condiciones confortables alcanzan hasta 40 a 60% anuales, agrupadas en el periodo noviembre a abril. La insolación media es de hasta 8 h, con una suma mayor de 2 900 h/luz/año. El viento predominante es del noreste (1º cuadrante) con valores de 3,6 hasta 4,4 m/s .

Los datos sobre la información, ubicación y recogida de datos se observan en (Anexo 1).

3.2 Procedimientos para la recolección de información

Se diseñó un modelo de cuestionario (Anexo 2). El cual se llenó activamente por el propietario de cada unidad. En el cuestionario se relacionó los parámetros evaluativos, que procurará conocer las diferentes condiciones zootécnicas en que se encontraban las unidades en estudios. Así como las reales prácticas *in situ* que incidirían en el efecto o no de la fasciolosis en el municipio Najasa.

3.3 Determinación de la infestación de *Fasciola hepatica* a través de títulos de anticuerpos en leche mediante pruebas inmunoenzimáticas (ELISA)

Toma de muestras

Para el ELISA se utilizaron 81 muestras de granjas lecheras. La leche se tomó directamente de las cantinas en las unidades investigadas en hora fresca de las mañana, y se trasladaron al laboratorio de la Universidad en neveras refrigeradas. Luego se centrifugaron por 15 minutos a 12 000 g; el suero se alicuotó y almacenó a -20 °C hasta su uso.

Ensayo inmunoenzimático (ELISA)

Se emplearon placas de microtitulación de poliestireno Polisorb de 96 pocillos (Nunc, Dinamarca), previamente recubiertas con antígenos de proteínas de excreción-secreción de *Fasciola hepatica* (Sanovir, Bélgica). Se depositaron 100 µl por pocillo, de cada suero y siempre por duplicado. Se incubó durante una hora a 37 °C. La inmunorreactividad con las proteínas de *Fasciola hepatica*, se determinó por la reacción coloreada del conjugado con el cromógeno o-fenilendiamina (OPD; Sigma, EE.UU.). La relación óptica (ODR) en cada caso (Sanovir *F.hepatica*-Ab kit), se determinó a través de la fórmula:

$$ODR = \frac{\text{Densidad Óptica de la muestra} - \text{Densidad Óptica del control negativo}}{\text{Densidad Óptica del control positivo} - \text{Densidad Óptica del control negativo}}$$

Una vez calculado el valor de ODR estos resultados se comparan con los parámetros expuestos en el kit (Tabla 1).

Tabla 1. Parámetros expuestos en el kit

ODR	Interpretación de Resultados
< 0,3	No hay presencia del parásito
0,3 -0,6	Presencia del parásito, pero no hay afectación en la producción de leche
> 0,6	Presencia del parásito y afectación en la producción de leche

3.4 Análisis estadísticos

Se realizó una distribución de frecuencia para los niveles de ODR y la producción de vaca por año. Para determinar la relación entre estas variables, se empleó un modelo de regresión lineal. Se utilizó un ANOVA para determinar las diferencias de ODR entre las variables zootécnicas y un análisis *post-hoc* Student-Newman-Keuls. Se establecieron modelos de regresión lineal multivariado para ODR y la producción por vaca por año en el municipio Najasa; donde se incluyeron las variables zootécnicas que evidencian significación, después de un análisis univariado correspondiente en cada caso. Los análisis se realizaron en SPSS v 21.0 (SPSS Inc., Chicago, EE.UU.). Anexo 3.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Infestación por Fasciola hepatica en la masa bovina del municipio Najasa a través de ELISA.

La frecuencia de densidad óptica relativa (ODR) se muestra en la Figura 3. Se observó que el 19,8 % presentan valores por encima de 0,6 de ODR, lo que indica que en esas granjas la presencia del parásito afecta la producción de leche por vaca. El 61,7 % de las unidades tienen presencia del parásito ($ODR=0,3 - 0,6$); de acuerdo al fabricante del kit del ELISA la infestación por *Fasciola hepatica* no afecta la producción de leche. Por otra parte, solo el 18,5 % de las granjas no presentan contacto con el parásito ($ODR<0,3$, Sanovir *F. hepatica*-Ab kit). Estudios realizados en igual período de tiempo, en los municipios Vertientes, Camagüey y Jimaguayú, las prevalencias de infestación de *Fasciola hepatica* fueron superior (84,5; 90 y 92,5 %, respectivamente).

Figura 3. Distribución de frecuencia de los niveles de densidad óptica relativa (ODR).

Los resultados del presente son similares al que obtuvieron en Bélgica, con muestras de leche de 1105 rebaños. Donde diagnosticaron la presencia de anticuerpos anti *Fasciola hepatica* en leche a través del ELISA. Los autores informaron rangos de un 25 % de las muestras para 0,42, 50 % para un 0,57 y un 75 % para 1,06.

En la figura 4 se observa la variación de la producción de leche por vaca por año en los rangos de ODR. Existe una pérdida de 369,5 kg de leche por vaca, cuando los niveles de ODR están por encima de 0,6. Sin embargo, en el rango de 0,3 a 0,6, no existen diferencias en la producción de leche con las unidades donde el ODR fue inferior a 0,3. Estos resultados confirman que la infestación por *F. hepatica* afecta la producción de leche en bovinos. Además, se puede estimar que las pérdidas representan el 30% de la producción por vaca por año.

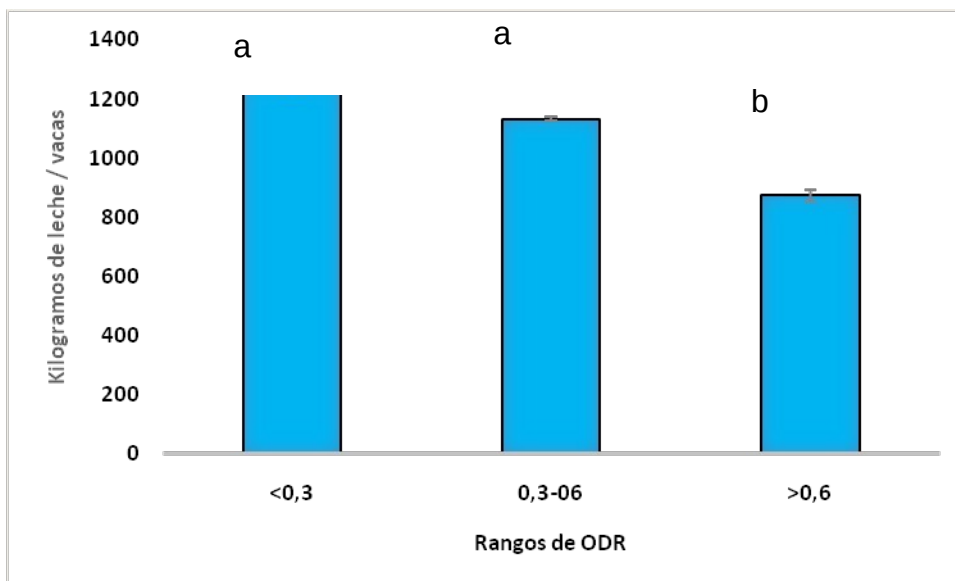


Figura 4. Producción de leche por vacas por año en los rangos de densidad óptica relativa (ODR) que califica el productor del kit de ELISA (Sanovir *F.hepatica*-Ab kit). Letras diferentes indica diferencias significativas ($P < 0,05$, ANOVA, Student Newman Keuls). Barra T es la desviación estándar.

La distribución de la producción de leche por vaca por año del municipio Najasa es de 1107,48 kg (Figura 5). Esta producción es similar a la que alcanzó la empresa pecuaria triángulo 1 en el año 2010 con 1122,32 kg por vacas por año (De Loyola *et al.*, 2010).

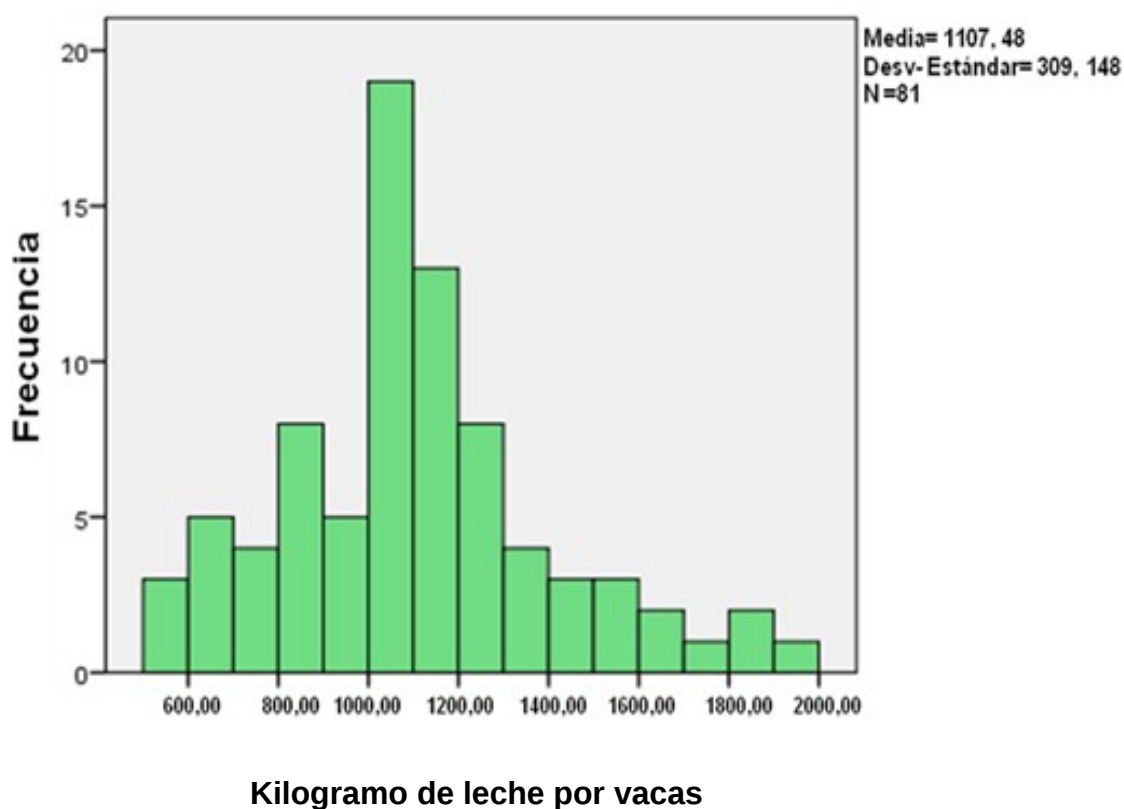


Figura 5. Distribución de frecuencia del rendimiento de kilogramos por vacas

4.2 Relación entre los niveles de ODR y el rendimiento lácteo en unidades del municipio Najasa.

La figura 6 representa la variación de la producción de leche por vaca por año en relación lineal con los niveles de infestación de *F. hepatica* ($r^2=0,14$). Este estudio vuelve a confirmar nuestros resultados, donde el incremento de la infestación por *F. hepatica* afecta negativamente la producción de leche por vaca por año. Las pérdidas en la producción

por incremento de los niveles de ODR en el municipio, es inferior a la que reporta Salimi-Bejestani *et al.*, (2005) en Inglaterra. Para este último autor, las pérdidas son cercas del 48 % en 623 unidades lecheras. Sin embargo, en Gales, con 445 granjas lecheras las pérdidas se estimaron en 86 %.

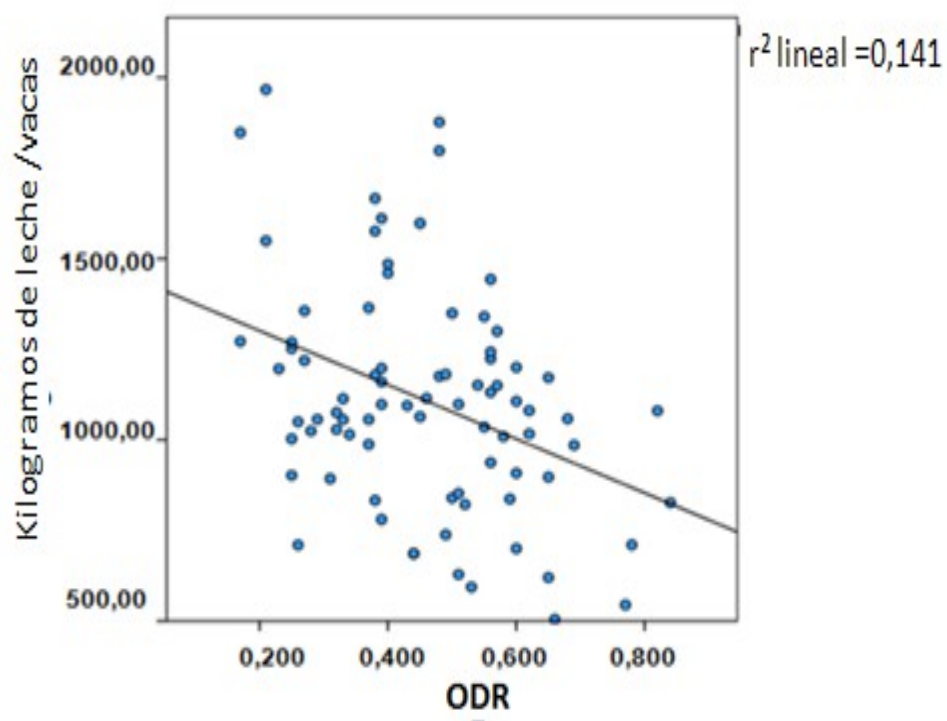


Figura 6. Regresión lineal entre densidad óptica relativa (ODR) y la producción por vaca por año.

4.3 Asociación de las variables productivas y de manejo con los niveles ODR.

Las variables productivas y de manejo referentes a las características de la unidad se muestran en la tabla 2. No se detectaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en los ODR en todas las variables estudiadas.

Tabla 2. Asociación de las variables referentes a las condiciones de la unidad con los niveles ODR

Variable			%	N	ODR	Desviación Estándar
Forma de producción	Estatat	UEB	2,5	2	0,500a	,014
		UBPC	13,6	11	0,390a	,103
	Privado	CPA	7,4	6	0,370a	,094
		CCS	76,5	62	0,455a	,166
Tipo de rebaño	Lechero		55,6	45	0,450a	,169
	Carne y leche		44,4	36	0,480a	,138
Área de la unidad	<=13,42 ha		30,9	37	0,430a	,148
	>13,42 y <=30 ha		11,1	43	0,490a	,153
	>30 ha		58,0	1	0,690a	-
Proporción de número de vacas por hectáreas						
<1			45,7	25	0,480a	,152
1-2			53,1	9	0,400a	,145
>2			1,2	47	0,440a	,160
Origen del agua						
Buena			12,3	10	0,445a	,144
Reserva natural			87,7	71	0,460a	,156
Disponibilidad del pasto en sequía						
-76- 100%			-	-	-	-
-51- 75%			76,5	62	0,455a	,166
-26- 50%			23,5	19	0,480a	,114
Disponibilidad del pasto en lluvia						

100%	-76-	34,6	28	0,495a	,139
75%	-51-	65,4	53	0,400a	,164
50%	-26-	-	-	-	-

letras iguales no hay significación.

Los presentes resultados no coinciden con el estudio que se realizó en Bélgica con 1 762 granjas lecheras, donde la variable tamaño del rebaño fue significativo para niveles de ODR (Bennema *et al.*, 2011). Sin embargo, nuestros resultados coinciden con los observados en el municipio Jimaguayú (en un estudio en paralelo al presente), en el cual no hubo significación para ODR en, ninguna de las variables que se estudiaron.

En la tabla 3 muestra los valores de ODR para las variables de manejo. Los valores de ODR correspondiente a las variables expuestas no son significativas ($p < 0,05$), por lo que no existe asociación con los niveles de ODR.

Aunque la variable de desparasitación cuando hay clínica de parasitismo no es significativa, presenta un ODR con valor de 0,7. Sin embargo, corresponde a una sola granja lechera por lo que es importante incrementar el número de granjas con esta característica.

Tabla 3. Relación de ODR con las variables de manejo

Variable		%	N	ODR	Desviación Estándar
Vacas Totales (vacas lactantes +Vacas secas):	<30	4,9	4	0,535a	,183
	30-60	16,0	13	0,480a	,103
	>60	79,0	64	0,450a	,163
Desparasitación					
Nunca		-	-	-	-
Con clínica de parasitismo		1,2	1	0,770a	-
Tratamiento preventivo		98,8	80	0,455a	,152

Pastoreo de las vacas con otras especies				
Ovino y chivo	4,9	4	0,565a	,104
Caballo	11,1	9	0,390a	,141
Otros	84,0	68	0,470a	,158
Rotación				
Si	-	-	-	-
No	100	81	0,460a	,155
Frecuencia de pastoreo en lluvia				
Día y Noche	-	-	-	-
>6 h por día	-	-	-	-
<6 h por día	100	81	0,460a	,155
Frecuencia de pastoreo en seca				
Día y Noche	-	-	-	-
>6 h por día	48,1	39	0,450a	,170
<6 h por día	51,9	42	0,480a	,141
Rehabilitación del pasto				
-sí, casi todo (50-100%)	4,9	4	0,590a	,085
-Parcialmente (<50%)	70,4	57	0,450a	,162
- No	24,7	20	0,440a	,137
Frecuencia de chapea				
- Comienzo de la sequía	74,1	60	0,455a	,151
- Fin de la sequía	25,9	21	0,480a	,169
Alimento complementario en sequía				
Si	67,9	17	0,440a	,131
No	32,1	64	0,485a	,161
Alimento complementario en lluvia				
Si	67,9	55	0,450a	,163
No	32,1	26	0,485a	,138

^a sin diferencia significativa $p < 0,05$

Bennema *et al.*, (2010) detectaron, que la variable frecuencia de pastoreo en lluvia fue significativa en Bélgica. Sin embargo, en Suecia y Reino Unido el 100 % de las variables dieron diferencias significativas. En otro estudio en Bélgica Bennema *et al.*, (2011)

asociaron el incremento de los niveles de infestación por *F. hepatica* cuando no se chapea.

La tabla 4 muestra el modelo multivariado de regresión lineal, de las variables en estudio asociadas al rendimiento. La variable pastoreo con otras especies, está asociada a la producción de leche. El pastoreo con equino se asocia a un incremento de la producción en 299,386 kg con respecto a la media. Por el contrario el pastoreo con ovino-caprino tiene un decrecimiento de 151,32 kg al comparar con la media.

Tabla 4. Modelo multivariado de regresión lineal en factores asociado al rendimiento de kilogramos por vaca en Najasa.

Parámetro	B	Error estándar	Sig.
Intercepto	1 386,56	97,07	0,00
[categoría por especies= Ovino-Caprino]	-151,32	141,77	0,29
[categoría por especies=Equino]	299,39	97,11	0,00
[categoría por especies=Porcino]	0 ^a		

a, Este parámetro se pone para cero porque es redundante;

El pastoreo con otras especies trae consigo deterioro del pastizal y la disminución de la disponibilidad del mismo, lo que influye directamente en la producción láctea. El principal factor asociado a la producción de leche es el consumo de *pasto*. Gonzáles, (2004); Camiruaga, García, Claire,, y Hirsch, (2005) y Gentile, (2006) refieren que la producción de leche se afecta por varios factores que pueden ser de origen genético y ambiental

como son: raza, edad de las vacas, época del año, etapa de lactancia, método y hora del ordeño, intervalo entre dos ordeños sucesivos, estado de salud, la alimentación y el clima. Además, se conoce que el momento, la intensidad y frecuencia del pastoreo afectarán a la pastura en su capacidad de rebrote, potencial de producción y persistencia (García Trujillo, 1977; del Risco, 2007).

En la tabla 5 se observa que la desparasitación cuando hay clínica de parasitismo y la carga de vacas por hectárea están asociadas al ODR ($r^2=0,12$).

Tabla 5. Modelo multivariado de regresión lineal variables asociadas al ODR.

Parámetro	B	Error estándar	Sig.
Intercepto	0,690	0,149	0,000
[desparasitación =existe clínica de parasitismo]	0,290	0,151	0,058
[desparasitación=tratamiento preventivo]	0 ^a		
[carga= < 1] vacas por hectárea	-0,269	0,151	0,005
[carga=1-2] vacas por hectárea	-0,210	0,151	0,005
[carga=>2] vacas por hectárea	0 ^a		

$r^2 = 0.12$, Cuando hay problema, Preventivo

a, este parámetro se pone para cero porque es redundante

Al disminuir la carga de animales por hectárea presenta menor el ODR; pudiera considerarse que disminuyen los factores de riesgo para el desarrollo epidemiológico como concentración de animales, decrece las expulsiones de huevos al medio.

La especie *Lymnea cubensis* domina en la mayoría de los ecosistemas donde la actividad humana (sobre todo ganadera) es elevada. En Cuba es el principal hospedero intermediario de la *F. hepatica* (Vázquez, Sánchez y Hevia, 2009). Además, Ueta, (2014) manifiesta que los esterales constituyen biotopos secundarios para el hospedero intermediario.

Cuando el animal presenta síntomas de parasitismo, hay un incremento de los niveles de ODR por la presencia del parásito. Cuando se aplicó el cuestionario los representantes manifestaron que el producto que se utilizó fue el Labiomec (avermectinas); el mismo no tiene eficacia contra la *F. hepatica*, Shoop *et al.* (1999) señalan que es improbable que cualquier avermectina o milbemycina muestre efectividad contra este parásito.

5. Conclusiones

- Los niveles de anticuerpos anti- *Fasciola hepatica* indican la alta prevalencia del parásito en los rebaños lecheros del municipio Najasa.
- La producción láctea por vaca por año está asociado a los niveles de infestación por *F. hepatica*.-.
- La desparasitación cuando existe clínica de parasitismo y alta carga de animales por hectáreas, están asociadas al aumento de los niveles de ODR.

6. Recomendaciones

- ✓ Evaluar los parámetros de calidad de la leche asociada al aumento de los niveles de anticuerpos de *F. hepatica*.
- ✓ Realizar un estudio geoestadístico que permita un análisis geográfico de distribución de *F. hepatica*.
- ✓ Incluir las variables climáticas asociadas al aumento de los niveles de *F. hepatica*.

7. Referencias bibliográficas

- Abdul-Hadi, S., Figueira, I., Madera, C., Olaizola, C., Contreras, R., Sánchez, M. A., & Colmenares, C. (2011). Estudio de la fasciolosis hepática humana y parasitosis intestinales en el caserío Mesa Arriba del municipio Carache, estado Trujillo, Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 29(2), 128-132.
- Angulo, F.F., Molero, M., Escalona, F.F., Muñoz, J., & Ramírez, R. (2007). Prevalencia y dinámica de hpg mensual de *Fasciola hepatica* y otros helmintos en un rebaño bovino de una zona inundable tropical. *Revista Científica, Maracaibo*.v 17 n. 2. Venezuela.
- Abunna, F., Asfaw, L., Megersa, B., & Regassa, A. (2010). Bovine fasciolosis: coprological, abattoir survey and its economic impact due to liver condemnation at Soddo municipal abattoir, Southern Ethiopia. *Tropical animal health and production*, 42(2), 289-292.
- Acha, P.N., & Szyfres, B. (2003). *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales*. 3aed. Washington: OPS. 413p
- Ademola, I., & Eloff, J. N. (2010). In vitro anthelmintic activity of Combretum molle (R. Br. ex G. Don)(Combretaceae) against Haemonchus contortus ova and larvae. *Veterinary Parasitology*, 169(1), 198-203.
- Bennema, C.S., Vercruysse, J., Morgan, E., Stafford, K., et al. 2010. Epidemiology and risk factors for exposure to gastrointestinal nematodes in dairy herds in northwestern Europe. *Veterinary Parasitology* 173 (2010) 247–254
- Bennema, S., Vercruysse, J., Claerebout, E., Schnieder, T., Strube, C., Ducheyne, E., . . . Charlier, J. (2009). The use of bulk-tank milk ELISAs to assess the spatial distribution

- of *Fasciola hepatica*, *Ostertagia ostertagi* and *Dictyocaulus viviparus* in dairy cattle in 11-Flanders (Belgium). *Veterinary Parasitology*, 165(1–2), 51-57. Disponible en : <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.07.006>
- Bennema, S.C., Ducheyne, E., Vercruysse, J., Claerebout, E., Hendrickx, G. Charlier, J. (2011). Relative importance of management, meteorological and environmental factors in the spatial distribution of *Fasciola hepatica* in dairy cattle in a temperate climate zone. *International Journal for Parasitology* 41 225–233
- Bowman, D.D., Linne, R.C., & Eberhard, M.L. (2004). *Georgis Parasitología para veterinarios*. 8 a ed. Madrid: *Elsevier*. 300 p.
- Carrada, B.T. (2007). *Fasciola hepatica*: Ciclo biológico y potencial biótico. *Rev Mex Patol Clin* 54(1):
- Carrada-Bravo, T., & Martínez, J. R. E. (2005). Fasciolosis. *Rev Mex Patol Clin*, 52(2), 83-96.
- Charlier, J., Claerebout, E., Duchateau, L., & Vercruysse, J. (2005). A survey to determine relationships between bulk tank milk antibodies against *Ostertagia ostertagi* and milk production parameters. *Veterinary Parasitology*, 129(1–2), 67-75. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.11.024>
- Charlier, J., De Cat, A., Forbes, A., & Vercruysse, J. (2009). Measurement of antibodies to gastrointestinal nematodes and liver fluke in meat juice of beef cattle and associations with carcass parameters. *Veterinary Parasitology*, 166(3–4), 235-240. Disponible en : <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.09.040>
- Charlier, J., Duchateau, L., Claerebout, E., Williams, D., Vercruysse, J. (2007). Associations between anti-*Fasciola hepatica* antibody levels in bulk-tank milk

- samples and production parameters in dairy herds. Preventive Veterinary Medicine 78 57–66. Disponible: www.elsevier.com/locate/prevetmed.
- Camiruaga, M., García, C., Claire, C. y Hirsch, P. (2005). Sistemas productivos de leche bovina [Versión electrónica]. Registrado en julio de 2008 en <http://www.puccl/sweduc/prodanim/mamif/siii9.htm>.
- Córdova, M., Reátegui, L., & Espinoza, J. R. (1999). Immunodiagnosis of human fascioliasis with *Fasciola hepatica* cysteine proteinases. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 93(1), 54-57. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/S0035-9203\(99\)90178-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0035-9203(99)90178-5)
- Cordero del Campillo, M., Rojo-Vásquez, F. D., Martínez, A. R., Sánchez, M.C., Hernández, S., Navarrete, I., Diez, P., Quiroz, H., Carvalho, M. (1999). *Parasitología Veterinaria*. España: Mc-Graw Hill Interamericana. 968 p.
- Domenech Cañete, I., Marcet Sánchez, R., Figueredo Pino, M., & Sarracent Pérez, J. (2009). Conservación de heces humanas para la detección de antígenos de excreción-secreción de *Fasciola hepatica*. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 61(2), 0-0.
- Drugueri, (2005). Distomatosis. Foro ZoeTecnocampo. [Internet], [15 octubre 2015].
- Duménigo, B.E., Finlay, C.M. (1998). Detección y cuantificación de coproantígenos de *Fasciola hepatica* en ganado ovino. *Rev Cubana Med Trop* 50 (Supl. 1): 82-84.
- de Loyola, (2010). Efectos de una mayor intensidad de partos al inicio de la época lluviosa, sobre la eficiencia bioeconómica de vaquerías comerciales. Tesis de Doctorado en Ciencias (Versión predefensa), Universidad de Camagüey Ignacio Agramante y Loynaz, Cuba

- Espino, A.M., Borges, A., Duménigo, B.E. (2000). Coproantígenos de *Fasciola hepaticade* posible utilidad en el diagnóstico de la fascioliasis. *Rev Panam Salud Pública/Pan Am J PublicHealth* 7(4): 225-231.
- FAO, (2003). Resistencia a los Antiparasitarios: Estado Actual con Énfasis en América Latina. Dirección de Producción y Salud Animal. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, FAO. Viale de IleTermediCaracalla. 00100. Roma, Italia. 1- 43. Disponible en: <http://cnia.inta.gov.ar/helminto>
- Happich, F.A., Boray, J.C. (1969). Quantitative diagnosis of chronic fasciolosis. 1. Comparative studies on quantitative faecal examinations for chronic *Fasciola hepatica* infection in sheep. *Aust. Vet J* 45: 326-328
- González, R., Ruano, P.M., & Brito, S. (2007). Fasciolosis bovina. Evaluación de las principales pérdidas provocadas en una empresa ganadera. *Rev. Salud Anim.* Vol. 29 No. : 167-175
- Gállego, J. 2007. *Manual de parasitología: morfología y biología de los parásitos de interés sanitario*. España: Ed Universitat Barcelona. 516 p.
- Gramajo, J. (2006). Enfermedad parasitaria. Fasciolosis presente en la ganadería correntina. 2006.
- Gorman, T., Moreno, P., Lorca, M., Ibarra, L., Alcaíno, H. (1991) Inmunodiagnóstico de la fasciolosis animal mediante una prueba inmunoenzimática (ELISA). *Parasitol al Día* 15: 87-93
- Gentile, A. (2006). Lácteos [Versión electrónica]. Registrado en mayo de 2008 en <http://www.monografias.com/trabajos6/lacte/lacte.shtml>.
- Gonzáles, H. (2004). Factores nutricionales que afectan la producción y composición de la leche. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias agronómicas. Dpto. de

- Producción Animal. 2004, en <http://agronomia.uchile.cl/extension/ircularextensiopanial/circulardeextension/nb028/articulospd/Articulo2.pdf#serch=factoresqueinfluyenenlacalidaddelaleche.html>
- García-Trujill, R. (1977). Alimentación de vacas lecheras basada en la utilización de los pastos y forrajes. Matanzas, Cuba: Estación Experimental "Indio Hatuey".
- Girão, E.S., & Ueno, H. (1985). Técnica de Quatro Tamises para o Diagnóstico Coprológico Quantitativo da Fasciolose dos Ruminantes. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 20 (8): 905-912
- Keiser, J., & Utzinger, J. (2005). Emerging foodborne trematodiasis. *Emerging infectious diseases*, 11(10), 1507
- Leguía, G. (1999). Enfermedades parasitarias de camélidos sudamericanos. Lima: Del Mar. 190p.
- López, L., María del H, H. S., & Acuña Ana María, N. A. (2011). Fascioliasis en la República Oriental del Uruguay. 2004.
- Mego, J. (2009). La Fascioliasis Humana y Animal. Facultad de Medicina Veterinaria Curso Seminario Avanzado de investigación Cajamarca. Disponible en: http://veterinaria.unmsm.edu.pe/files/Fasciolasis_mego.pdf
- Marcos, L., Terashima, A., Leguia, G., Canales, M., Espinoza, J., & Gotuzzo, E. (2007). La infección por Fasciola hepatica en el Perú: una enfermedad emergente. *Revista de Gastroenterología del Perú*, 27(4), 389-396.
- Martínez Sánchez, R. (2011). Fasciolosis hepática: Revisión clínico-epidemiológica. *Boletín epidemiologico semanal. Instituto Pedro Kouri. Bolipk*, 21(16), 121-127.

- Mas-Coma MS, Esteban JG, Bargues MD. 1999. *Epidemiology of human fasciolosis: a review and proposed new classification*. B World Health Org 77: 340-346.
- Mas-Coma, S., Bargues, M., & Valero, M. (2014). *Fascioliasis Helminth Infections and their Impact on Global Public Health* (pp. 93-122): Springer.
- Meeusen, E., Lee, C., Rickard, M., & Brandon, M. (1995). Cellular responses during liver fluke infection in sheep and its evasion by the parasite. *Parasite immunology*, 17(1), 37-45.
- Mezo, M., González-Warleta, M., Carro, C., & Ubeira, F. M. (2004). An ultrasensitive capture ELISA for detection of *Fasciola hepatica* coproantigens in sheep and cattle using a new monoclonal antibody (MM3). *Journal of Parasitology*, 90(4), 845-852.
- Moriena, R., Racioppi, O., Álvarez, J., & Lombardero, O. (2001). *Fasciola hepatica* y otros trematodos en bovinos: Prevalencia según decomisos en plantas faenadoras en la provincia de Corrientes (Argentina). *Vet. Arg*, 18(177), 493-498.
- Ndlovu, T., Chimonyo, M. & Muchenje, V. (2008). *Trop. Anim. H. Prod.*, 41:1169–1177.
- Olaechea, F.V. (2007). *Fasciola hepatica*. En: Suárez, V.H., Romero, J.R., Rossanigo, C.E. eds. *Enfermedades parasitarias de los ovinos y otros rumiantes menores en el cono sur de América*. Argentina: INTA. p 159-168
- Olaechea, F. V. (2004). *Fasciola hepatica*. Paper presented at the Red de Helmintología de FAO para América Latina y el Caribe Conferencia Electrónica Septiembre.
- Parffit, J.W. (1970). A method for counting *Fasciola* eggs in cattle faeces in the field. *Veterinary Record* 87: 180-182

- Quiroz, HR. (2000). *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos*. México: Uteha. 875p
- Rahman, M.M., Samad, M.A. (2010) Prevalence of subclinical gastro-intestinal parasitosis and their effects on milk production with therapeutic management in red 16.chittagong cattle. *Bangl J Vet Med* 8(1): 11-16.
- Reichel, M. P., 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. *Veterinary Parasitology*, 129(1–2), 61-66.
Disponibile en : <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.12.013>
- Rojas. C.M. 2004. *Nosoparasitosis de los Rumiantes Domésticos Peruanos*. 2 aed. Lima: Maijosa.146p.
- Rozo, B., & Margarita, W. (2009). Consideraciones sobre estrategias sostenibles para el control de *Fasciola hepatica* en Latinoamérica. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 14(1), 28-35.
- Salimi-Bejestani, M., Daniel, R., Felstead, S., Cripps, P., Mahmoody, H., & Williams, D. (2005). Prevalence of *Fasciola hepatica* in dairy herds in England and Wales measured with an ELISA applied to bulk-tank milk. *Veterinary record*, 156(23), 729-731.
- Soulsby, E.J. (1993). *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos*. 7ª ed. México: Interamericana. 823 p.

- Serrano, E. (2003). Situación de la salud animal en Cuba y su ubicación en el contexto internacional. Paper presented at the Conferencia Magistral. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Santa Clara. Cuba.
- Serrano, E. (2001). Situación de la salud animal en Cuba y su ubicación en el contexto internacional. Paper presented at the Conferencia Magistral. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Santa Clara. Cuba.
- Shoop, W.L., Ostlind, D.A., Rohrer, S.P., Mickle, G., Haines, H.W., Michael, B.F., *et al* 1995. Avermectins and milbemycins against *Fasciola hepatica*: *In vivo* drug efficacy and *in Vitro* receptor binding. *International Journal for Parasitology*. Volume 25, Issue 8, August 1995, Pages 923–927
- Shore, L. (2007). *Diagnostic Medical Parasitology*. 5aed. Washington: AMS Press. 1202p
- StataCorp, L.P. (2011) Stata Statistical Software: STATA, version 12, College Station, Texas, 77845 USA.
- Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T., Castel, V., Rosales, M., & de Haan, C. (2009). *La larga sombra del ganado: problemas ambientales y opciones*: FAO.
- Taira, N., Yoshifuji, H., & Boray, J.C. (1997). Zoonotic potential of infection with *Fasciola* spp. By consumption of freshly prepared raw liver containing immature flukes. *Int J Parasitol* 27:775-779
- Thanh, N. T. G. (2012). Zoonotic fasciolosis in Vietnam: molecular identification and geographical distribution. Thesis Doctoral. Faculty of Veterinary Medicine university. Parasitology Department and mycology. 133. Disponible en: <http://www.vpi.ugent.be/page13/files/giang-thanh-nguyen-thi-2.pdf>

- Ueta, M.T., 2014. Corrença de infecção natural de *Fasciola hepática* Linnaeus, 1758 em *Lymnaea columella* Say, 1817 no Vale do Paraíba, SP, Brasil. *Rev. Sau. Publ. (SP)*. 2014; 14: 230–233
- Urquhart GM, Armour J, Duncan JL, Dunn AM, Jennigs FW. 2001. *Parasitologia Veterinaria*. 2a ed. Zaragoza: Acribia. 355 p.
- Vázquez, A., Sánchez, J., Pointier, J.-P., Théron, A., & Hurtrez-Boussès, S. (2013). *Fasciola hepatica* in Cuba: compatibility of different isolates with two intermediate snail hosts, *Galba cubensis* and *Pseudosuccineae columella*. *Journal of helminthology*, 1-7.
- Vázquez, P.A., Sánchez, N.J y Yosvania Hevia, J.Y. (2009). Distribución y preferencia de hábitats de moluscos hospederos intermediarios de *Fasciola hepatica* en Cuba. *Rev. Cubana Med. Trop* 2009;61(3):248-53

8. Anexos

Anexo 1

Tabla 1. Información sobre recogida de datos.

Nombre de la variable	Detalles	Fuentes de información
Municipio	Municipio	Cuestionario
Forma de producción	Estatat Privada	Cuestionario
Tipo de rebaño	Lechero Doble propósito	Cuestionario
Área de la unidad	Tamaño de la unidad	Propietario
Tiempo de pastoreo en sequia	Pastoreo en sequia	Cuestionario
Alimento complementario en seca	Forraje en sequia	Cuestionario
Disponibilidad del pasto en sequia	Proporción del pasto	Cuestionario
Tiempo de pastoreo en lluvia	Pastoreo en lluvia	Cuestionario
Alimento complementario en lluvia	Suplementación en lluvia (forraje)	Cuestionario
Disponibilidad del pasto en lluvia	Proporción del pasto	Cuestionario
Rehabilitación del pasto	Tipo de habilitación de pasto	Cuestionario
Frecuencia de chapea	Momento en que chapean	Cuestionario

Rotación	Rotación del pasto	Cuestionario
Pastoreo con otras especies	Especies que pastan junto a vacas lecheras	Cuestionario
Desparasitación	Cuando se realiza	Cuestionario
Fuente de agua	Fuente de agua utilizada	Cuestionario
Total de producción	Total de producción por año	Industrialáctea
Vacas lecheras	Número de vacas lecheras en el rebaño	Propietario
Total de Vacas.	Número de vacas en el rebaño.	Propietario
ODR	Densidad óptica relativa.	Análisis de laboratorio
Kilogramo de leche por vaca	Producción lechera diaria por vaca.	Calculado con los datos obtenidos con el Propietario y la industria láctea.
Cantidad de animal	Talla del rebaño	Propietario
Carga	Vacas por hectáreas.	Propietario

Anexo 2

Tabla 2. Modelo de cuestionario

1. Forma de producción	Estado	UEB	<input type="checkbox"/> 1
		UBPC	<input type="checkbox"/> 2
	Privada	CPA	<input type="checkbox"/> 3
		CCS	<input type="checkbox"/> 4

2. Tipo de rebaño	<input type="checkbox"/> Lechero <input type="checkbox"/> Lechero y carne	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2
3. Tamaño del rebaño(vacas lactantes +Vacas secas)	<input type="checkbox"/> <10 <input type="checkbox"/> 10-30 <input type="checkbox"/> >30	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3
4. Carga de vacas por hectáreas	<input type="checkbox"/> <1 <input type="checkbox"/> 1-2 <input type="checkbox"/> >2	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3
5. Promedio de producción de leche	<input type="text"/> Por vaca por año <input type="text"/> Por vaca por día	<input type="text"/> ____Kg <input type="text"/> ____Kg
6. Área de la unidad		<input type="text"/> ____ha
7. Tiempo de pastoreo en sequía	<input type="checkbox"/> Día y noche <input type="checkbox"/> >6 horas por día <input type="checkbox"/> <6 horas por día	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3
8. Alimento complementario en seca	<input type="checkbox"/> Si (cuál) _____ <input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2
9. Disponibilidad del pastos en la época de seca	<input type="checkbox"/> -76-10% <input type="checkbox"/> -51-75% <input type="checkbox"/> -26-50% <input type="checkbox"/> -1-25% <input type="checkbox"/> -0%	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5
10. Tiempo de pastoreo en lluvia	<input type="checkbox"/> Día y Noche <input type="checkbox"/> >6 h por día <input type="checkbox"/> <6 h por día	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3
11. Alimento complementario en lluvia	<input type="checkbox"/> Si (Cuál)_____) <input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2
12. Disponibilidad del pasto en la época de lluvia	<input type="checkbox"/> -76-100% <input type="checkbox"/> -51-75% <input type="checkbox"/> -26-50% <input type="checkbox"/> -1-25% <input type="checkbox"/> -0%	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5
13. Rehabilitación del pasto	<input type="checkbox"/> Chapea <input type="checkbox"/> -sí, casi todo (50-100%) <input type="checkbox"/> -Parcialmente <input type="checkbox"/> (<50%) <input type="checkbox"/> -No	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3
14. Rotación de las vacas por cuarterones	<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2

15. Pastoreo de vacas con otras especies	Ovinos Cabras Caballos Puercos Otros (Cuál_____)	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5
16. Desparasitación	Nunca Con clínica de parasitismo Tratamiento preventivo Comienzo de la sequía Comienzo de la época de lluvia Otros	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6
17. Fuente de agua	Pozo Estanque Acueducto	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3

Anexo 3

*basedatosyipsi.sav [DataSet1] - IBM SPSS Statistics Data Editor

File Edit View Data Transform Analyze Direct Marketing Graphs Utilities Add-ons Window Help

*basedatosyipsi.sav [DataSet1] - IBM SPSS Statistics Data Editor

File Edit View Data Transform Analyze Direct Marketing Graphs Utilities Add-ons Window Help

112 : NutSupldryseason 2 Visible: 27 of 27 Variables

	SNraining	Propgrassrain ing	grassshabilitat on	whenmowing	rotation	species	deworming	watersource	totalprod	DairyCow	TotalCow	ODR	KgCow	cat
275	2	1	1	1	2	4	3	2	1476	2	10	.490	738.00	
276	1	1	3	1	2	4	3	1	11703	15	20	.390	780.20	
277	2	1	3	1	2	5	3	2	9859	12	15	.520	821.58	
278	2	1	2	2	2	5	3	1	5038	6	20	.500	839.67	
279	1	1	2	1	2	1	3	2	12780	15	24	.510	852.00	
280	2	2	2	1	2	3	3	2	4464	5	20	.310	892.80	
281	1	1	3	2	2	4	3	1	7216	8	31	.250	902.00	
282	2	2	1	2	2	3	3	2	64038	65	542	.690	985.20	
283	2	1	3	1	2	4	3	2	8072	8	13	.580	1009.00	
284	2	1	1	2	2	1	3	2	39630	39	70	.620	1016.15	
285	1	1	3	2	2	5	3	2	28790	28	35	.320	1028.21	
286	1	1	3	2	2	4	3	2	20703	20	25	.550	1035.15	
287	1	1	3	1	2	4	3	2	16795	16	25	.260	1049.69	
288	2	2	2	2	2	4	3	2	8602	8	15	.320	1075.25	
289	2	1	2	1	2	5	3	2	12967	12	24	.620	1080.58	
290	1	2	3	2	2	1	3	2	13132	12	20	.430	1094.33	
291	2	2	2	2	2	4	3	1	13176	12	20	.510	1098.00	
292	1	1	2	2	2	4	3	2	8048	7	20	.570	1149.71	
293	2	1	3	1	2	4	3	2	3452	3	10	.540	1150.67	
294	1	2	2	1	2	4	3	2	10545	9	12	.650	1171.67	
295	2	1	2	2	2	5	3	2	17629	15	30	.480	1175.27	
296	2	1	3	1	2	4	3	1	37936	31	40	.560	1223.74	