

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE BIOLOGÍA



**PRESENCIA DE *Fasciola hepatica* Y SU PREVALENCIA EN BOVINOS
DE CUATRO HUMEDALES DE EL SALVADOR**

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:
YOLANDA ISABEL MARTÍNEZ RODRÍGUEZ

PARA OPTAR AL GRADO DE:
LICENCIADA EN BIOLOGÍA

CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, JULIO 2019

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE BIOLOGÍA



**PRESENCIA DE *Fasciola hepatica* Y SU PREVALENCIA EN BOVINOS
DE CUATRO HUMEDALES DE EL SALVADOR**

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR
YOLANDA ISABEL MARTÍNEZ RODRÍGUEZ

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADA EN BIOLOGÍA

DOCENTE ASESOR
M. Sc. JUAN FRANCISCO ALVARADO PANAMEÑO

CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, JULIO 2019

NIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMATICA
ESCUELA DE BIOLOGIA



**PRESENCIA DE *Fasciola hepática* Y SU PREVALENCIA EN BOVINOS
DE CUATRO HUMEDALES DE EL SALVADOR**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:
YOLANDA ISABEL MARTÍNEZ RODRÍGUEZ**

**PARA OPTAR AL GRADO DE:
LICENCIADA EN BIOLOGÍA**

TRIBUNAL CALIFICADOR

LIC. JOSÉ DAVID PABLO CEA
Miembro Tribunal Calificador

Ms.D. MARTHA NOEMÍ MARTÍNEZ HERNÁNDEZ
Miembro Tribunal Calificador

M.Sc. JUAN FRANCISCO ALVARADO PANAMEÑO
Docente Asesor
Depto. de Zootecnia, Fac. de CC. AA. UES

CIUDAD UNIVERSITARIA, JULIO 2019

**AUTORIDADES UNIVERSITARIAS
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

RECTOR
MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS

VICERRECTOR ACADÉMICO
DR. MANUEL DE JESÚS JOYA

VICERRECTOR ADMINISTRATIVO
ING. AGR. NELSON BERNABÉ GRANADOS

SECRETARIO GENERAL
LIC. CRISTÓBAL HERNÁN RÍOS

FISCAL
LIC. RAFAEL HUMBERTO PEÑA MARTIN

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

DECANO
LIC. MAURICIO HERNÁN LOVO CÓRDOVA

VICE DECANO
LIC. CARLOS ANTONIO QUINTANILLA APARICIO

SECRETARIA
M.Sc. DAMARIS MELANY HERRERA TURCIOS

DIRECTORA ESCUELA DE BIOLOGÍA
M.Sc. ANA MARTHA ZETINO CALDERÓN

CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, JULIO 2019

DEDICATORIA

A DIOS Y PADRE CELESTIAL, Fiel amigo, director y proveedor de mis fuerzas para caminar y cumplir su propósito. Por darme el conocimiento y la perseverancia para alcanzar la meta frente a cualquier obstáculo y fortalecerme en mi debilidad. Por darme una familia que con tanto amor me ha dado todo lo que puede, por la que vale la pena levantarse, luchar y ganar cualquier batalla. Por mi país y mi pueblo, por mi amada Universidad de El Salvador (UES), quien me formó académicamente, por mis docentes, compañeros y administrativos, porque cada uno era la pieza exacta necesaria en mi historia de vida.

A Mi padre: OLEGARIO DE LOS ANGELES MARTINEZ ANGEL (Q.D.D.G.). Mi pilar del amor. Sus hijos: su razón de ser, expresado con su vida, hasta su última mirada. Por todos sus detalles gigantes y diminutos. Por su dulce voz y su guitarra cantando "Por la lejana montaña" (Simulando cabalgata, con sus dedos sobre la mesa de su máquina) y más canciones que entre lágrimas aun suenan en mi mente, deseando congelar el tiempo. Por enseñarnos que para amar siempre hay tiempo, alojándonos entre su pecho y la máquina de coser, mientras trabajaba. Por jugar a espulgarnos con ingenio diciendo: shhh silencio, ahí va un piojo, oiga el tropel.. (Simulando cabalgata). Por su risueña complicidad en mis travesuras de cortes y tintes de cabello con tal de verme sonreír. Por anhelar llegar a casa y vernos correr a sus brazos con plena confianza que no nos dejaría caer. Por estar dispuesto a dar su vida en sacrificio por su familia, en medio de la guerra y tomar la decisión más sabia para protegernos. Por su gran paciencia, apoyo y complicidad en nuestras aspiraciones de vida. Por proveerme y acompañarme a recibir mi título de bachiller y sé que su corazón me acompañara a recibir el que sigue. Mi mejor cantante, sastre y agricultor y sobre todo: EL MEJOR PADRE.

Mi madre: ELSA HELVA RODRIGUEZ DE MARTINEZ Mi pilar de fortaleza. Por su enorme amor y enseñanza de buscar hacer lo correcto, por su ejemplar fortaleza, trabajo y responsabilidad, por su capacidad de extender sus alas cubriendo con amor nuestras necesidades y las de lo que Dios le permite: Por enseñarnos a compartir, respetar y tantos valores; aun por preceder los castigos, de un "porque" y un "para qué?", un llamando a la obediencia y sabiduría. Por enseñarnos la Fe en nuestro Padre celestial, a administrar con gratitud lo que Dios nos brinda, a ser útiles desde el más grande hasta el más pequeño. Por luchar día y noche en esa máquina de coser para darnos el sustento y el amor necesario. Por estar siempre a mi lado. Por cuidarme el moluscario de la tesis cuando me enferme, expuesta que no la dejaran entrar al laboratorio. Por acompañarme y cuidarme en las noches que pudo quedarse conmigo en el laboratorio para registrar la eclosión de miracidios ! Mamita, Cómo? pagarte tanto, tanto...? , si me ha ayudado a salir adelante entre tanta adversidad para culminar este trabajo. Por ser la mejor costurera, ama de casa y LA MEJOR MADRE.

A mi bisabuelo TOMAS MARTINEZ (Q.D.D.G.), quien me amó desde que nací, hasta el último día de su vida, enseñándome el amor y la sabiduría de nuestros pueblos, por buscar recrearnos en las feria. Por guardarme siempre un sorbito de su comida. Por esperarme ansioso cada tarde al regreso de clases, por sonreír hasta las lágrimas cuando me veía jugar feliz y hacer locuras, ver en mi la niña más inteligente y valiosa en su vida, por intentar protegerme en los riesgos. Por repartir su gran amor en cada acción a sus descendientes.

A mi hermano: FRANCISCO ALEJANDRO MARTINEZ RODRIGUEZ, Mi pilar de inspiración. Un gran ejemplo de vida, responsabilidad y superación para servirle a su familia. Siendo el único varón, nunca busco ser el centro de atención, siempre integrado en las responsabilidades de casa, ayudaba a papá a cultivar y cuando la guerra interrumpió su estudio y hubo riesgo, mi padre lo envió para protegerlo. A sus trece años empezó a trabajar y luchaba por proveer a casa y continuar sus estudios. Ni la distancia física, ha opacado su amor por nosotros. Mil gracias por ser mi ejemplo, mi inspiración y mi apoyo, gracias también por su ayuda económica y por proveerme las herramientas de estudio que mis papitos no podían darme. Gracias por amar y valorar y sentirse orgullo de sus hermanas, nuestros padres y sus hijos, como el centro de su corazón. Sin ustedes no estaría culminando esta etapa y las que restan. Mi amado hermano Francy.

A mis hermanas: MARTIZA ELIZABETH. Pilar de responsabilidad y apoyo: siendo la mayor, apoyaste a mis papitos cuidándonos como una segunda madre, igual que mi hermano anhelaban siempre apoyar el arduo trabajo de nuestros padres y proveer para los más pequeños. Mil gracias, por enseñarnos también a confiar en Dios que milagrosamente te levanto del colapso de aneurisma, dándote una segunda oportunidad de vida. Gracias por ser ese ejemplo vivo del poder y la misericordia de Dios. Te amo hermana mía.

MARTA NOEMY. Pilar de protección y salud. Gracias hermanita bella por tu gran amor, por tus cuidados, por tus atenciones y preocupación en mi salud. Por escucharme y comprenderme, por estar siempre a mi lado, por defenderme con todo y contra todo, por querer siempre cuidarme y buscar lo mejor. Sin ustedes no habría llegado hasta aquí. Cómo agradecer tanto bien de Dios a través de ustedes? Mil Gracias hermanita. Te ama, la niña, que espera estar junto a ti, los días que nos resten.

ELSA BEATRIZ Pilar de Fe. Gracias a ti hermanita, por ser la primera en encontrarse con JESUS y guiarnos la congregación donde Dios ha derramado tantas bondades y milagros, donde también hemos aprendido a ser fuertes y a depender de Dios, poniendo siempre la mirada en El Fiel, el único que nunca falla y nos acompaña siempre. Gracias por enseñarme la dependencia de Dios únicamente y la confianza en su amor aunque a veces guarde silencio y no responda cuando o como esperamos. Gracias también por ayudarme en mi trabajo de grado, montando las muestras vegetales con paciencia y por todos tus cuidados. Te amo mi Beguis!!

MARIA DE JESUS, Mi pilar de tenacidad y superación. Gracias hermanita por irradiar esa fuerza y darme esa plena seguridad de que pasaría el examen a la primera Si no me hubieras enviado a la UES por la inscripción, quizá no habría iniciado y por ende culminado esta carrera. Tu ejemplar lucha por la superación y tenacidad ante todo obstáculo, son una inspiración para vencer. Gracias también por ese gran amor, por llorar el día de tu boda porque ya no vivirías con nosotros y buscar estar siempre cerca, gracias por enseñar a tu esposo a amarnos como familia. Mil gracias a los dos por ese par de angelitos llenos de amor, que me han brindado tanto aliento con sus besos, abrazos, sus notitas y dibujos, su vidita que me llena de luz, por dejar que me digan mami y ser mis motorcitos de vida. Gracias a ellos por comprender el tiempo dedicado a la tesis.

A mis sobrinos, Mis pilares de ternura: YEYMY RACHEL, GRACIELA ELIZABETH, JOSÉ DAVID, ÁNGEL DANIEL; ALEJANDRO GABRIEL, JUSTIN ÁNGELO, KIMBERLLY, MARVIN ALEXIS, LAURA ABIGAIL, MIGUEL ÁNGEL, NELSON VLADIMIR, ALEJANDRA BEATRIZ, WALTER ANTONIO, PAOLA DANIELA. **A mis sobrinitos²:** CHRISTIAN ARIEL, RACHELL GISSELLE, JORDAN VLADIMIR, BILLY ELÍAS, ARTEMIS CATALINE, FERNANDO JOSÉ, MACKENZYE GISSELLE, SCARLETT ABIGAIL, DIEGO ALEXANDER, GABRIELITO y ASHLEY DANIELA. Por pintar una sonrisa y darme ánimos de vivir. Heredad de Dios a mis padres.

A mis primos-hermanos:

VILMA GLORIA, LILIA DEL CARMEN, MIGUEL ÁNGEL Y MAYBY MARTÍNEZ, por ser nuestros casi hermanos por estar siempre pendientes de acudir en los momentos de mayor dificultad y por el invaluable apoyo en la enfermedad de mi padre. A LILY y su esposo ALEJANDRO RUIZ por el valioso respaldo en mi viaje y estancia en México para la ratificación de especies de este trabajo, por brindarme allá una hermosa familia (ARACELY RUIZ, SARITA PEÑA, GABRIELA RUIZ Y RAMÓN GONZALES). Mil Gracias a cada uno de ustedes por poner un bloque importante en mi edificación profesional y personal. Bendiciones.

A mis compañeros que terminaron la carrera de la vida, un poco antes de recibir su título UES.

SILVIA MARGARITA LÓPEZ GARAY, compañera de toda la carrera, gran inteligencia y capacidades, gracias por compartirme sus clases de química, cuando yo no tenía lentes, por todos los trabajos compartidos y por ser una agradable persona llena de luz. ROBERTO WILSON MARTÍNEZ PINTO, compañero en muchas materias, inteligente, capaz y altruista, de singular amistad, me brindo transporte a metro, cuando ya no había transporte público. OSCAR ROLANDO ALEMAN (Varias materias compartidas) por su entusiasmo, apoyo y hasta admiración, por su fe en este trabajo, que sé que desde donde está, lo podrá ver con cariño. WALTER RIVERA no compartimos materias pero conocí su gran ejemplo de superación, sobrellevando paralelos su carrera, trabajo y su admirable arte musical. A los cuatro por nuestro común anhelo de culminar con éxito la carrera y servirle a nuestra gente, a veces pendiendo de un hilo de vida.

“Bienaventurado el que encuentra sabiduría y adquiere entendimiento; porque su ganancia es mejor que la ganancia de la plata, y sus utilidades mejor que el oro fino”. Proverbios 3:13-14

Yolanda Isabel Martínez Rodríguez.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por la oportunidad de vivir y gozar de su amor tangible cada día y de una familia que me ama y con esfuerzo me dio el estudio y se mantuvo a mi lado fielmente. A mi país, mi gente y mi estado, con cuyo esfuerzo e impuestos nos proporcionan la formación profesional y oportunidades de desarrollar ciencia en beneficio nacional y hasta donde sea útil.

A la Universidad de El Salvador por seleccionarme, formarme académica-científicamente. A la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática y a la honorable Junta Directiva, especialmente a los decanos M.Sc. Martín Guerra y Lic. Mauricio Lovo, vicedecanos Lic. Ramón Paz Sánchez y Lic. Carlos Quintanilla, docentes de Junta Directiva, representantes de la escuela, Lic. Milagro Salinas, Lic. Napoleón Canjura, por su enorme apoyo en trámites académicos, administrativos, financieros y formativos de mi carrera.

A los Docentes vinculados con mi proceso de graduación, Coordinadores M.Sc. Francisco Chicas (por toda su enseñanza en Estadística, Seminario y ese gran apoyo en la fundamentación de la tesis). A M.Sc. Yanira López por sus funciones e invaluable apoyo en el proceso de graduación, por facilitarme cristalería y material especial de laboratorio (capsulas de cultivo, láminas excavadas, lámina micrométrica). Por su asesoría en mi Servicio Social, por las materias (Biología molecular, Marcadores moleculares), por brindarme su atención y comprensión en momentos de dificultad. Un fuerte abrazo de Gratitud Lic. Yany.

A mi asesor M.Sc. Juan Francisco Alvarado Panameño, por su apoyado constante desde la formación de la idea (su mapa conceptual), hasta culminar esta investigación, por brindarme sus conocimientos académicos, zootécnicos y parasitológicos, apoyo en campo y transporte cuando fue necesario. Por incentivar me valorando mi esfuerzo y enfatizando la importancia de la investigación, alentarme en las dificultades, escuchando mis inquietudes y aconsejándome lo mejor para mi trabajo de grado y profesión, gracias Ing. Por brindarme también su respetuosa e invaluable amistad. Agradezco a la facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Zootecnia, por proporcionarme un asesor que me ha apoyado tanto. Por abrirme las puertas en la Estación Experimental y de Prácticas, para la fase de campo. Al laboratorio de Química por proveerme el agua destilada para toda la fase de laboratorio y al Lic. Macario Pineda por su apoyo y revisión del Abstrac y palabras clave del Artículo Científico. Mil Gracias.

A mi asesor Biólogo y MVZ Roberto Guillen Paredes por su entusiasmo impartir Bioquímica, Genética, Evolución y Parasitología, por apoyar mi tema desde Seminario, hasta su jubilación, siempre agradeceré su participación en mi proceso de grado: su tiempo en revisar mis manuscritos, su apoyo en campo y fase experimental cuando le fue posible, por prestarme su microscopio personal en busca de mejor resolución. Por prestarme sus libros, que fueron la base teórica de mi investigación. Por motivarme y guiarme en la gestión

de mi ponencia en el congreso de microbiología y parasitología 2013 y por mostrarse orgulloso de ser mi docente y felicitarme, gracias por sentirse satisfecho de compartir su saber.

A los docentes que integraron el tribunal calificador: Ms.D. Marta Noemí Martínez Hernández y Lic. José David Pablo Cea, por su esfuerzo en la revisión del documento del trabajo de graduación, por sus atinadas observaciones y sugerencias que permitieron mejorar y orientar la información a una mejor comprensión y énfasis del aporte de la investigación a la ciencia. Mil gracias por su invaluable apoyo en este proceso.

A mis docentes Francisco Chicas, Carlos Granados (por su revisión en mi perfil), Carlos Salazar y Jorge Sayes por su orientación en el tratamiento de los datos y manejo de resultados. A Lic. Carlos Alberto Elías Ortiz por contribuir con su experiencia Botánica en la identificación de especies vegetales obtenidas en esta investigación. Al Lic. Óscar Amaya por facilitarme la cámara de conteo de microorganismos Sedgewick Rafter, la cual permitió la cuantificar cada estadio parasitario de acuerdo a su medio.

A mi hermano en Cristo y amigo entrañable por muchos años José Ismael López Pérez, con quien compartimos la Fe, aspiración al canto, testimonios y momentos muy importantes de vida cristiana además de su gran apoyo al fundamentar mi proyecto de investigación, por prestarme sus libros y separatas al respecto, por la asesoría en su facultad, por el gran cariño entre nuestras familias, a su madre Julia Rivera Pérez por el apoyo y proporcionarme bolsas idóneas para el embalaje de muestras vegetales. Por esa amistad tan bendecida que Dios nos concedió. Mil gracias Hermanos!

A mis compañeros y amigos-hermanos: con quienes compartimos materias y todo lo que representa UES. Especialmente a los que me apoyaron en una o más etapas de esta investigación:

- Pablo Cea y Maryory Velado en toda la carrera y en casi todos los muestreos de este trabajo y algunas actividades en laboratorio. Por las largas conversaciones compartiendo tristezas y alegrías, éxitos y decepciones y su altruismo en mi Terapia Neural. Pablo: Mil Gracias por tu inolvidable apoyo en mis secuelas de salud por mi accidente (tu gran gesto en mi Monitoreo Holter, corrector de postura y tratamiento de cartílagos). Por tu oído y aliento en la gravedad, perdida e insuperable ausencia de mi Padre. Por motivarme después a retomar datos, ayudarme en la digitación, tabulación y proceso de datos, por prestarme tu laptop nueva y por el tiempo invertido en la revisión del documento. Por todos los detalles que siempre creí que solo los mejores amigos podían compartir, Bendiciones a los dos.
- A Jorge Benítez y Wendy Ayala, Anita Minero, Marielos Velásquez ¡Amiguitos! Mil gracias por todo: apoyo en muestreos, materias cumple, hambres y comidas hechas unidos en casa de Yoryito. ¡Nita!: nunca olvidare tu amistad y fidelidad, fuiste la única que me escucho y creyó cuando nadie más lo hizo, a Jacqueline Lazo por revisar mi perfil. Gracias por ser mi familia en la U.

- A Hazel Bermúdez, mil gracias por ser capaz de desvelarse conmigo para ayudarme a duplicar el tiempo para sacar informes los informes. Por las desveladas en su casa y en la mía, por compartir toda una carrera y más, por largas conversaciones desde primer año, por escucharnos las risas, locuras y llantos, y saber que siempre estamos ahí. A Rodrigo Barraza, por todos los buenos detalles de amistad desde primer año, por recibirme en su casa y compartirme su computadora cuando yo no tenía, por su abrazo de apoyo cuando mi llanto afloraba ante las cosas injustas que pasaban, por inscribirme en el proyecto del Trifinio donde adquirimos una valiosa experiencia investigativa.
- A Rosmery Arias (Mi hermana-gemela como nos decían en MAG) por todos los momentos lindos y difíciles compartidos en la carrera, Servicio Social, actividades familiares en mi casita y la tuya, mil gracias por ser la única de toda la escuela, que me acompañó al sepelio de mi padre Junto a tu esposo Juan Arias, gran persona a quien aprecio mucho. Un gigante apoyo que llevare siempre en mi corazón. A Rocío Guerra, por toda la Fe y fortaleza compartida en alegrías y tristezas (por la llorada abrazadas bajo la tormenta al regreso del último viaje a Colima).
- Nunca olvidare a los compañeros-amigos que me visitaron en mi casa post-operación en segundo año (Pablo, Silvia Elizabeth y Rodrigo Barraza (a ti gracias por estar ahí cuando desperté de la anestesia) y a Rosmery Hernández por tomar mi mano mientras el cuerpo de mi padre descendía a su nicho. Cada uno fue seleccionado por Dios, para ser mis hermanos en esta familia del saber.
- A Karla Álvarez por recibirme en su casa donde nos desvelamos estudiando, por el cariño y atenciones de su familia a la que aprecio y nunca olvidare su hospitalidad. Igualmente a Silvia Elizabeth por su amistad y fortaleza en las dificultades y por la hospitalidad familiar en su casa! Mil gracias Wendy Elías, Melvin Bonilla, Jennifer Abrego, Omar Alas, Rodrigo Leyva, Abizaí Chinchilla (por su aporte del mapa), Iliana Barias por el tip para mejorar el índice del documento, a Claudita Santos por la idea de la aguja de insulina para manipular microorganismos. A Rebeca Quintanilla y Silvia Garay por prestarnos sus clases para estudiar, a Karen Galdámez por su amistad que aporta fortaleza y cariño en una singular combinación. A Luis Javier García por darme ideas en formato y detalles de la tesis. a Iselda Vega y Wilson Martínez, por brindarme transporte en la noche y Adverdi Ventura por prestarme sus tamices. a Alexis Martínez por prestarme su computadora en una emergencia. A Don Julio por hacer las peceras, a José Paz por ayudarme a sacar y entrar las peceras.
- A todos mis compañeros de carrera, con los que compartimos una o más aulas, materias, trabajos, laboratorios, viajes de campo, cursos, talleres, sensaciones, preocupaciones, desvelos, experiencias maravillosas y decepcionantes. A los compañeritos y amigos por aprovechar sus ratitos libres para visitarme en el laboratorio donde trabaje mi tesis, por los detalles continuos de amistad permanente.

A la Escuela de Biología, mi segunda casa, formadora académica y profesional, a la planta docente: Olga Tejada, Yanira Ventura, Virginia Guerrero, Nohemy Ventura, Milagro Salinas, Dora Durán, Gudelia Portillo (gracias mil por su gran apoyo y asesoría en mi Servicio Social en MAG), Lastenia de Flint, Vilma García, Miriam Cortés, Martha Zetino y Delfina Herrera (Q.D.D.G.). A las docentes que no me impartieron materias, pero me han brindado cariño, apoyo y oraciones Herminia Merino, Geraldine Ramírez y Blanca Lezama. A mis docentes: Francisco Chicas, Roberto Guillen, Jorge Santamaría, Napoleón Canjura, Carlos Salazar, Osmín Pocasangre, Rodolfo Menjívar, Carlos Granados, Jorge Sayes, Víctor Duran, Carlos Elías, Oscar Paz, René Fuentes, Rigoberto Ayala, Edgardo Ortiz, Juan Rivera, Guillermo Espinosa, Ramón Paz Sánchez. Gracias a todos por su instrucción abonando a la formación personal mediante desafíos en la carrera y la conciencia por la ciencia de la vida. Por los que enseñan más que una cátedra; una lección de vida, que en algún momento salieron de su escritorio para escucharme, apoyarme y brindarme su amistad, a todos por lo bueno y lo no tan bueno que al final nos fortalece.

Al personal administrativo que gestionaba y mantenía nuestra escuela y facultad activa y que por más de alguna causa nos ayudaron y nos brindaron su cariño, Gracias Marinita, Doña Paty, Doña Laurita por sus oraciones y muestras de cariño, Dios les bendiga!. A los transportistas, Sres. Juan Bautista, Baltazar padre e hijo y Fabricio. Al personal de Vigilancia y custodia de la facultad Señores: Julio, Ulises, William, Geovanny por la seguridad y el apoyo en abrir y cerrar la escuela y guardar el orden mientras yo trabajaba 24/7 a sol y sombra durante la fase de laboratorio de mi trabajo. A Don Julio Rivera y a su hija Ibania por su apoyo en las fotocopias e impresiones, por su ayuda cuando me quedaba en el laboratorio y se me terminaba el dinero para la comida, gracias por esa pupusas o pasteles y café que de una forma desinteresada y altruista me compartió y por su apoyo en mis ventas de catálogo.

A la escuela de Física en especial al Lic. Nelson Gómez, por facilitarme el kit de tamices, permitiendo el aislamiento selectivo de cada estadio parasitario en este estudio. Al laboratorio de ELISA en el Centro de Investigación y Desarrollo en Salud CENSALUD, Stanley Rodríguez en apoyo al Inmunodiagnóstico.

Al Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), División General de Ganadería, Vigilancia Epidemiológica, por brindar transporte para fase de campo y soporte técnico Veterinario para la toma de muestras y manejo bovinos, especialmente los Dres. José Maldonado, Eugenia Amador, Elías Giménez, Adonias Ortiz, Zaida Lazo, Karen Celaya. A la Red de laboratorios de Diagnóstico (RLD), Área de Eliza, Licda. Dora Alicia Cardona, gran apoyo en mi Servicio Social e Inmunodiagnóstico de esta investigación. A todo el personal de la RLD, en el área Animal y Vegetal, Ing. José Flores Chorro y Anakely Romero.

Al señor Iván Cuellar, Jefe del Departamento de Tiangue y Técnicas de Inspección Sanitaria de Carne, Unidad de Inspección de productos de origen animal, Alcaldía Municipal de Soyapango, San Salvador. Por su enorme aporte de información básica para esta investigación.

A la Universidad de Loyola Marymount que por gestión del PhD. Víctor Carmona, nos otorgó Becas para equipo de campo y laboratorio, además del Kit de ELISA Serológico para esta investigación. Al PhD. Víctor Carmona, brindarnos formación académica en su Beca Fulbright, por asesorarnos investigaciones resultantes, sugerencias para nuestros trabajos de grado y guiarnos en publicaciones científicas. Por gestionarnos patrocinio de equipo de campo y laboratorio para tesis de Biología, UES, y por el Kit ELISA para esta investigación. Por su valioso apoyo, Mil Gracias Dr. Carmona, seguiremos trabajando en favor de la ciencia. Mil Gracias sobre todo por la lección de vida y calidad humana.

A la Ph.D. Edna Naranjo, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), por su gran aporte en la identificación de moluscos en todo este trabajo, por gentil gestión para la ratificación parasitaria en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. A los Investigadores, PhD.: Irene Cruz, Juan Figueroa, Héctor Quiroz que me atendieron y me apoyaron de una forma increíble en esta investigación; ya que aun antes de conocerme, por medio de su difusión científica, información teórica y experimental. Mil Gracias, ha sido un honor conocerles y recibir de ello tanto apoyo.

A los PhD. Gerardo Zúñiga y Verónica Torres, Laboratorio de Variación Biológica y evolución, Departamento de Zoología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, por su gran apoyo en la identificación molecular de los trematodos. Además a los PhD. Edgar Oliver y Rosario Espinoza por su colaboración con el equipo de micro y estereoscopia, para la extracción de huevos de los trematodos. Mil gracias por sus aportes.

A las personas que me apoyaron en campo al momento de manejo ganadero! Mis grandes muestras de gratitud, su experiencia y soporte optimizo la ejecución de mis muestreos en bovinos. Ing. Aparicio, Ing. Fabio López, Wilberto Salazar, Amílcar Salazar, Carmen Salazar, Álvaro Plata, Julio Landaverde, Alfredo Monge, Roberto David Campos, Ramiro Cuellar. Y todos los trabajadores que con gran amabilidad me colaboraron con su experiencia.

Mil gracias a todos, tal vez se me escapan nombres y detalles en este y párrafo; pero no se escapan de mi corazón ni de mi historia. Las palabras no alcanzan para agradecer a cada uno su valioso aporte, guardare en mi corazón todo lo bueno recibido. Aunque en este párrafo no puede plasmarse toda mi gratitud. DIOS LES BENDIGA AMIGOS. Mil gracias a todos por estar a la hora precisa, justo en el lugar y por su ayuda inmediata, sin perder la oportunidad de dar. Bendiciones habrá, por hacer como dice la escritura:

“No niegues el bien a quien se le debe, cuando esté en tu mano el hacerlo. No digas a tu prójimo: ve vuelve y mañana te lo daré, cuando lo tienes contigo”. Proverbios 3:27-28.

“A lo mejor tú has llegado a reinar precisamente para ayudar en esta situación” Ester 4:14.

Yolanda Isabel Martínez Rodríguez.

INDICE DE CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN.....	7
1.	OBJETIVOS.....	8
1.1.	OBJETIVO GENERAL.....	8
1.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	8
2.	MARCO TEÓRICO.....	9
2.1.	ANTECEDENTES HISTORICOS.....	9
2.2.	ESTADO DEL CONOCIMIENTO.....	9
2.2.1.	Fasciolosis en El Salvador.....	10
2.3.	FUNDAMENTO TEORICO.....	11
2.3.1.	<i>Fasciola hepatica</i> Linnaeus 1758.....	12
2.3.2.	Ciclo vital.....	13
2.3.3.	Distribución geográfica de <i>F. hepatica</i>	14
2.3.4.	Importancia económica de <i>Fasciola hepatica</i>	15
2.3.5.	Importancia ecológica.....	16
2.3.6.	Hospedero intermediario.....	16
2.3.7.	Fasciolosis hepática en hospedero definitivo.....	19
2.3.8.	Diagnos.....	20
2.3.9.	Tratamientos.....	21
2.3.10.	Profilaxis.....	22
3.	METODOLOGÍA.....	23
3.1.	UBICACIÓN TEMPORAL.....	23
3.2.	UBICACIÓN DE SITIOS DE ESTUDIO.....	23
3.2.1.	Laguna de Metapán.....	23
3.2.2.	Embalse Cerrón Grande.....	24
3.2.3.	Laguna Providencia.....	24
3.2.4.	Laguna El Jocotal.....	24
3.3.	CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	25
3.3.1.	Bovinos.....	25
3.3.2.	Moluscos.....	25
3.3.3.	Agua.....	25
3.3.4.	Vegetación inundable.....	25
3.4.	FASE DE CAMPO.....	25

3.4.1.	Muestreo en bovinos.	26
3.4.2.	Muestreo de moluscos	26
3.4.3.	Muestreo de agua.....	27
3.4.4.	Muestreo vegetal	27
3.5.	FASE DE LABORATORIO	27
3.5.1.	Diagnostico parasitario en bovinos, como hospederos definitivos.....	27
3.5.1.1.	<i>Coproduiagnóstico (Prueba presuntiva)</i>	27
3.5.2.	Determinación del hospedero intermediario de <i>F. hepatica</i>	29
3.5.3.	Búsqueda de las fases exógenas (miracidio y cercaria) en agua.	30
3.5.4.	Búsqueda de la fase exógena infectiva (metacercaria) en vegetación inundable.	31
3.6.	METODOLOGÍA PARA EL ANALISIS DE DATOS	32
3.6.1.	Análisis cuantitativo	32
4.	RESULTADOS	34
4.1.	PREVALENCIA PARASITARIA EN BOVINO (HOSPEDERO DEFINITIVO).	34
4.1.1.	Identificación <i>Fasciola hepatica</i>	34
4.1.2.	Prevalencia y carga parasitaria de <i>Fasciola hepatica</i> en bovinos de cuatro humedales.....	35
4.1.3.	Distribución espacio-temporal de <i>Fasciola hepatica</i>	36
4.1.4.	Confirmación de adultos de paramphistomido en necropsia bovina	36
4.2.	DETERMINACIÓN DEL MOLUSCO HOSPEDERO INTERMEDIARIO DE <i>F. hepatica</i>	36
4.2.1.	Identificación taxonómica de gasterópodos en cuatro humedales de El Salvador.	36
4.2.2.	Determinación de los moluscos como hospederos intermediarios de <i>F. hepatica</i>	40
4.3.	FASES EXOGENAS EN MEDIO AMBIENTE.....	41
4.3.1.	Estadios exógenos por el método de filtración selectica de agua (prueba presuntiva).....	41
4.3.2.	Estadios exógenos por el método de coprocultivo (prueba confirmativa).	41
4.4.	FASE INFECTANTE EN VEGETACIÓN INUNDABLE.	42
4.4.1.	Búsqueda de metacercarias por observación directa (Prueba presuntiva).....	42
4.4.2.	Búsqueda de metacercarias por filtrado de embebido y lavado (FEL) (Prueba confirmativa)....	43
4.5.	CONDICIONES AMBIENTALES EN LOS SITIOS DE ESTUDIO.	44
5.	DISCUSIÓN	45
6.	CONCLUSIONES.....	51
7.	RECOMENDACIONES	52
8.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	53
9.	ANEXOS.....	69

Tabla	INDICE DE TABLAS	Pag.
1	Signos clínicos en bovinos (Olsen 1977 y Soulsby 1987).....	14
2	Gasterópodos, identificados en cuatro humedales de El Salvador.....	32
3	Riqueza de especies vegetales de zona inundable portadoras de metacercarias en cuatro humedales de El Salvador.....	37

Fig	ÍNDICE DE FIGURAS	Pag
1	Prevalencia de fasciolosis en rastros de Guatemala (Villatoro 2008) y Prevalencias de fasciolosis en rastros de Nicaragua.....	10
2	Climas de El Salvador (SNET 2012).....	11
3	Anatomía de adulto Fasciolidae. Fuente: Hickman 2009.....	12
4	<i>F. hepatica</i> Adulta.....	12
5	Ciclo biológico de <i>F. hepatica</i> y estadios larvarios.....	13
6	Dispersión y distribución de <i>F. hepatica</i>	14
7	Concha y caracol de la familia Lymnaeidae.....	17
8	Caracoles de la Familia Planorbidae.....	18
9	Lesiones hepáticas y <i>F. hepatica</i> extraída de un hígado bovino.....	19
10	Ubicación geográfica de los sitios de muestreo de El Salvador.....	23
11	Muestreo fecal en bovinos.....	26
12	Captura de moluscos.....	26
13	Muestreo de agua.....	27
14	Muestreo de vegetación inundable.....	27
15	Tratamientos previos al coprodiagnóstico.....	28
16	Técnica modificada.....	29
17	Inspección postmortem de bovinos.....	29
18	Identificación malacologica.....	29
19	Estimulación lumínica para emisión larval intramolusco.....	30
20	Moluscario Ex situ para desinfección natural e infección In Vitro.....	30
21	Filtrado de Agua.....	31
22	Coprocultivo de miracidios.....	31
23	Identificación y proceso vegetal.....	32
24	Proporción de huevos.....	34
25	Parásitos identificados en coprodiagnóstico bovino	35
26	Prevalencia y carga parasitaria de <i>F. hepatica</i> en cuatro humedales de El Salvador.....	35
27	Izquierda: Promedios de prevalencia y carga parasitaria por humedal. Derecha Promedios de prevalencia por mes.....	36
28	<i>Paramphistomum</i> sp., adulto en rumen bovino de Laguna Providencia, La Paz.....	36
29	Vista dorsal de concha de <i>Radix balthica</i> , encontrada en Laguna Jocotal, San Miguel..	37

30	Moluscos identificados en cuatro humedales de El Salvador.....	38
31	Frecuencia y abundancia mensual de moluscos en humedales de menor riqueza.....	39
32	Riqueza y abundancia de especies de moluscos en la Laguna El Jocotal.....	39
33	Cercarias detectadas en moluscos de El Salvador.....	40
34	Fases endógenas vistas por compresión de moluscos.....	40
35	Infección In vitro Miracidio/molusco.....	41
36	Potencial infestivo de fases exógenas de <i>F. hepatica</i> en agua y pastos por humedal.....	41
37	Huevo B y C. Miracidios. D. y E. Cercarías	41
38	Huevo embrionado y miracidios	42
39	Abundancia de metacercarias en pasto.....	42
40	Metacercarias en pasto por observación directa.....	42
41	Metacercarias recuperadas de vegetación inundable de cada humedal.....	43
42	Promedio de parámetros ambientales en los humedales estudiados.....	44
43	Niveles de pH de cada humedal.....	44

RESUMEN

Para determinar la presencia de *Fasciola hepatica* en ambientes naturales, se efectuó cuatro muestreos en un periodo de seis meses: dos en época seca (marzo, abril) y dos en época lluviosa (julio y agosto), en 122 bovinos en pie de cuatro humedales de El Salvador. Se aplicó coprodiagnóstico en serie, por la técnica de filtración sostenida/sedimentación DSS (modificada en este estudio) para estimar prevalencia en cada sitio, con la cual se categorizó como hipo-meso-hiperendémica y grados infectivos como leve-moderado-grave según escala epidemiológica referencial. Para identificar larvas endógenas en molusco hospedero intermediario se aplicó inducción lumínica/compresión corporal y su capacidad hospedante se incrimino por infección *In Vitro* miracidio/caracol. Las fases exógenas se identificaron por filtrado selectivo en agua y se ratificaron por coprocultivo. La infestividad quística en pasto, se sondeó por observación directa (OD) en superficie vegetal (Diám. x long 15 cm²), ratificándola por filtración de embebido y lavado vegetal (FELV). Los resultados confirmaron la presencia de *F. hepatica* en tres humedales (ausente en Laguna Providencia), en infección mixta o alterna con otros 23 endoparásitos (15 zoonóticos, 11 primer informe para el país). Con prevalencia del 13.93 % del total de bovinos de muestra, en un ámbito de 0-19.6 %, con \bar{x} =17 % por humedal positivo y \bar{x} =12.82 % por humedal estudiado; considerándose hiperendémica (> 10 %) con infección moderada (++) de 15 huevos por gramo de heces (hpg). Con distribución levemente decreciente de noroeste a sureste de El Salvador. El comportamiento estacional aumentó hacia los meses lluviosos en Metapán y Jocotal y deceso en Embalse. Se constató cinco hospederos intermediarios y nuevos reportes en el país, destacando el hallazgo del primer Lymnaeidae *Radix balthica* y tres Planorbidae hospederos alternativos: *Biomphalaria havanensis*, *Gyraulus parvus* y *Helisoma* sp. (Embalse y Jocotal); y *Depanotrema depressissimum* (negativo a *F. hepatica*/positivo al paramphistomido y otros trematodos en Providencia), identificados entre 20 especies malacológicas de 11 familias, siete del suborden Basomatophora y cuatro Eupulmonata. Las fases exógenas en agua revelaron un \bar{x} =2 miracidios /mL en Jocotal, 33 huevos y 28 metacercarias en cada humedal; mientras que en la Providencia no se observó cercarias compatibles a *F. hepatica* (probable causa de su ausencia en el sitio); sin embargo si hubo compatibles a otros trematodos zoonóticos. Por su parte el coprocultivo mostró 278 miracidios en total, permitiendo diferenciar a *F. hepatica* del paramphistomido. La fase exógena metacercaria evidenció un promedio 24.25 m^c/gvps (gramo vegetal en peso en seco) por observación directa y 36.17 mc/gpsv por FELV (más sensible) y ratificada por filtración selectiva en agua, con una frecuencia de 28.05 mc/mL de agua, y huevos con una frecuencia promedio de 33 h/mL. Los ámbitos observadas de condiciones ambientales promedio de altitud 38-430 m snm, salinidad 386.5-994 ppm, Solidos Totales Disueltos (STD) 366.5-1659 ppm, pH (6.8-9.4) y temperatura (28.1-31.7 °C), resultaron dentro de los límites tolerados por fases exógenas de *F. hepatica* y sus hospederos intermediarios, confirmándose como ambiente apto para alojarla en dichos sitios (excepto el Embalse que superó en 1.7 °C su tolerancia térmica y lotica referencia).

1. INTRODUCCIÓN

La fasciolosis es la parasitosis por trematodos de la familia Fasciolidae principalmente, *Fasciola hepatica* Linnaeus 1758 y *F. gigantica*, Cobbold 1855 de origen eurásico, presentes en África y Oceanía. *F. hepatica* es cosmopolita, emigró con el colonialismo europeo (siglos XV-XIX), al trópico y subtropico. Denominadas duelas del hígado porque en su complejo ciclo de vida, sus adultos habitan conductos biliares hepáticos de mamíferos, incluso de humanos (zoonosis), como Hospederos Definitivos (HD). Requiere además, moluscos Limnaeidae como Hospedero Intermediarios (HI) donde genera tres fases larvales (Carrada-Bravo 2007).

La infección se adquiere al ingerir metacercaria (quiste infectante) en vegetales y agua (Padilla & Cuesta 2003, Mas-Coma 2011) o en hígado crudo infectado con duela joven mayor a ocho semanas (Taira et al. 1997, Contruvo et al. 2004, Cheng 2012) denominada marita por Bowman (2011). Las mayores prevalencias mundiales se registran en rumiantes y habitantes de zonas endémicas (zona geográfica con una patología en la población por tiempo prolongado), considerándose zoonosis emergente en países en desarrollo (OMS 2012, Martínez-Valladares et al. 2013). Se reporta en el Caribe y países centroamericanos (CA) con vínculo agroecológico con El Salvador (ES), donde *F. hepatica* y su hospedero intermediario se consideran exóticos; aunque posee las condiciones ambientales favorables para alojarlos (MAG 2003 y SNET 2016).

Además, Cordero et al. (2007) aluden dispersión natural de caracoles en agua, vectores silvestres y fómites (objetos suspendidos); por su parte, el parásito se dispersa por villa antrópica e importación vegetal, forrajes y ganado infectado (OIRSA-FAO 2009). El hallazgo de fasciolosis bovina en Rastro de San Salvador (López & Rivas 2012, AMSS 2013, DIPOA-MAG 2013) la vuelve sospechosa, a lo que la Ley de Sanidad Vegetal y Animal de El Salvador (LSVAES 2006), indica un análisis de riesgo al estatus sanitario nacional.

Con base en lo anterior, se realizó la búsqueda de *F. hepatica* en humedales representativos de las cuatro zonas de El Salvador, en hábitat requeridos por cada fase de su ciclo biológico, determinando su prevalencia por coprodiagnóstico y una necropsia en bovinos. Se identificó moluscos hospederos, por emisión de cercarias, compresión e infestación *In Vitro* y se sondeó la infestividad de fases exógenas por filtrado en pasto y agua, integrando un diagnóstico del ciclo de *F. hepatica* en El Salvador. Se reporta además el primer hallazgo de otros parásitos de gran importancia médica, veterinaria, coinfectando en uno o más humedales.

La información obtenida es de gran relevancia sanitaria, veterinaria y ambiental a difundirse a entidades competentes tales como Ministerio de Salud (MINSAL), Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), Ministerio del Medio Ambiente y Recursos Naturales (MARN) y Ministerio de Educación (MINED), instituciones idóneas para tomar decisiones de prevención, manejo, control y concientización pública, la integración y armonización local y regional sugerida por LSVAES, resguardando la salud pública, veterinaria y silvestre de El Salvador.

1. OBJETIVOS

1.1.OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de *Fasciola hepatica* en los hábitat requeridos por cada fase de su ciclo biológico en cuatro humedales de El Salvador.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estimar la prevalencia de *Fasciola hepatica* en bovinos como hospederos definitivos en cuatro humedales de El Salvador.

Detectar fases endógenas de *Fasciola hepatica* que constaten a moluscos como hospederos intermediarios.

Identificar las fases exógenas de *Fasciola hepatica* en agua y vegetación inundable en cada humedal.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES HISTORICOS

Huevos de *F. hepatica* en humano y bovino de 3,000 años a.C. la revelaron endémica en el Viejo Mundo según Paleo-parasitología en el Valle Saale-Unistrut, Alemania (Dittmar y Teegen 2003). El libro Kitab-Wal-Baitara de Muhammed Ahí Hizam siglo IX, citó el “Kebet” entre males de hígado ovino por verme plano (posible *F. hepatica*). La obra Black Book of Chirk, s. X en Gales aludió al parásito. Jean de Brie en 1379 asoció el gusano (duela), al *douve* (hierba de consumo ovino). En 1882 Leucart en Alemania y aparte, Thomas en Inglaterra publicaron el ciclo biológico de *F. hepatica* y En1893 Lutz aportó el proceso Metacercaria-adulto y Sinitzin en 1914 completó el ciclo probando la migración intraorgánica (Taylor 1965).

El 2014 se cumplió 100 años del descubrimiento del ciclo vital de *F. hepatica* tipo de trematodos digéneos que develó hospederos a moluscos, crustáceos, peces y artrópodos (Rojo-Vázquez 1999). Se cree que *Limnaea truncatula*, vital hospedero, viajó en cascos rumiantes a Iberoamérica en la conquista Europa. Por su parte, la infección natural de Planorbidae y Physidae, en escasos de Lymnaeidae, revelan su adaptabilidad. Su hermafroditismo, autofecundación y amplificación reproductiva embrionaria propician clones, mostrando híbridos en Corea donde *F. hepatica* y *F. gigantica*, mantienen uniformidad genética en puntos lejanos como Chile y España (Tonn et al. 1964, Abrous et al. 1998, Hamed et al. 2009 y Diez Baños 2011).

2.2. ESTADO DEL CONOCIMIENTO

La Organización Mundial de Salud (OMS 2013) considera la fasciolosis una zoonosis emergente, que infecta a 17 millones de humanos y otros 91.1-180 millones en riesgo (Hopkins 1992, Tolan 2011, Hernández 2013); con 300,000 casos reportados entre 1970-1994 en 61 países, el 74 % en Europa (Alatoom 2008). Luego, Esteban et al. (1998) compilaron 7,071 casos de 51 países reportados en 25 años, el 46.2 % en América, se estiman tasas de 8-10% en humanos y de 80-100 % en animales, con \$3,200 millones en pérdidas anuales (Mas-Coma 1999, Gulsen et al. 2006, Caicedo et al. 2011, Diez Baños 2011 y OMS 2012).

En Norteamérica la fasciolosis humana es esporádica en inmigrantes de zonas endémicas residentes en Hawaii, California, Florida, Louisiana y Texas, Estados Unidos (Tolan 2011); pero frecuente en rumiantes del sur, centro y oeste con clima favorable al HI (MacLean et al. 2002, Alatoom 2008). México registra prevalencias hasta de 100 % y es causa de decomisos de hígados (Marcos et al. 2007, PLANISA 2008).

En Centroamérica y el Caribe domina la pequeña producción bovina (MARN 2009), donde OIRSA (2002) asocia la susceptibilidad a fasciolosis de bovinos regionales, al consumo de pienso con aflatoxinas inmunosupresoras. Guatemala reporta en rastros el 32 % de ovinos (Reyes 2011) y 6.67 % de bovinos con pérdida de \$38,486 anual (Villatoro 2008) y \$17.03 por becerro (Estrada 2013). Mientras, Pérez (1993) y Lepe (2009), coinciden en 50% de cortes histológicos de caracoles infectados en ríos de Huehuetenango.

Honduras lista fasciolosis pediátrica entre las parasitosis más frecuentes de Centroamérica (Fajardo & Castillo 1973) y decomisos en rastro La Ceiba (Bueno et al. 2008). En Nicaragua **figura** entre las principales enfermedades bovinas (INTA/INATEC 2010, López-Sáez y Pérez-Soto 2010). Gómez y Hernández (1993) reportaron 0.55% en rastro Nuevo Cárnic y pérdidas de 25,271.20 córdobas (fig. 1).

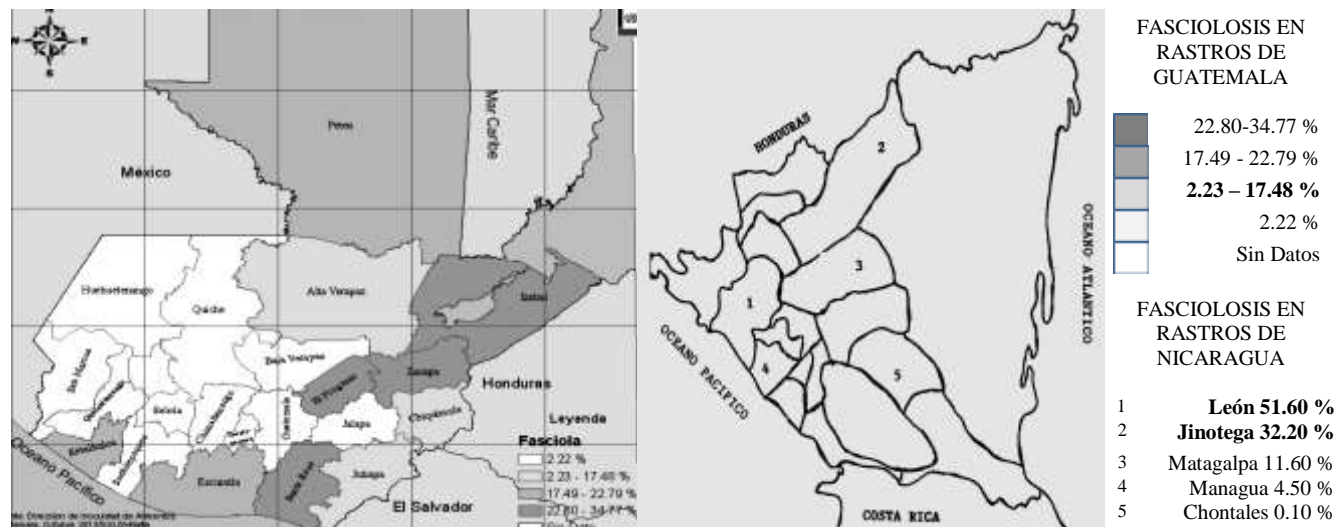


Figura. 1. a) Prevalencias de fasciolosis en rastros de Guatemala, fuente: Estrada 2013. b) Prevalencias de fasciolosis en rastros de Nicaragua, fuente: Gomez y Hernandez 1993.

En Costa Rica, Chavarría (1939) reportó 1.3 % en bovinos. Tonn et al. (1964) ven cercarias en caracoles *Stenophysa* y *Helisoma*, en Coris. Brenes et al. (1968), mostró 50 % en humanos y detectaron al hospedero intermediario natural en Chirripó. Madriz (1978) mostró 3.17-29 % en humanos, 3.45 % en rastros de Turrialba (1976-1977) y el primer reporte en cerdos; en 1979 la confirmó en bovinos, equinos, porcinos y su detección casual en cirugías humanas; Arroyo et al. (1979) registran 42 casos en Hospital Turrialba (1977-1978). En 1985 hallan un 4.9% en humanos consumidores de berro y un 1.4 % en no consumidores. En Panamá, Escudero et al. (2013) mostró 5 % en hatos lecheros en Nuevo Tonosí. González et al. (1989), indican relación directa precipitación/emisión de cercarías, con más prevalencia al final de la época lluviosa.

2.2.1. Fasciolosis en El Salvador

La fasciolosis se considera endémica en Centroamérica, excepto en El Salvador, donde no hay diagnóstico previo, pese a ser uno de los principales importadores (regular e irregular) de ganado en pie desde Nicaragua, Honduras y Guatemala. Importes por alta demanda y baja producción pecuaria, basada 1,042,931 cabezas de 4000 fincas con menos de 30 cabezas por hato, la mayoría de doble propósito y pastoreo extensivo. La explotación bovina dispone del 28.4 % del territorio, el 4% en productores de patio (MAG/OPE 2009, OIRSA-FAO 2009, MAG 2010). Al respecto MAG (2012) reporta un sacrificio bovino de 12,235 por mes en rastros municipales más el sacrificio clandestino, entre 6 y 30% del sacrificio total (MAG 2003). Siendo el 52% en Rastro de San Salvador, donde se encontró *F. hepatica* en el 3.77% de 159 bovinos, siendo el 10.16% de los hígados decomisados (López y Rivas 2012).

La Alcaldía Municipal de San Salvador (AMSS) constató un 0.57% anual en reportes de inspección 2013 (Anexo 1), coincidentes con reportes de la División de Inocuidad de Productos de Origen Animal (DIPOA-MAG), Anexo 2. Además, los ganaderos reportan el parasitismo como el mayor problema y la desparasitación 37.3 2%, como la mayor inversión entre las más empleadas (MAG 2009).

Respecto a condición ambiental, El Salvador posee temperatura media anual de 10-30 °C (SNET 2013); los Limnaeidae toleran 10-35 °C (fig. 2). Posee además, 86 humedales con pastos estacionales y permanentes (PREPAC 2005 y MAG 2009). Comparte, el Rio Lempa y el Lago Guija, con Guatemala y Honduras. Así mismo, las corrientes pluviales de ocho eventos meteorológicos relevantes entre 2002-2011, propician transporte a moluscos (MARN 2011, Castellanos 2012).

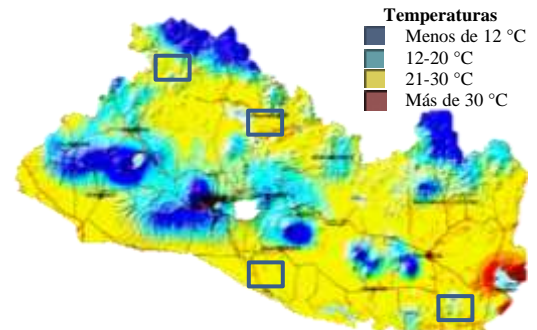


Figura 2. Climas de El Salvador. **Fuente:** Servicio Meteorológico Nacional. Centro de Predicción Climática. PNUDE ELS97G32. Procesado por SIG-SNET

Ante el hallazgo de *F. hepatica* en un rastro salvadoreño, sin el registro del HI principal, se considera su hospedaje alternativo. Al respecto MARN (2011) reporta cinco géneros Planorbidae: *Biomphalaria helophila* Orbigny 1835, *B. ostructa* Morelet 1849, *B. subprona* (*Taphius subpronus* Martens 1899), *Helisoma pierosoma tenue* Philippi 1850 y *H. pierosoma wyldii* Tristram 1861 y dos Phisidae: *Physella* (*Costatella*) *squalida lacustris* Clessin 1885 y *P.* (*Costatella*) *squalida* Morelet 1851. De ellos *Bionphalaria sp.*, hospeda a *F. buski* y *F. gigantea* en Asia y África y los géneros *Helisoma* y *Stenophysa*, se han hallado naturalmente infectados en Europa y Egipto (Dreyfuss et al. 1994, Farag y El Sayad 1995, Bargues et al. 2001, Vignoles et al. 2002, Mas-Coma et al. 2005), en Costa Rica (Tonn et al. 1964) y en Brasil (Souza & Melo 2012).

2.3. FUNDAMENTO TEORICO

La Biología estudia el parasitismo desde dos perspectivas: La microbiología, que enfoca sistemáticamente a virus, bacterias, procariontes, hongos y algunos protozoos; y la parasitología, que enfoca ecológicamente a micro y macrozoos (Proto, Meta y Euzoos), que dependen de su asociación con otros eucariotes causándoles efectos. Los parásitos se presentan en casi todo los Phylum, se dividen en dos grupos: unicelulares (protozoos: Apicomplexa, Cilliophora, Microspora, Mixozoa y Sarcomastigophora) y pluricelulares (Metazoos: Helmintos, Artrópodos y Annelida; excepto hirudíneos (sanguijuela) facultativos (Olsen 1977).

Los helmintos (griego helmins: vermes o gusanos) incluyen Phylum Platyhelminthes (gusanos planos) y Nematelminthes o gusanos redondos (Walker 2000). Los Platyhelminthes son metazoos con órganos de fijación (ventosas, ganchos o róstelos) y simetría bilateral, dorsiventralmente planos, sin anillos. Movimiento multidireccional activo (reptan o nadan), con capas diferenciadas musculares longitudinales, transversales u oblicuas. Sin celoma, cuerpo blando sólido, órganos en parénquima esponjoso, células flamígeras excretoras, sin sistemas circulatorio, respiratorio, ni ano. Sistema muscular, nervioso y reproductor muy desarrollados, la

mayoría monoicos (hermafroditas) prefieren fecundación cruzada. Contiene las clases Trematoda (duelas) y Cestoda, todos parásitos, excepto la clase Turbellaria (Olsen 1977, Soulsby 1987).

Clase Trematoda (Rudolphi 1808), gr. Trematodes: con agujeros. Parásitos de vertebrados, se fijan con ganchos, boca en extremo anterior, tracto digestivo incompleto, largo 1 mm - 8 cm. Las Subclases para Padilla y Cuesta (2003) u Órdenes para Barnes (1977) y Bowman (2011) son: los Monogénea, con ciclo directo en un hospedero, ectoparasitan peces y anfibios. Los Digénea Van Beneden 1858, endoparasitan dos hospederos, el definitivo (vertebrados que alojan al adulto) y uno o dos intermediarios, donde se multiplica en generaciones sexuales y asexuales masivas, algunos usan hospederos paraténicos. Son dorsiventralmente planos, algunos cilindroide, oval o piriforme, tamaño variable, más de 40,000 especies monozóicas, Orden Echinostomida: tegumento espinoso (Bowman 2011).

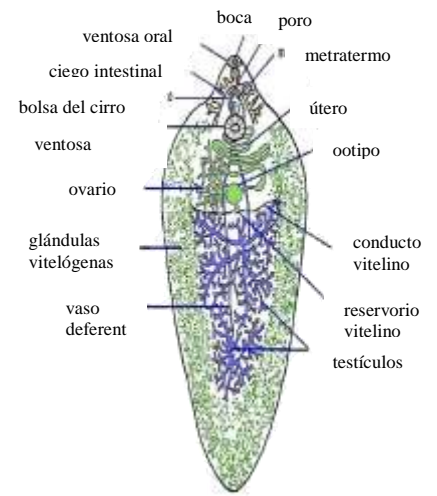


Figura 3. Anatomía de Fasciolidae. **Fuente:** Hickman 2009.

Familia Fasciolidae Railliet 1895.

Son distómidos (griego dis: dos, stoma: boca) hermafrodita, el adulto parasita conductos biliares e intestinos de vertebrados. Cuerpo foliáceo generalmente espinoso, ventosas anterior y ventral próximas, faringe y esófago corto, ciegos intestinales y vitelógenas ramificadas lateralmente. Poro genital frente al acetábulo, testículos ramificados en tandem, sin receptáculo seminal, huevos operculados. Géneros: *Fasciola gigantica*, *F. hepatica* y *F. jacksoni*, *Fascioloides magna*, *Fasciolopsis buski* y *Parafasciolopsis fasciolaemorpha*, todos zoonóticos en zonas subtropicales Asia, África y Oriente Medio, solo *F. hepatica* está en Centroamérica y el Caribe (Bowman 2011) fig. 3.

2.3.1. *Fasciola hepatica* Linnaeus 1758.

Distómida hermafrodita plana, lanceolada, café-gris en fresco, mide 18-30 x 4 mm, cúspide con ventosa oral (Diam. 1 mm) sobre su agudo cono cefálico de 3-4 mm de largo y una cercana ventosa ventral o acetábulo (Diam. 1.6 mm), hombros que se estrechan al posterior. Sin epidermis, cutícula con espinas conspicuas anteriores para ruptura tisular y fijación al medio; posteriores ausentes (Olsen 1977) (fig. 4). La dieta de cada fase difiere con su hábitat, el adulto ingiere sangre y desechos tisulares del epitelio superficial del conducto biliar. Sistema excretor: protonefridios colectores en red ramificada bilateral, forma vasos terminados en vesícula al posterior (Soulsby 1987).



Taxonomía

Reino	Animalia
Fillum	Platyhelminthes
Clase	Trematoda
Subclase	Digénea
Orden	Echinostomida
Familia	Fasciolidae
Genero	Fasciola
Especie	<i>F. hepatica</i>

Figura 4. *F. hepatica* Adulta. Fuente: Walker, 2012.

2.3.2. Ciclo vital

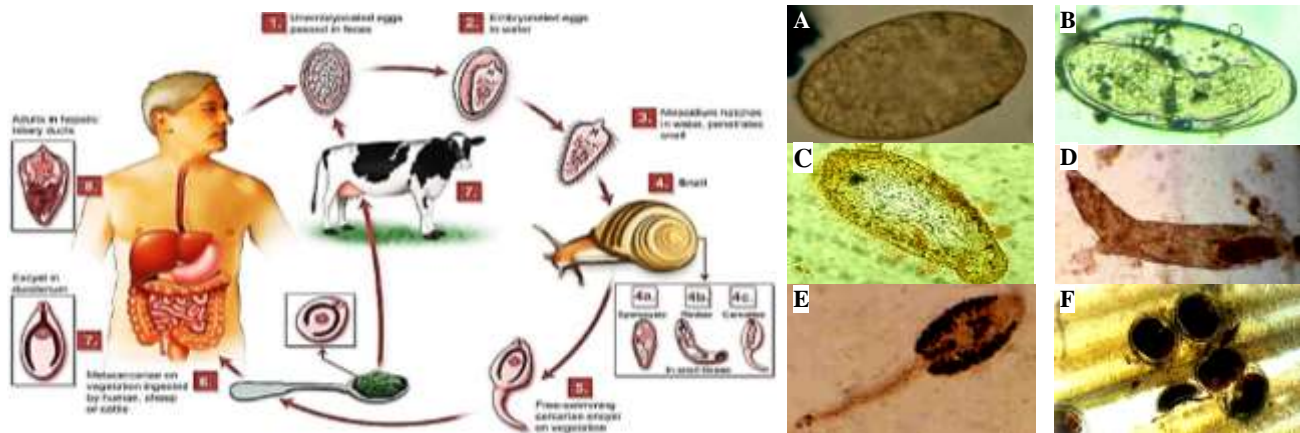


Figura 5. Izquierda: ciclo biológico de *F. hepatica*. Derecha.: estadios larvianos: a) Huevo, b) Huevo embrionado, c) Miracidio, d) Redia, e) Cercaria, f) Metacercaria. **Fuente:** Fiel 2012

El huevo es ovalado mide 130-150 x 60-90 μm , cáscara incolora, gruesa y lisa, opérculo polar, mórulas difusas, no embrionados al desove, célula germinal centropolar. El huevo viaja en la bilis de vesícula a intestino vía colédoco y sale en las heces al ambiente. Una *Fasciola* adulta pone de 2-5 mil huevos/día. Libre de la condición anaerobia fecal, precisa al menos una fina película de agua, 10-30°C (óptimo 26 °C) y 80% de humedad para embrionar en 9-10 días formando al Miracidio. Pero entre 10-12 °C, tarda hasta dos meses en eclosionar, es metabólicamente activo a 25 °C, su glucógeno decrece al desarrollo del miracidio, la luz controla la eclosión, la actividad del miracidio y la hipertonia del medio interno presionan el opérculo hasta quedar libre (Olsen 1977, Soulsby 1987, Walker 2000, Cordero del Campillo et al. 2007, Fiel et al. 2011). Se ha estimado la probabilidad de 1×10^6 que un huevo evolucione a *F. hepatica* (Taylor 1965) fig. 5. A.

El miracidio es una larva móvil con ectodermo ciliado vibrátil, de 150 x 40 μm , hombros anchos, papila móvil en su cúspide, glándula apical cuya secreción disuelve tejidos para penetrar al caracol. Posee dos típicas manchas oculares anteriores en forma de equis. Vive libre en agua unas 24 h, no se alimenta, depende de sus reservas energéticas, tiene dos horas de poder infectante. Sus receptores quimiotácticos le guían a sustancias mucosas de su hospedero habitual Lymaneidae, al que penetra por el manto y tentáculos. Pierde el epitelio ciliado cruzando la piel y neumostoma de la cavidad paleal del caracol, viaja por canales linfáticos a la región periesofágica, llega a las vísceras y en 2-3 semanas se vuelve esporocisto (Padilla y Cuesta 2003). La infección exitosa de un miracidio produce 400 - 1000 cercarias (Olaechea 1994, Bowman 2011) fig. 5. B.

Esporocisto: primera fase intramolusco, es semicircular de 120-150 μm con dos manchas, sin intestino. Migra a la glándula hepática en espirales superiores de la concha, madura en 2-4 semanas alcanzando 500 μm , forma 5-8 masas germinales que originan redias (Padilla y Cuesta 2003, Cordero del Campillo 2007) fig. 5. C.

La redia tiene forma de bota y un engrosamiento circular tras la faringe, posee boca y tubo digestivo funcional. Sale del esporocisto con movimientos vibrátiles, llega al hígado alcanzando 1-3 mm de largo, se

nutre del hepatopáncreas del caracol. Contiene 16-20 células germinales que en bajas condiciones nutritivas y ambientales, generan sucesivas generaciones de redias (multiplicación policitogena); En condiciones idóneas forma cercarías que libera por el poro obstétrico o totoscoma. El avance intramolusco es de 3 a 10 semanas post-infección, con emisión media de 100-600 cercarias por miracidio (Soulsby 1987) fig. 5. D.

La cercaría gimnocéfala típica de Fasciolidae, mide unas 700 μm , su cuerpo oscuro en forma de riñón con diámetro de 250-350 μm , posee dos ventosas próximas entre sí, sin espinas o estiletes; la porción posterior es una cola de doble longitud, no bifurcada y sin aleta. Sale del caracol nadando y antes de una hora debe adherirse al envés o troncos de plantas; un 10 % se fija a la superficie del agua encerrando burbujillas de aire para mantenerse a flote. Ya fija, pierde la cola y dos glándulas cistógenas laterales secretan la doble pared de polisacáridos; una fina capa externa transparente; y una masa aglutinante insoluble en agua cubre el dorso y laterales, se solidifica formando la Metacercaria, el enquistamiento dura 20-30 min., se vuelve infectante a las 24 h (Olsen 1977, Walker 2000) fig. 5. E.

La metacercaria es redonda mide 250-300 por 200-250 micras, posee dos ventosas y ciegos en forma de “Y” invertida, en 2-3 días aparecen órganos sexuales rudimentarios. Sus hospederos definitivos, la ingieren en vegetales. Vive tres meses a 20-30 °C; pero pierden viabilidad en varias semanas a -5-10 °C. La radiación directa la deseca y neutraliza en 2-4 semanas. En el hospedero definitivo, la metacercaria desenquista en dos etapas: la activación, que inicia en la atmosfera reductora de anhídrido carbónico concentrado y 39 °C del rumen; y la emergencia: ocurre en el duodeno donde la bilis activa la marita a salir del quiste, se nutre de mucosa intestinal, abre la pared con sus espinas y migra al hígado y en 3-24 h llega a la cavidad peritoneal, cruza la cápsula de Glisson por el lóbulo ventral, viaja en el parénquima hepático y se fija a conductos biliares, madura y en tres meses desova; puede vivir 8-11 años en humanos (Quiroz 2011) fig. 5. F.

2.3.3. Distribución geográfica de *F. hepatica*



Figura 6. Dispersión de *F. hepatica*. Fuente (Mas-coma et al. 2009) y distribución mundial de *F. hepatica* (rojo) y *F. gigantica* (verde) y ambas especies presentes (azul). Fuente: Torgerson y Claxton (1999).

Las vías geográficas de *F. hepatica* (Líneas negras) parten de Oriente Próximo en pequeños rumiantes ovicaprinos, llevando en sus cascotes a *Galba truncatula*. Postdomesticación se extendió al Viejo Mundo de Oriente Medio unos 6.000 años a.C. Las rutas transoceánicas al Nuevo Mundo y Oceanía (Líneas azules) se extendieron los últimos 500 años (fig. 6). La uniformidad genética en puntos geográficos distantes como

Valdivia y Chile, aislamientos genéticos entre Reino Unido y Australia, muestra su origen común. *Fasciola buski* y *F. gigantica* están en África, Oriente y Hawai, pero *F. hepatica* es cosmopolita, se difundió en los siglos XV-XIX en España, Portugal, Francia, Reino Unido y países bajos. Fue transportado en ganado hasta América en la colonización europea, creando un desastre ecológico a más de 350,000 especies y habitantes de las vicuñas oriundas, Perú, Venezuela, Chile, Centroamérica y Cuba (Mas-Coma *et al.* 2009). La miseria, deficiencia sanitaria e ignorancia contribuyen a su propagación, con daños graves de salud y economía.

Los vehículos de infección son berros silvestres (*Nasturtium officinale*, *N. silvestris* y *Rorippa amphibia*) y diente de león (*Taraxacum officinale*, *Valerianella olitoria* y *Mentha viridis*). La dispersión parasitaria evita la superpoblación de hospederos y puede colonizar otros; fuera de estos, el parásito enfrenta el ambiente que impulsa su dispersión temporal, por supervivencia quística en el ambiente o en el espacio, migrando en hospedero, en el viento, agua, fómites, coprófagos o la acción humana. En la migración transplacentaria, halla nuevo hospedero sin enfrentar adversidad ambiental (Mas-Coma *et al.* 2009 y Diez Baños 2011). El agua difunde al parásito y hospedero intermediario, las inundaciones, canales de riego y drenaje facilitan su arrastre, desechos orgánicos y estiércol en abono prueban su adaptabilidad ambiental y a nuevos hospederos.

Ante el cambio climático, la fasciolosis fortalece su longevidad y supervivencia en diferentes hospederos que le protegen de efectos directos que afectan sus fases exógenas, influyendo en su epidemiología y control. Cada especie de hospedero difiere en su adaptabilidad al cambio climático y a la epidemiología infectiva, pues entre dos especies con similar tasa infectiva, la mejor adaptada será la principal fuente de infección; las inadaptadas se relegan y otras colonizarán y la hospedarán (Valcárcel *et al.* 2013). En áreas secas, las temperaturas reducen el potencial infectivo, induciendo multiplicación asexual en moluscos, elevando el número de cercarías y concentrándolas en una reducida superficie herbácea (Quiroz 2011).

2.3.4. Importancia económica de *Fasciola hepatica*.

Fasciola hepatica produce alteraciones estructurales y metabólicas, limitando la producción ganadera, produce pérdidas directas en la industria cárnica por muertes y reemplazo, decomisos de hígados en rastros. Las mayores pérdidas indirectas y subclínicas son difíciles de cuantificar: baja en índices de crecimiento, conversión alimenticia, producción láctea y cárnica, cantidad y calidad lanar, difícil fertilidad y fecundidad, gastos terapéuticos y propensión a coinfecciones, tasa de parición y desparasitante (Olaechea 1994).

Las cargas parasitarias de 100 duelas reducen 8 % la producción láctea y las infecciones masivas un 20 % (Black & Froyd 1972). Cargas de 50 duelas reducen hasta 8 % el peso y 11 % la conversión de forraje en engorda. En 135 días de alimento se pierde 5.9 % de rendimiento en canal, un bovino de 450 kg en pie, rinde menos 5.9 % en canal, perdiendo 17 kg x \$47= \$799 pesos/becerro y pérdidas en decomisos de hígados (Bundy *et al.* 1984, Hicks, *et al.* 1989). Las pérdidas de peso (Kg/día) por grado de fasciolosis son de 1-2 en leves, de 3-8 en moderadas y de 25-50 en graves (Olaechea 1994 y 2004). En México la fasciolosis presenta

alta prevalencia y es la principal causa de pérdida por mortalidad y decomisos, 30 % por presencia y 51 % por lesiones; e indirectas por baja en reproductividad, leche, carne, peso y crecimiento (PLANISA 2008).

2.3.5. Importancia ecológica

La relación *F. hepatica*/hospederos, causa mortalidad de hospederos, para erradicar la patogenia en países hiperendémico, recurren a molusquicidas en ríos, afectando especies vulnerables afines y alteran cadenas alimenticias del ecosistema. En la diversidad de hospederos definitivos y accidentales, los domésticos y de producción, son tratados en lo posible; pero los silvestres reducen sin conocerse causas y sin tratamiento. La fasciolosis es frecuente en regiones húmedas y temperatura media óptima de 24-28 °C y tolera un ámbito de 10-35 °C (bajo 10 °C inhibe su desarrollo; sobre 35 °C, eleva la mortalidad de caracoles infectados y la efectividad quística (Acosta 1993, Morrondo et al. 1994). El molusco estiva hasta un año de sequía, teniendo larvas viables hasta 10 meses. Al volver la humedad, caracol y larvas infestan la hierba (Boray 1963).

Pasado el verano el pasto se restringe a residuos de agua, hábitats de *Limnea*, elevando el riesgo al hospedero de ingerir metacercarias concentradas. El hipodrenaje mantiene el ciclo de vida causando infecciones intensas todo el año. La lluvia favorece la reproducción e infección de caracoles, cuyos inmaduros se dispersan en la superficie húmeda, transportan miracidios, elevando cargas infecciosas y mortalidad del caracol infectado (Sanchís et al. 2011). Para descubrir zonas con fasciolosis; se localiza microhábitats húmedos permanentes con un pH ligeramente ácido, como humedales, canales, corriente lenta donde flota y se dispersa a distancias (Ollerenshaw 1971, Morales et al. 2004, Phiri et al. 2007 Paz-Silva et al. 2010)

2.3.6. Hospedero intermediario.

La distribución cosmopolita de *F. hepatica* solo se restringe por su hospedero intermediario, miembros de la clase Gasterópoda, subclase Pulmonata (Wright 1971), la mayoría de agua dulce (Orden Basommatophora), su distribución y desarrollo depende de temperatura y humedad. Los basommatophoros, tienen la cavidad del manto vascularizada en forma de pulmón, hermafroditas, tractos genitales masculino y femenino con orificios separados, dos tentáculos contráctiles con ojos en su base y concha cónica discoidal. Son indicadores de contaminación, toleran cambios ambientales bruscos (Walter 2000, Padilla y Cuesta 2003).

Familias Basommatophora, hospederos de digéneos: Limnaeidae (Diplostomidae, Echinostomatidae), Fasciolidae (Notocotylidae, Paramphistomidae, Plagiorchiidae, Schistosomatidae y Strigidae), Planorbidae (Clinostomatidae, Diplostomatidae, Echinostomatidae, Fasciolidae, Opisthorchiidae, Paramphistomidae, Plagiorchiidae, Schistosomatidae y Strigidae), Physidae (Echinostomatidae, Schistosomatidae). Los hospederos intermediarios reportados por continente son: *Lymnaea columella* a nivel global, *L. tomentosa* en Australia; *L. truncatula*, *L. natalensis*, *Planorbidos leucostoma* (facultativos) y *Radix natalensis* en Europa y África. *L. viator*, *L. diaphana*, *L. columella* *L. viatrix* y *L. truncatula* en Suramérica; *L. truncatula*, *L. natalensis*, *Radix natalensis* en Asia occidental. *L. bulmoides* y *L. humilis*, *Stagnicola bulimoides*, *Fossaria*

modicella en Norteamérica del, *Fossaria cubensis*, *Pseudosuccinea columella* en el Caribe, y *P. collumella* y *Melanoides tuberculata* en Centroamérica (Dreyfuss et al. 1994, Farag y Sayad 1995, Bargues et al. 2001), *Radix labiata* (Rossmassler, 1835) (Gastropoda: Basommatophora: Lymnaeidae).

2.3.6.1. Hospedero principal: familia Lymnaeidae.

Taxonomía:	
Reino	Animalia
Phylum	Mollusca
Clase	Gastrópoda
Subclase	Euthyneura Pulmonata
Orden	Basommatophora
Superfamilia	Lymnaeoidea
Familia	Lymnaeidae
Subfamilia	Lymnaeinae
Género	<i>Lymnaea</i> sp.



Figura 7. Concha y caracol de la familia Lymnaeidae
Fuente: Schniebs et al. 2013, Anderson 2006.

Familia Lymnaeidae (Caracol de Charca), son pulmonados con hábitos anfibios (Javitt et al 2012), viven en agua dulce estancada o de curso lento (Malek y Cheng 1974).

El adulto mide 8-12 mm de largo, posee tentáculos planos y triangulares, concha cónica puntiaguda y delgada, espira atenuada con 4-5 espirales observadas desde la cúspide de derecha a izquierda (dextrorsa), gravado profundo y escalonado, abertura derecha elíptica u oval no operculada de 14-15 mm máx., asimila el color del medio (fig. 7). Es hermafrodita prefiere fecundación cruzada, pone de 8-16 huevos en cocón (cápsula gelatinosa) en agua, sitios húmedos o ramas. Reproductividad según condición ecológica y nutritiva, en óptimas produce 40-60 huevos/día. Madura en 3-4 semanas post-eclosión y empieza a desovar. Algunos géneros hospederos comunes son *Lymnaea*, *Pseudosuccinea*, *Bulimnea*, *Acella*, *Fossaria*, *Stagnicola*, *Omphiscola*, *Catascopia*, *Radix* (Over 1982, Fiel 1998, Brusca y Brusca 2003, Romero 2012).

2.3.6.2. Distribución en el hábitat

Los limnaeidos requieren humedad media de 80 %, pH de 5-9 y 10-30 °C, se concentran en áreas húmedas como zanjas o canales (Pardo 2005). Para cría prefieren zonas bajas inundadas, agua estancada o corriente lenta, clara y oxigenada y sin putrefacción. El sustrato fangoso, arcilla o arenoso rico en alimento, como polen, plantas y cianobacterias como *Lyngbya*, *Leptolyngbya*, *Phormidium* y *Schimidlei*. (Kendall & Parfitt 1975). La humedad define los ambientes endémicos en: focos de origen (pobladas permanentemente), focos de diseminación (colonias cambiantes) y focos temporales (con condiciones esporádicas de supervivencia), estos, con más peligro epidemiológico, pues desequilibra la fauna que limita la reproducción del caracol; hay alimento, reproducción masiva y acelerado desarrollo larvario de *F. hepatica* (Ministério da Saúde 2007).

Las características básicas del hábitat natural de hospederos de *F. hepatica* son: **a)** El agua: condiciona la presencia de *L. truncatula*, por su capacidad anfibia (Malek y Cheng 1974); sin embargo Vergani (1955) mostró que en laboratorio *L. cubensis* resiste hasta 8 meses sin agua. Leimbacher (1975) vio que estivan hasta un año. **b)** El suelo: absorbente de humedad, arcillosos de preferencia, rico en calcio para construir su concha; pero, *L. cubensis* se desarrolla en suelo con contenido medio en calcio (Morales et al. 2004, Phiri et

al. 2007). **c)** La luz: la radiación ultravioleta es esencial para el crecimiento de las microalgas cianofíceas y clorofíceas que consumen, por consiguiente, es muy difícil encontrar estos moluscos en lugares muy sombreados. **d)** Factores ambientales (precipitación, temperatura, topografía) en los meses secos, el pasto verde crece solo en zonas bajas rodea los humedales y zonas más anegadizas, concentrando las poblaciones de caracoles a sectores de menor superficie y la probabilidad de ingestión de metacercarias se multiplica varias veces; Aunque la reproductividad sobrepasa sus límites de resistencia, aún caracoles recién nacidos pueden sobrevivir dos meses, los caracoles crecen pronto al volver la lluvia (Taylor 1965 y Horak 1971).

En meses lluviosos y temperatura favorable su desarrollo y reproductividad incrementa por la disponibilidad de alimento y se dispersan muchos inmaduros vulnerables a altas cargas parasitarias, elevándose también la tasa de mortalidad; Además las lluvias imperantes pueden arrastrar a velocidades letales al caracol, sus huevos y sustrato alimenticio. En condiciones de sequía o frío (menor a 10 °C), se ubica en barro húmedo o agua poco profunda no estancada; inhiben su actividad metabólica para sobrevivir varios meses y reaparecer en condiciones favorables, preservando consigo a larvas albergadas (Fiel 1998, Padilla y Cuesta 2003).

2.3.6.3. Familia Planorbidae (caracoles cuerno), hospederos intermediarios facultativos de *F. hepatica*.

Taxonomía	
Reino:	Animalia
Phylum:	Mollusca
Clase:	Gastropoda
Subclases:	Heterobranchia, Euthyneura, Pulmonata y Hygrophila
Orden	Basommatophora
Superfamilia	Planorboidea
Familia:	Planorbidae Rafinesque, 1815



Son pulmonados dulceacuícola con capacidad anfibia, pocas especies sobreviven en agua salobre, cuerpo rojizo por su hemoglobina, respiran oxígeno mejor que otros moluscos, cuerpos sinistrorsos (Según aguja de reloj), aparato respiratorio y genital izquierdo; pero llevar el umbilical de su concha hacia arriba, lo clasificaba como concha dextral (Malek y Cheng 1974, Strong et al. 2008).

Figura 8. Caracoles Planorbidae. **Fuente:** Walker 2000.

Sin opérculo, tentáculos filiformes largos, pie y cabeza pequeña. Concha discoplanispiral de 6 mm a 6 x 2 cm² máximo, su tamaño, giro y número de espiras son caracteres taxonómicos, fig. 8. Las especies de cáscara delgada, suave y moderada poseen quilla esculpida más clara; los de quilla plana tienden a superponer las espiras, abertura con borde cortante al exterior, peristoma, el labio no se espesa ni refleja. Las de espiral alta y ombligo estrecho cubierto por el callo, varios con cáscara como lapa (Olsen 1977, Min. da Saúde 2007).

2.3.6.3.1. Distribución geográfica

Son cosmopolitas, como los limnaeidos y fisidos, prefieren aguas tranquilas entre vegetación marginal canales con poca agua y vegetación abundante o playas rocosas con mucho alimento. Se ubican en los 7-0 m de profundidad; pero se concentran a partir de dos metros límite de la vegetación enraizada (Naranjo y Gómez 2004). Algunos géneros hospedan a Fasciolidae y otros trematodos en ausencia de limnaeidos:

Squistosoma, *Echinostoma* y *Paranphistomum* (Dreyfuss et al. 1994, Farag y El Sayad 1995, Bargues et al. 2001, Vignoles et al. 2002, Mas-Coma et al. 2005).

2.3.7. Fasciolosis hepática en hospedero definitivo

La fasciolosis es una de las parasitosis más difundidas del ganado bovino y ovino. Es una inflamación de hígado y conductos biliares, con trastornos nutritivos. Los síntomas son diarrea negra, baja producción, edema submaxilar, anemia, hígado lesionado con pústulas, conductos engrosados y calcificados (Náquira 2005, Gallego 2007, López & Rivas 2012). Se infectan en el pastoreo, abrevación y estabulación (manejada con agua infectada); la infección depende de la viabilidad y cantidad de metacercaria ingerida y de transmisión placentaria. La resistencia se estima alta en equinos y porcinos, moderada en humanos, bovinos, conejos y cérvidos y baja en ovinos, caprinos, ratas y hámster (Ride et al. 1985, Olaechea 2004).

2.3.7.1. Carga Parasitaria

La patogenicidad de *F. hepatica* en hospederos causa morbilidad y mortalidad, el grado depende de la carga parasitaria: en ovejas adultas 100 vermes adultos causan síntomas leves, 200 a 700 provocan enfermedad crónica y algunas muertes, de 700 a 1400 provocan enfermedad subaguda y muerte, y solo cargas superiores provocan enfermedad aguda y numerosas muertes. En vacunos, 600 vermes adultos no causan síntomas, 1400 provocan síntomas en 50% de animales, con casos mortales y 5,000 o más vermes, generan mortalidad (Facey & Marsden 1960, Olsen 1977, Leguía 1988, Acha y Szyfres 2003).

2.3.7.2. Presentación clínica

Pasando la pared intestinal o cavidad abdominal, no hay signos patógenos. La enfermedad se divide en fase aguda y crónica. La fase aguda es poco frecuente, casi exclusiva en oveja es una hepatitis traumática causada por la migración simultánea de maritas, que de seis a ocho meses de edad son las más patógenas, estas rompen la capsula de Glisson, al formar túneles en el parénquima hepático y causan hemorragia, las lesiones activan infecciones secundarias bacterianas (ej. *Salmonella dublin*), micóticas (ej. *Clostridium oedematiens* tipo B) o parasitaria (ej. *Ostertagia ostertagi*) por supresión de la hipersensibilidad incapacitan su eliminación (Taylor 1951, Olsen 1977), consumen restos tisulares y gran cantidad de sangre, produciendo fibrosis y anemia progresiva, si las larvas erran en la migración, se localizan en otros órganos.

El proceso crónico, es común en todos los hospederos (incluso el humano), desarrolla a adulto en conductos biliares, provoca irritación constante, inflamación, fibrosis, engrosamiento y endurecimiento de conductos biliares, produciendo material arenoso y mucoso asociado al metabolismo del parásito (Soulsby 1987), fig. 9.



Figura 9. Lesiones hepáticas. **Fuente:** López y Rivas 2012.

Los signos clínicos específicos son: pérdida de peso, anorexia y mucosas pálidas, ictericia, letargo, con o sin edema submaxilar, imperceptible a palpación hepática, sin dolor al palpo o percusión en región hepática, cicatrización y calcificación de conductos biliares, heces duras y quebradizas; en infestación intensa hay posible postración y muerte de becerros. Las duelas se instalan en conductos biliares estimulando el crecimiento excesivo del epitelio biliar en secciones ulceradas (Solórzano 1999 y Olaechea 2004) (Tabla 1).

Tabla 1. Signos clínicos en bovinos, fuente: (Olsen 1977) y Soulsby (1987).

Etapas	Dosis infecciosa	Efecto en bovinos	Presentación clínica
<i>Aguda I</i>	Más de 5.000	Mueren súbita asintomática	Ascitis, hemorragia, ictericia, palidez membranal
<i>Aguda II</i>	1.000 - 5.000	Mueren	Palidez, deterioro físico y ascitis
<i>Subaguda</i>	800 - 1.000	Letargia, anemia y morir	Pérdida de peso
<i>Crónica</i>	200 - 800	Asintomática	Baja de peso, ascitis (edema ventral) y emaciación

La fasciolosis ectópica es la ubicación de duelas en órganos distintos al hígado, sea por arrastre sanguíneo accidental en infecciones intensas, o por migración errática en hospederos definitivos menos específicos (no rumiantes), pudiendo formar abscesos. Se halla bajo piel e intraocular (Arjona et al. 1995, García et al. 1999, Beltrán et al. 2004, Gonzales et al. 2011), peri o intrapulmonar, meningitis, linfadenopatías, carditis y pericarditis, pared abdominal e intestinal, diafragma, riñones, tracto urogenital, útero y fetal (Boray 1969, Chen & Mott 1990, Gutiérrez 2004); faríngea (Taira et al. 1997), neurológica, líquido cefalorraquídeo, medula espinal, cerebelo, cerebro y suele confundirse con aneurisma (Facey & Marsden 1960, Arias et al. 1986, Fernández & Moreno 2000, INMUJERES 2006, Ying et al. 2007, Kaminsky 2010, Ordoñez 2010).

2.3.7.3. Mecanismos de defensa de los hospederos definitivos.

El adulto vaga brevemente en el parénquima hepático, destruyendo tejido, pero puede ser encapsulado en quiste y los macrófagos del hospedero lo fagocitan, su excreta y huevecillos se acumulan alrededor como gránulos negros. Se cree que el pigmento es parte de su excremento, pues se haya igual materia en su aparato digestivo. Las lesiones se dividen en fibrosis hepática y colangitis hiperplásica (inflamación y obstrucción en conductos biliares) que puede ser letal. La migración puede formar trombos en las venas hepáticas taponando el hemoflujo y provocar necrosis isquémica coagulativa en el parénquima. De 4-5 semanas post-infección, sanan y regeneran las lesiones, se deposita colágeno y aparece la fibrosis (Soulsby 1987 y Olsen 2000).

2.3.8. Diagnósis

Es la aplicación de métodos para el hallazgo e identificación de parásitos y sus formas de transmisión: quistes, huevos, embriones, larvas. La mayoría de parásitos se encuentran en el intestino, los patentes se detectan mediante el diagnóstico coproparasitológico; los no patentes por diagnóstico inmunológico explorando la respuesta celular o humoral específica (Soulsby 1987 y Cordero del Campillo et al. 2007).

2.3.8.1. Coprodiagnóstico

Detectar huevos de *F. hepatica* en heces indica fasciolosis crónica; pero en prepatencia sus resultados pueden ser falsos negativos. Para descartar la presencia de parásitos intestinales patentes se toma tres muestras (mínimo) en días alternos, ya que el parásito no ovoposita a diario (Soulsby 1987). En la falsa

fasciolosis hay huevos en heces por la ingestión reciente de hígado contaminado con huevos, se corrige evitando al paciente consumir hígado varios días y repetir el examen fecal (Hillyer 1999).

Para detectar fasciolosis los métodos de sedimentación son idóneos, pues la densidad de huevos de trematodos es mayor que el detritus fecal y sedimentan en menos tiempo. Agregar un colorante de contraste al sedimento destaca el color amarillo de los huevos de *F. hepatica*. Detectar 300-600 h/g en ovinos y 100-200 h/g en vacuno, indican infección patógena, requiriendo fasciolicida. En infecciones agudas la coprología es negativa. La eosinofilia se da en la fase aguda, cuando *F. hepatica* invade el peritoneo y vías biliares, debe conocerse resultados de otros estudios sensibles en periodos de cronicidad, como la serología, la tomografía computada (TC), laparotomía exploradora, la colangiografía retrógrada endoscópica, resonancia magnética y el estudio histopatológico (Soulsby 1987 Fernández y Moreno 2000 y Cordero del Campillo et al. 2007).

2.3.8.2. Inmunodiagnóstico

Para el diagnóstico de fasciolosis prepatente hay varias técnicas serológicas de inmunofluorescencia, precipitación, aglutinación, Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) y fijación del complemento. La técnica más difundida es ELISA, usando antígenos somáticos o de excreción-secreción del parásito. La mejora de los métodos de purificación antigénica ha incrementado la sensibilidad y especificidad de esta prueba. Actualmente se trata por técnicas moleculares, caracterizando genes de *F. hepatica* que codifiquen antígenos específicos, cuya expresión en un sistema heterólogo permitiría obtener en cantidad suficiente y aumentaría la especificidad y sensibilidad de estas pruebas. Existen pruebas de diagnóstico ELISA comerciales para la utilizar con muestras de suero o leche (Walker 2000).

2.3.8.3. Hallazgos de necropsia

La fasciolosis aguda y subaguda muestra lesiones hepáticas, fibrosis focal, hemorragia e hipertrofia, con duelas de 1-7 mm en parénquima, en peritoneo, bazo, páncreas y pulmones. La intensidad parasitaria de 500-1500 trematodos, con 300 duelas promedio en conductos biliares en vacunos engrosa y calcifica conductos biliares, las lesiones alteran los ganglios peritoneales y mesentéricos. Es preciso el diagnóstico diferencial entre fasciolosis crónica y complejo fasciolosis/ostertagiosis (Cordero del Campillo et al. 2007).

2.3.9. Tratamientos

En humanos los antiparasitarios son: antiprotozoarios y antihelmínticos como Paromomicina y Suramina, efectivos para ambos grupos. Los antihelmínticos tienen dos mecanismos comunes: unos afectan el sistema nervioso del gusano y causan parálisis espástica o flácida; otros inhiben el transporte de glucosa al interferir con la polimerización de microtúbulos. El Praciquantel es un antihelmíntico de amplio espectro (*Fasciola*, *Fasciolopsis*, *Clonorchis*, *Echinococcus*, *Echinostoma*, *Heterophies*, *Opistorchis*, *Paragonimus* o *Schistosoma*; *Ascaris*, *Taenia* y sus cisticercos (quistes), *Dipylidium caninum*, *Diphyllobothrium latum*, *Hymenolepis diminuta* y *nana*). Paraliza al gusano despolarizando uniones neuromusculares. Los efectos

adversos antiparasitarios son: abdominalgia, náusea, diarrea, mareo, fiebre, cefalea, lasitud, malestar, aumenta niveles de alanina y transaminasa aspártica, pruritos leves y transitorios (Ibarra et al. 2011).

El Triclavendasol en bovinos adultos, es el mejor fármaco en muchos países contra las duelas adultas y jóvenes; aunque, su uso continuo por años ha originado cepas resistentes en Australia, Irlanda y Escocia. El Clorsulon se administra en vacunos vía oral en una suspensión al 8,5%, a una dosis de 7mg/kg para infecciones por formas inmaduras y adultos de *F. hepatica*, se aplica en lactantes, pero no está registrado en vacas lecheras y el ganado no debe tratarse en los 8 días previos a sacrificio (Bowman 2011), también es eficaz en la Fasciolosis ovina, solo está disponible en España, preparado en combinación con Ivermectina aplicable en vacunos.

El Biotinol (dosis de 30 a 35 mg/kg) es el más efectivo y menos tóxico con una efectividad de 66 al 68% en vacunos y derivado de sulfoxido de biotinol es eficaz en 98 a 100% en ovejas. El Hexocloroetano en dosis diferenciales para ovejas, el Hetol, Oxiclozanida, hasta un 100% frente a *Fasciolas* adultas en oveja, vaca y cabras. La Rafoxanida, Nitroxinil y Alvendadzol, más de un 99% en ovejas y vacas; y la Oxiclozamida en caballos. No se recomienda el tetracloruro de Carbono en bovinos por su toxicidad oral y la inyección produce necrosis o abscesos en el lugar de la inyección (Overend and Bowen 1995 y 1998, Mitchell et al. 1998) y en Holanda (Moll et al. 2000). Mientras que Cordero del Campillo et al. (2007) recomiendan oxiclozanida como fasciolicida durante la lactancia, ya que no es necesario el periodo de supresión (en el mercado aparece combinado con levamisol).

2.3.10. Profilaxis

En humanos se implementan programas informativos y de concientización, sobre el manejo pecuario, consumo de vegetales, agua o cárnicos inocuos. La fasciolosis por su amplia distribución entre los rumiantes y muchas especies silvestres es difícilmente erradicable, pero puede controlarse, combinando tratamientos antihelmínticos con medidas higiénicas y el control en el pastoreo. Los moluscos se han combatido por biocontrol en cultivos integrados de tilapia y patos (Soulsby 1987, Hernández 1992, Monge-Nájera, 2003, Lobato-Paraense 2003, Pérez & López 2003, Carrada-Bravo 2007).

3. METODOLOGÍA

3.1. UBICACIÓN TEMPORAL.

Esta investigación es la primera búsqueda directa de *F. hepatica* en El Salvador y comprende el sondeo de fases endógenas en sus hospederos más comunes y accesibles y las fases exógenas de su ciclo de vida en sus microhábitats respectivos. El estudio se llevó a cabo en un período de seis meses, considerando la época seca (marzo-abril) y lluviosa (julio-agosto). Se realizó cuatro muestreos en serie, dedicando una semana por humedal, debido al esfuerzo de captura (un día) y procesos de laboratorio por unidad de tiempo (5-6 días).

3.2. UBICACIÓN DE SITIOS DE ESTUDIO.

Se aplicó muestreo probabilístico por conglomerado en estratos geográficos representativos de cada zona de El Salvador, determinando cuatro humedales: Laguna de Metapán en el Departamento de Santa Ana (Zona occidental); Embalse Cerrón Grande, Chalatenango (central), Laguna Providencia, La Paz (paracentral) y Laguna Jocotal en San Miguel (oriental) (fig. 10), seleccionados bajo criterio de coincidencia ecológica de los organismos ligados al ciclo de vida de *F. hepatica* (Morales et al. 2004), cuando se concentran en humedales y canales, potenciando su infestividad y reduciendo el esfuerzo de búsqueda (Quiroz et al. 2011).

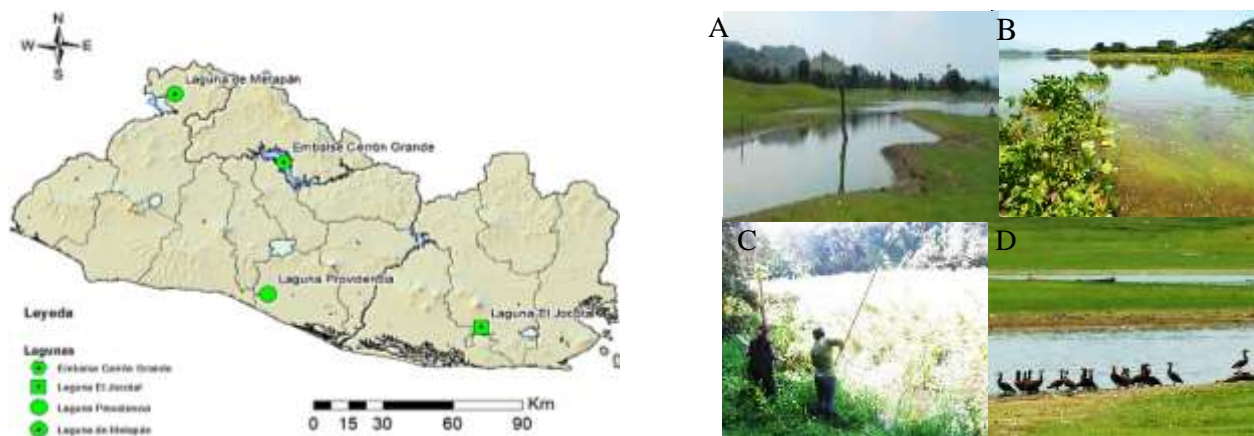


Figura 10. Ubicación geográfica de los sitios de muestreo de El Salvador. A. Laguna de Metapan, Santa Ana. B. Embalse Cerron Grande, Chalatenango. C. Laguna Providencia, La Paz. D. Laguna del Jocotal, San Miguel. **Fuente:** Investigación directa

3.2.1. Laguna de Metapán

Situada al noroeste del Lago de Guija, en los $14^{\circ}18' N$ y $89^{\circ}28' O$, a 430 m snm., entre cantón Las Piedras y Tecomapa, Metapán, Santa Ana forma parte del Complejo Lagunar Güija y el Parque Nacional Montecristo, sitio RAMSAR. Con superficie de 16 km^2 en época lluviosa a 14 km^2 en época seca, con profundidad media de 6 m, ríos afluentes San José y Quebrada Honda. Consta de dos espejos de agua divididos por la Isla Peñita: uno de 10 km^2 , junto al bosque La Barra y otro de 6 km^2 , con profundidad media de 1.5 m, a $24^{\circ} C$ promedio y 1,301 mm de precipitación. Se ubica en la zona de vida Bosque Seco Tropical, que cubre el 0.8 % del territorio. Posee playones anegadizos hábitat de moluscos, ganadería diversa y campos de cultivo en los Pajaritos. Con un área casi plana al este del lago de Güija con suelos residuales arcillosos secos. Efectúa comercio local con municipios de Santa Ana y Guatemala (PREPAC 2005, MARN 2000, 2012, MAG 2013).

3.2.2. Embalse Cerrón Grande

Ubicado en 14° 03' N y 89° 04' O, a 240 m snm. entre Cuscatlán, Chalatenango, Cabañas y San Salvador. Presenta una cuenca de 428 Km², profundidad promedio de 2 m (52 m máxima). 135 Km² de espejo agua y 14.8 Km² de tierras fluctuantes. Temperatura media del agua de 18° a 27° C. Calidad de agua: Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO): 3.32 mg/l; Oxígeno Disuelto (OD) 10 a 00 mg/l; pH: 6.39 a 9.18; Productividad Primaria 700-7900 y 0-6400 mg de C/m²/día. Precipitación de 1,400 a 2,000 mm anuales (Vásquez 2001, MARN 2012). Se ubica en Bosque Húmedo Subtropical Caliente, principal zona de vida de El Salvador, área utilizada para agricultura y ganadería. Forma parte de la cuenca trinacional Río Lempa, abastece las centrales hidroeléctricas localizadas. Posee dos ANP: Santa Bárbara con 176.64 Ha, en El Paraíso, Chalatenango; y Colima con 900 Ha en Cuscatlán. Las 21 islas del humedal poseen potencial para refugio de vida silvestre (Holdridge 1975, FUNDALEMPA-CEL-CENDEPESCA 2004, PREPAC 2005).

3.2.3. Laguna Providencia

Se ubica a los 13°28'3" N, -89°05'8" O a 38 m snm. dentro de la Estación Experimental y de Prácticas de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador, cantón Talcualuya, San Luís Talpa, Departamento de La Paz. Con espejo de agua de 1.08 km² y 3.5 m de profundidad media (Maldonado 1980); luego, PREPAC (2005) la reportó azolvada. Humedad relativa anual promedio de 76%, precipitación de 1,242 mm y 26.4 °C temperatura ambiente (SNET 2003). Se ubica en la zona de vida Bosque Húmedo Subtropical, que constituye el 85.6 % de la superficie territorial (Holdridge 1975). Recientemente Merlos et al. (2011) destacan el recurso hídrico con potencial agro ecoturístico, que se utiliza como área de pastoreo, pero advierte su posible azolvamiento por desborde de la carretera, sobre el río Cacapa (MARN 2000).

3.2.4. Laguna El Jocotal

Localizada entre los 13°19'33.01" N y 88°14'57.98" O, a 40.17 m snm. se adscribe a los municipios de El Tránsito y Jucuarán en el Área Natural Protegida El Jocotal entre el suroeste de San Miguel y Usulután. El espejo de agua fluctúa de 900-1,800 Ha, la profundidad promedio es de 3-3.5 m época lluviosa y 1.5-2 m época seca (máx. 17 m), temperatura media anual de 26°C (28.8°C abril y 25.1°C diciembre), precipitación media anual 1,750 mm (335 mm máximo en septiembre). Estacionalmente invade pantanos herbáceos, pastizales y carrizales de Chilanguera. Ubicada en zona de vida Bosque Húmedo Subtropical Caliente (Holdridge 1975). Ubicada en el complejo de humedales asociados a la llanura de inundación del río Grande de San Miguel. Es uno de los humedales con más diversidad de aves acuáticas migratorias y residentes desde los 70s, es una de las tres áreas naturales protegidas más diversas, en conjunto con los Parques Nacionales El Imposible y Montecristo y es el primer sitio RAMSAR para El Salvador desde 1999. Usos actuales: alta ganadería, turismo medio y baja pesca (MARN 2000, PREPAC 2005, Díaz & Durán 2007).

3.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

3.3.1. Bovinos

Se incluyó hatos bovinos heterogéneos en sistemas de producción doble propósito con 30 a más cabezas, baja asistencia veterinaria, existencia permanente, semi-estabulado o pastoreo continuo. En áreas húmedas de ubicación accesible y disponibilidad adecuada para manipular al ganado. El tamaño de la muestra total fue de 122 bovinos fraccionados en cada humedal: 20 de Laguna Metapán, 30 del Embalse Cerrón Grande, 25 de Laguna Providencia y 48 de Laguna Jocotal, determinados por la fórmula para poblaciones infinitas $n = Z^2 pq / e^2$, y la ecuación: $F = n/N$ respectivamente con nivel de confianza de 94% y error permisible de 0.06, ya que la población total de bovinos en El Salvador supera las poblaciones finitas 11042,931 distribuidos por departamento de los humedal en estudio ((Sierra Bravo1994, MAG 2009 y Hernández et al. 2014).

3.3.2. Moluscos

Para estudio sistemático de moluscos acuáticos MMA (2011) y MAAMA (2012) indican una colecta mínima de cinco adultos por especie y sexo (sí hubiere). Incluyendo cinco por especie en cada punto de muestreo (pastizales inundables), recolectados en litoral de lagunas y embalse, con base al número de capturas por unidad de tiempo (25 minutos). Se siguió el protocolo para muestreo y laboratorio de invertebrados bentónicos en lagos código ML-L-I-2012, Orden ARM/2656/2008 (IPH). (Barbosa 1995, Ministério da Saúde 2007, Gutiérrez & Núñez 2010, Caceido et al. 2011, Naranjo y Gómez 2011, Quiroz et al. 2011).

3.3.3. Agua

La búsqueda de invertebrados en litoral de lagos y embalses (0-2 de profundidad) para el estudios sistemático semicuantitativo, se determinó en proporción a su Area y profundidad (Costamagna et al. 2005, Pérez-Cordón et al. 2008, MMA-MRM 2011, MAAMA 2012). Se estudió humedales con profundidad máxima mayor a 1m, con superficie total de 159.08 km² en época seca (PREPAC 2005), con muestra total finita calculánlada de 50.24 km² y submuestras de 4.43 km² en Laguna Metapán, 42.64 km² Embalse Cerrón Grande, 0.35 km² en Providencia y 2.83 km² en Jocotal, segun Sierra Bravo (1994) y Hernández et al. (2014).

3.3.4. Vegetación inundable

El tamaño de muestra vegetal (para pronóstico y diagnostico de potencial parasitario en pastizales), se determinó un promedio 100 manojos de hierba (cantidad sujetable en un puño cerrado), obtenidos de 50 m en dos rutas zigzagueantes de 25 m cada una, en forma de W opuestas, en una parcela de 20 m² perimetral al humedal, para identificar larvas infectivas por unidad de área, por la técnica de Doble W (Taylor 1939).

3.4. FASE DE CAMPO.

En cada sitio se registró parámetros ambientales: T°C ambiente, con termómetro infrarrojo, Raytek Mini Temp; parámetros en agua con multiparámetros Oakton PCS Testr 35: T°C, pH, SDT (total sólidos disueltos), y salinidad; fotografías con cámara digital SONY MPEG movie VX DSC-S 600, 6.0 Mp., e Instrumentos para captura de datos (Anexo 3 A-F).

3.4.1. Muestreo en bovinos.

3.4.1.1. Extracción directa fecal

Se seleccionó al azar la muestra de bovinos en cada hato, trabajando los mismos para toda la investigación. Se registraba en bitácora clínica, temperatura corporal, con termómetro infrarrojo Raytek Mini Temp., índice de condición corporal, indicados por Médicos Veterinarios y Zootecnistas (MVZ) asignados por MAG.

Para la extracción fecal directa se utilizó bolsa plástica transparente de 5 lb que se introdujo invertida en el recto del bovino, extrayendo un mínimo de 30 g de heces, revirtiendo la bolsa sobre sí misma, se liberó de aire y se ató e identificó para transportarla a 4°C aproximados (Vignau 2005, Prepelitchi 2009) (fig. 11).



Figura 11. Muestreo fecal en bovinos. A. Selección de la muestra, B. Identificación. C. Temperatura corporal, D. Condición corporal, E. Toma de muestra fecal, F. Empacado al vacío y etiquetado, G. Registro en bitácora y H. Refrigerado para transporte.

3.4.2. Muestreo de moluscos

Para obtener caracoles en la zona litoral, se marcó la parcela/transecto en un área de 40 m² x 50 cm (profundidad máxima de acceso, común en los cuatro humedales) área de mayor concentración de moluscos. Se capturó moluscos macro y diminutos con trampa concha, rastrillando por 25 minutos el sedimento, orificios, vegetación sumergida, emergente y superficie, removiendo rocas y troncos, hasta llegar al margen del humedal. Los ejemplares se transportaron al laboratorio en depósitos herméticos etiquetados, con agua y sustrato del medio. Se transportó las conchas vacías, separadas por morfotipos en bolsas plásticas ziploc (Barbosa 1995, Londoño et al 2009, Gutiérrez & Núñez 2010, Quiroz et al. 2011) (fig. 12).



Figura 12. Captura de moluscos A. Dragado de un metro de sedimento, B. Aclarado y revisión de trampa concha, C. Selección y separación de morfotipos de moluscos capturados, D. Extracción de agua y sedimento del medio, E. obtención de conchas vacías.

3.4.3. Muestreo de agua

En cada transecto, se obtuvo 500 mL de agua, introduciendo una botella de boca ancha inclinada para extraer agua con sedimento. Luego se tomó del agua superficial recopilada en varios puntos y profundidad del recorrido de la zona litoral, completando una muestra integrada y etiquetada, se transportó a 4 °C (Costamagna et al. 2005, Pérez-Cordón et al. 2008, MMA-MRM 2011, MAAMA 2012), (fig. 13).

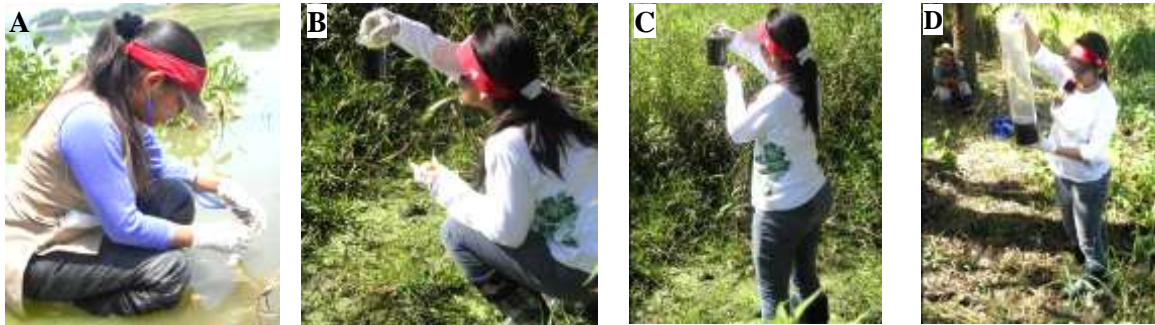


Figura 13. Muestreo de agua. A. Parámetros fisicoquímicos, B. Obtención de muestra de agua sedimentaria, C. Obtención de muestra superficial y D. Integración de muestra total por humedal.

3.4.4. Muestreo vegetal

En cada punto de muestreo se estableció la parcela (previamente determinada), en el área de pastizal inundable marginal al humedal. Utilizando guantes de cuero y tijeras jardineras, se cortó a ras del suelo 100 manojos de hierba a través de una ruta zigzagueante, por la técnica de W opuestas, hasta completar un peso menor a 800 g. Para transportar fresca la muestra se depositó en bolsas de polietileno impermeables de 22.68kg, debidamente etiquetadas (Taylor 1939, Soulsby 1987, Fiel et al. 2011), (fig. 14).



Figura 14. Muestreo de vegetación inundable. A. Ubicación en la zona inundable y medición de la parcela. B. Establecimiento de parcela, C. Seguimiento bidireccional de ruta en W invertidas, C. Corte de manojos de pasto a ras de suelo, D. Embalaje de muestra.

3.5. FASE DE LABORATORIO

3.5.1. Diagnostico parasitario en bovinos, como hospederos definitivos.

3.5.1.1. Coprodiagnóstico (Prueba presuntiva).

Para diagnostico patente, se aplicó la técnica de concentración de huevos en heces por sedimentación, basada en el tiempo de caída de los huevos de *F. hepatica* en agua (100 mm/min.). La técnica es 100 %; específica pero 70 % sensible en un examen, dejando un 30% de falsos negativos. Para elevar la sensibilidad se hizo cuatro exámenes en serie (uno por mes), a un mismo bovino. Para el diagnostico prepatente, se revisó el

material retenido en el primer tamiz, en busca de ejemplares inmaduros (< 3 mm) en heces diarreicas (Arroyo et al. 1986, Quiroz 2000, García-Mas et al. 2008 Chávez et al. 2012).

Para maximizar la sensibilidad, este estudio, combinó y modificó las técnicas: sedimentación de Dennis, Stone & Swanson (1954) DSS y el filtrado de Happich & Boray (1969) (anexo 4A). La modificación consistió en descartar el material tamizado, después del cuarto lavado y no tras el primero indicado por Dennis, para maximizar la recuperación de huevos. Para mayor selectividad y limpieza, se agregó mallas de diferente poro a las indicadas por Happich & Boray (1969) según morfometría del huevo (Walker 2000).

Técnica modificada: "Filtración sostenida/Sedimentación SDSS"

Sedimentación: se preparó la solución DSS 5 % (5 mL de detergente Tween 80/1L de agua destilada) que separa huevos de detritus fecal y acelera su caída. Se homogenizó 10 g fecales en 300 mL de SDSS (sin generar espuma). La suspensión se filtró en mallas de 1 y 0.5 mm de poro (separa materia grande y retiene huevos). Luego se aforó con SDSS a 500 mL, a presión de jeringa, arrastrando los huevos al tamiz (fig. 15).



Figura 15. Tratamientos previos al coprodiagnóstico. A. Pesado de muestra fecal, B. Fijación, homogenización y etiquetado, C. Instalación del sistema para la coprología, D. Preparación de la solución de lavado SDSS.

La materia retenida se conservó en las mallas y la solución filtrada se dejó sedimentar en el beaker por 5 min. (Los huevos de *F. hepatica* caen 100 mm/minuto en agua, no pasar de 5 min, para evitar alta concentración del detritus que precipita después (Happich y Boray 1969). En seguida, se decantó el sobrenadante dejando 1cm de líquido sobre el sedimento (1° lavado). Se resuspendió el sedimento aforando a 500 mL de SDSS, con jeringa sobre el retenido en las mallas. El proceso resuspensión-reposo-decantado se repitió hasta lograr sobrenadante transparente (4 lavados), el sedimento se transvasó a tubos cónicos aforando a 50 mL.

Filtración selectiva: la suspensión se agitó y filtró en pantallas Fieldmaster de 250, 125 y 63 µm de poro, sobre un beaker de 300 mL, sedimentando 3 minutos. Luego se decantó y transvaso a tubo cónico, rociando el beaker invertido con agua destilada a presión de jeringa, aforando a 50 mL. En seguida se decantó dejando 10 mL de suspensión de interés (equivalente a los 10 mL de muestra fecal). Se homogenizó con pipeta pasteur y se transvasó 2 mL a vial individual, fijándolo con 0.5 mL de alcohol 70 %. Se adicionó 3 gotas de azul metileno como tinción de contraste afín al vegetal diferenciando detritus de huevo, esto permite ver verdusca la membrana del paramphistomido; mientras conserva amarillo el huevo de *F. hepatica* (fig. 16).

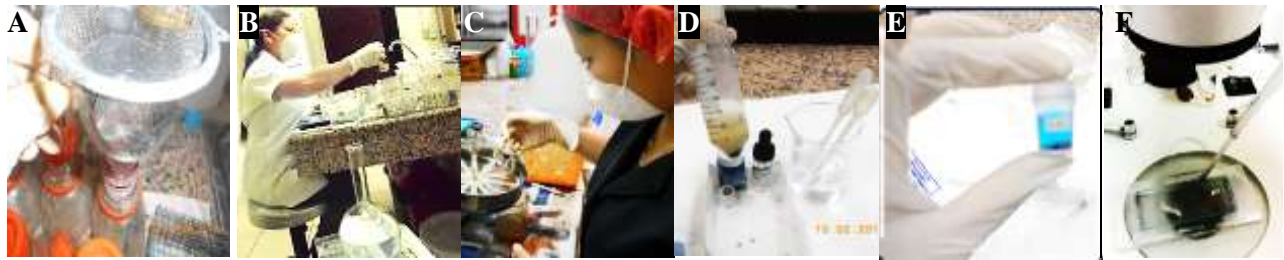


Figura 16. Técnica modificada: A. Filtración simple, B. Sedimentación conservando el material retenido, C. Filtración selectiva. D. Fijación y tinción diferencial del sedimento de interés. E. Dilución, identificación y cuantificación estereoscópica de huevos. F. Observación microscópica.

Cuantificación de huevos: se extrajo 0.25 mL de sedimento preservado, diluyéndolo en 0.75 mL de agua destilada. Para la cuantificación estereoscópica se utilizó una cámara de conteo de microorganismos Sedgewick Rafter de 1mL, milimetrada. De cada muestra se hizo una repetición, obteniendo un promedio de ambos conteos; el número resultante se multiplicó por 4 para obtener el Número de Huevos por Gramo fecal (NHG). Para observar estructuras se trasladó a lámina microscópica. Si el huevo cumplía la morfoanatomía, se trasladaba con aguja de insulina de 1 mL, a un portaobjeto micrométrico graduado, para su morfometría directa. Se tomó registro fotográfico con cámara digital para microscopio de 3MP; DCM310. Los cálculos y cantidades se determinaron en este estudio, mediante la estandarización de la técnica modificada.

3.5.1.2. Revisión postmortem en Laguna Providencia (prueba confirmativa)

Tras el sacrificio fortuito de una vaca de la muestra en la Laguna Providencia, se revisó el hígado bilis en busca de *F. hepatica* y el rumen en busca de *Paramphistomum* sp., se preparó recipientes con agua destilada y alcohol 70 % para el aclarado y fijación de cualquier forma parasitaria que se pudiera localizar (fig. 17).



Figura 17. Inspección postmortem de bovinos. A. Revisión del hígado, B. Revisión de vesícula C. Filtrado de bilis. D. Revisión del rumen, E. Extracción de ejemplares, F. Aclarado y fijación de ejemplares.

3.5.2. Determinación del hospedero intermediario de *F. hepatica*

La identificación de gasterópodos por morfología de conchas y disección de aparato reproductor (fig. 18), según por Paraense (1976) y Malek (1985) y claves de Larrea et al. (1994), Barbosa (1995), Prepelitchi et al. (2003), Ministério Saúde (2007) Burch y Cruz-Reyes (1987), Caceivo et al. 2011, Naranjo y Gómez 2011).



Figura 18. Identificación malacológica. A. Separación/morfotipos, B. Morfometría, C. Disección, D. Observación anatómica

3.5.2.1. Estimulación lumínica para emisión de cercarias (prueba presuntiva).

Cada morfotipo de caracol se aisló en capsulas de cultivo transparentes con 20-30 mL de agua de clorada según su tamaño. Luego se les expuso a cámara lumínica con lámpara de 100 W a 30 cm de distancia, en fotoperiodo de 12:12 por 48 horas a 24-28 ° C (anexo 4B). Luego, se retiró los caracoles y se observó el cristalizador bajo estereoscopio, para detectar cercarias emitidas, acumuladas como puntos blancos en los extremos del recipiente. Los moluscos emisores se conservaron *In Vitro* (García-Mas et al. 2008).

Compresión de cuerpos blandos: para confirmar fases larvianas, se relajó a los moluscos no emisores colocándolos en una solución de agua de clorada y tabaco a temperatura ambiente, manteniéndolos sumergidos hasta su relajación (ausencia de contracción a toque de aguja) (anexo 4C). Una vez extendidos se les comprimió entre dos portaobjetos (Leguía y Casas 1999), bajo estereoscopio en busca de larvas internas (Arroyo et al. 1986, soulsby 1987, García-Mas et al. 2008, Quiroz et al. 2011) (fig. 19).



Figura 19. Estimulación lumínica para emisión larval A. Separación de morfotipos, B. Exposición lumínica, C. estereoscopía de larvas emitidas, D. Compresión de cuerpos de moluscos no emisores. E. Estereoscopía de larvas endógenas

3.5.2.2. Infección *In Vitro* miracidio/molusco, para develar al hospedero intermediario (prueba).

Se estableció un moluscario *Ex situ*, separando cada especie de molusco en peceras de 9 L de capacidad, con agua y sedimento extraído del medio natural, que se sustituyó por agua de clorada mediante recambios y sifonado graduales, alimentándolos con lechuga desinfectada (fig. 20). Para desinfección natural en tres meses (periodo larvario intramolusco) (Leguía y Casas 1999), y su posterior infección *In Vitro*.

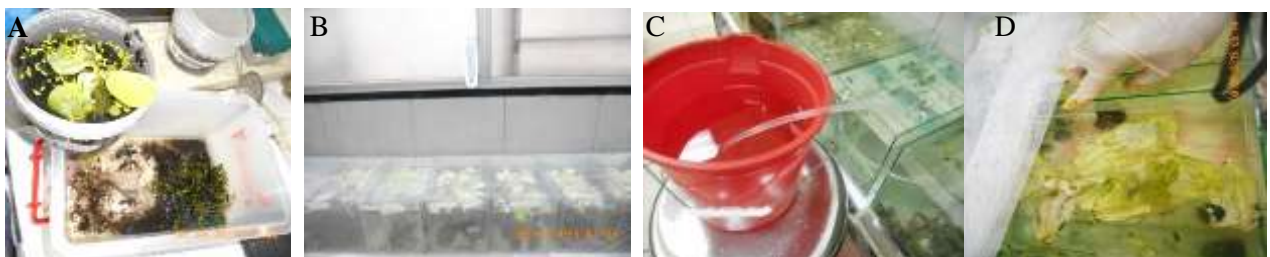


Figura 20. Moluscario *Ex situ* para desinfección natural e infección *In Vitro*. A. Instalación en peceras, B. Adaptación gradual a condiciones de laboratorio. C. Recambios de agua por sifonado, D. Alimentación desinfectada.

3.5.3. Búsqueda de las fases exógenas (miracidio y cercaria) en agua.

3.5.3.1. Filtración Selectiva (Prueba presuntiva).

Los 1,500 mL de agua extraídos de cada humedal y fijados con formol 10%, se filtraron en sistema de tres pantallas de 500, 250 y 64 μm de poro superpuestas (5 cm A x 20 cm diám.). Los miracidios pasan a la solución resultante y las cercarías se retienen en el tamiz de 64 μm , que se recuperaron lavando invertido el

tamiz. Se depositó ambas soluciones en cajas Petri observándolas al estereoscopio, sobre cuadrícula milimétrica; metodología modificada de Costamagna et al. (2005), para cuantificación e identificación según claves (García-Mas et al. 2008, Pérez-Cordón et al. 2008, MMA-MRM 2011, MAAMA 2012), (fig. 21).

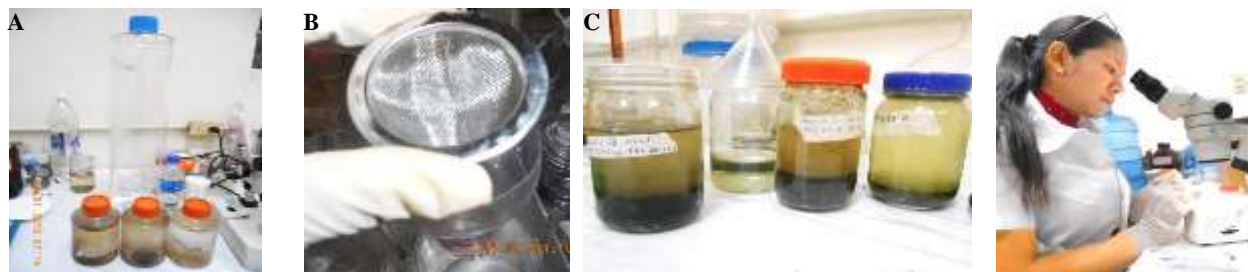


Figura 21. Filtrado de Agua. A. Medición de la muestra, B. Filtración simple C. Fijación de suspensión de interés, D. Identificación de miracidios y cercarias bajo lupa estereoscópica.

3.5.3.2. Coprocultivo de miracidios (Prueba confirmativa).

Se seleccionó las muestras fecales de mayor carga parasitaria para hacer pool coprológico (mezcla de múltiples muestras fecales), procesado por la técnica modificada en este estudio, pero con agua destilada sin detergente para conservar viables los huevos. Del sedimento resultante se extrajo con aguja de insulina de 1 mL, tres grupos de 100 huevos en 100 mL de agua destilada, separados en frascos de vidrio esterilizados. Se cubrió cada frasco con gasa estéril para oxigenar el cultivo y se incubaron a 26 °C promedio, por 20 días.

Para observar su desarrollo previendo la eclosión y surgimiento del miracidio, se extraían grupos de 5 huevos. Para no afectar su desarrollo se colocó en portaobjetos de vidrio sódico-cálcico escavado, con cavidad de 18 mm de diámetro y profundidad de 0.6 mm (aprobadas para aplicaciones diagnósticas *In Vitro* según la directiva 98/79/CE). Al eclosionar se exponían de inmediato a cada morfotipo de molusco bajo lupa estereoscópica, registrando fotografías y videos de la exposición y penetración miracidio/molusco (fig. 22).

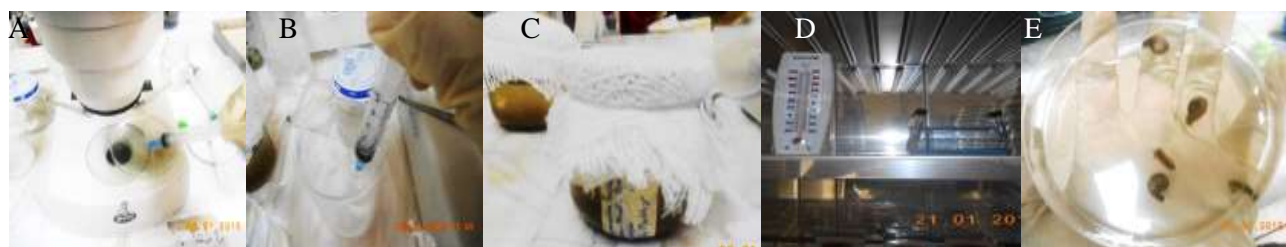


Figura 22. Coprocultivo: A-B. Transferencia de huevos a frascos C. Protección y aireación. D. Incubación. E. Infección *In Vitro*

3.5.4. Búsqueda de la fase exógena infectiva (metacercaria) en vegetación inundable.

3.5.4.1. Observación directa (Prueba presuntiva).

De la muestra total se separó tres manojos al azar, se etiquetó y refrigeró en bolsas plásticas para identificación estereoscópica de metacercarias adheridas al envés de hojas y troncos (15cm long. X diám.).

3.5.4.1. Método de filtración de embebido y lavado vegetal (prueba confirmativa).

Embebido: el vegetal se embebió 24 horas en agua de clorada, con 3 gotas de detergente Tween 80. Lavado:

el embebido se agitó 30 minutos manualmente, luego se extrajo el vegetal suspendido y se deshidrató a 70 °C para calcular peso seco en balanza granataria. Filtrado selectivo: la suspensión de interés se filtró en pantallas de 500, 250 y 125 µm superpuestas (Fiel et al. 2011). Las metacercarias se recuperaron de la pantalla fina, rociando agua destilada y fijada con formol 10 %. Se examinó 1 mL en cámara de conteo, para identificar y cuantificar, estimando el número de metacercarias por gramo de peso seco (mgps) (Soulsby 1987) (fig. 23).

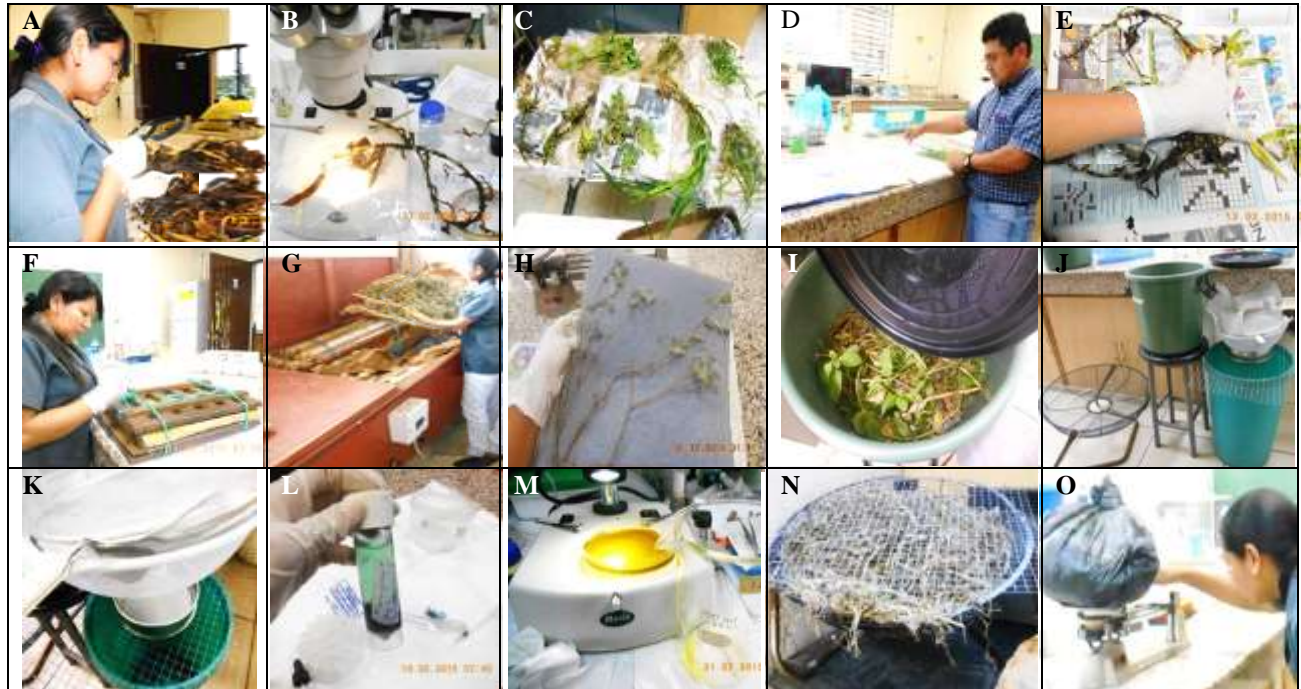


Figura 23. Identificación vegetal. A. Separación de morfotipos, B. Ratificación de especies, C. Georreferenciación de cada muestra, D. Prensado, E. Secado. Proceso en vegetación. F. Selección al azar de tres plantas, G. Búsqueda directa de quistes, H. Búsqueda de caracoles, I. Embebido en agua/detergente, J. Agitado y lavado, K. Filtrado, L. Fijación y tinción de la suspensión de interés, M. Identificación y cuantificación de metacercarias, N. Escurrido y secado del material vegetal y O. Pesado del material vegetal seco

3.6. METODOLOGÍA PARA EL ANALISIS DE DATOS

Considerando que el estudio es descriptivo, con una variable nominal condicionante, no precisa hipótesis, ni pruebas de normalidad. Los resultados se analizaron por estadística descriptiva mediante el programa Excel 2010, los datos obtenidos se tabularon en matrices de datos crudos, según su proceso (anexo 5). Los estadios de *F. hepatica* en sus hábitats se determinaron mediante los siguientes parámetros:

3.6.1. Análisis cuantitativo

Para estimar la prevalencia e intensidad parasitaria de *F. hepatica* en cada estadio de por unidad de muestra, en los distintos microbiotopos se aplicó las siguientes formulas:

3.6.1.1. *Prevalencia parasitaria* de *F. hepatica*: se calculó con base en el número de bovinos, respecto a la muestra total en cada humedal, mediante la siguiente fórmula:

$$P = \frac{\text{nº de individuos infectados}}{\text{Nº Total de individuos de muestra}} \times 100$$

3.6.1.2. *Intensidad parasitaria en bovinos*: se estableció por recuento de huevos por gramo fecal (hpg), con la fórmula:

$$\mathbf{hpg} = \frac{\text{Recuento total de huevos}}{1 \text{ gramo de heces}} \times 100$$

El grado epidemiológico de las zonas de estudio se definió con base en el número de infectados sobre la población en estudio, de acuerdo a estudios realizados desde 1990 (Marcos et al. 2007):

Hipoendémica, prevalencias menores del 1%;

Mesoendémica, prevalencias entre 1 y 10%;

Hiperendémica, prevalencias mayores del 10%.

El grado de infestación en bovinos se interpretó de acuerdo a la Intensidad o carga Parasitaria:

Leve (+): CP menos de 10 huevos por gramo de heces (Mérida 2017).

Moderado (++) : CP de 10-25 huevos por gramo de heces (Kassai 2002, Samamé et al. 2016 y Mérida 2017).

Grave (+++) : CP de 25-50 huevos por gramo de heces (Mérida 2017); de 100-200 hpg según Soulsby (1993).

3.6.1.3. *Infestividad potencial en agua*: según el número de miracidios por mililitro de agua (miracidios/mL).

$$\mathbf{M_{rPL}} = \frac{\text{Nº de miracidios y cercarias}}{\text{Mililitro de agua}} \times 100$$

3.6.1.4. *Infestividad potencial en vegetación*: se determinó en base al número de metacercarias en función de peso seco de la hierba mediante la fórmula:

$$\mathbf{M_ePG} = \frac{\text{Nº de metacercarias}}{\text{Gramo de pasto seco}} \times 100$$

4. RESULTADOS

4.1. PREVALENCIA PARASITARIA EN BOVINO (HOSPEDERO DEFINITIVO).

4.1.1. Identificación *Fasciola hepatica*

El análisis morfológico del huevo de *Fasciola hepatica* y el hallazgo simultáneo de un huevo de alta similitud, característico de *Paramphistomum* spp., indujo su diagnóstico diferencial para evitar error cualitativo/cuantitativo entre este y otros endoparásitos fortuitamente encontrados en este estudio (Velastegui y Guerra 2012, Alarcón y Velásquez 2009, Quiroz y Figueroa 2010).

4.1.1.1. Diferenciación específica

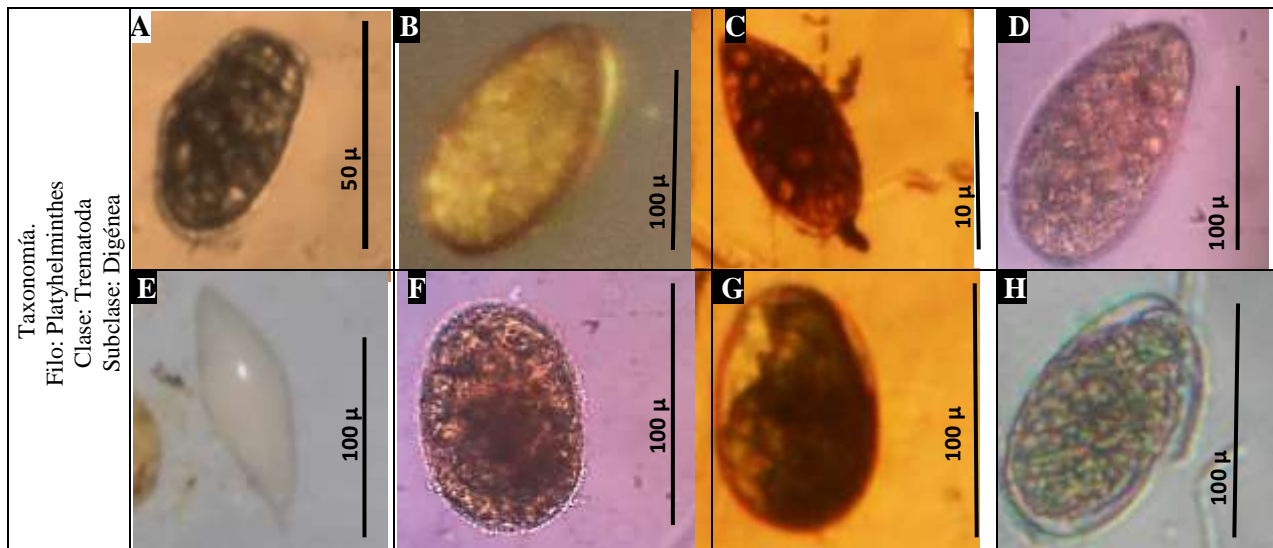


El huevo de *F. hepatica* es marrón, mide 130-150 μm de longitud, con mórulas y opérculo difusos, extremo opercular redondo, célula germinal centropolar. A diferencia del paramphistomido que es gris-verdoso, mide 150-180 μm de longitud, polo opercular agudo célula germinal lateropolar (Soulsby 1987, Quiroz 2010, Morales y Pino 2004, Cordero et al. 2007) (fig. 24), y ratificadas por Figueroa y Cruz-Mendoza 2015 (Anexo 6).

Figura 24. Proporción de huevos. A. Paramphistomido, B. *Buxtonella sulcata*, C. *Fasciola hepatica*. **Fuente:** investigación directa.

4.1.1.2. Nómina de parásitos identificados en coprodiagnóstico bovino.

La riqueza específica endoparasitaria en coprología fue de 22 especies, ocho trematodos zoonóticos, 10 nematodos (*Manmomonogamus laringeus* y Sp.1 zoonóticos de la familia Syngamidae y ocho Trichostrongylidae; dos artrópodos, un Apicomplexa y un Ciliophora (fig. 25).



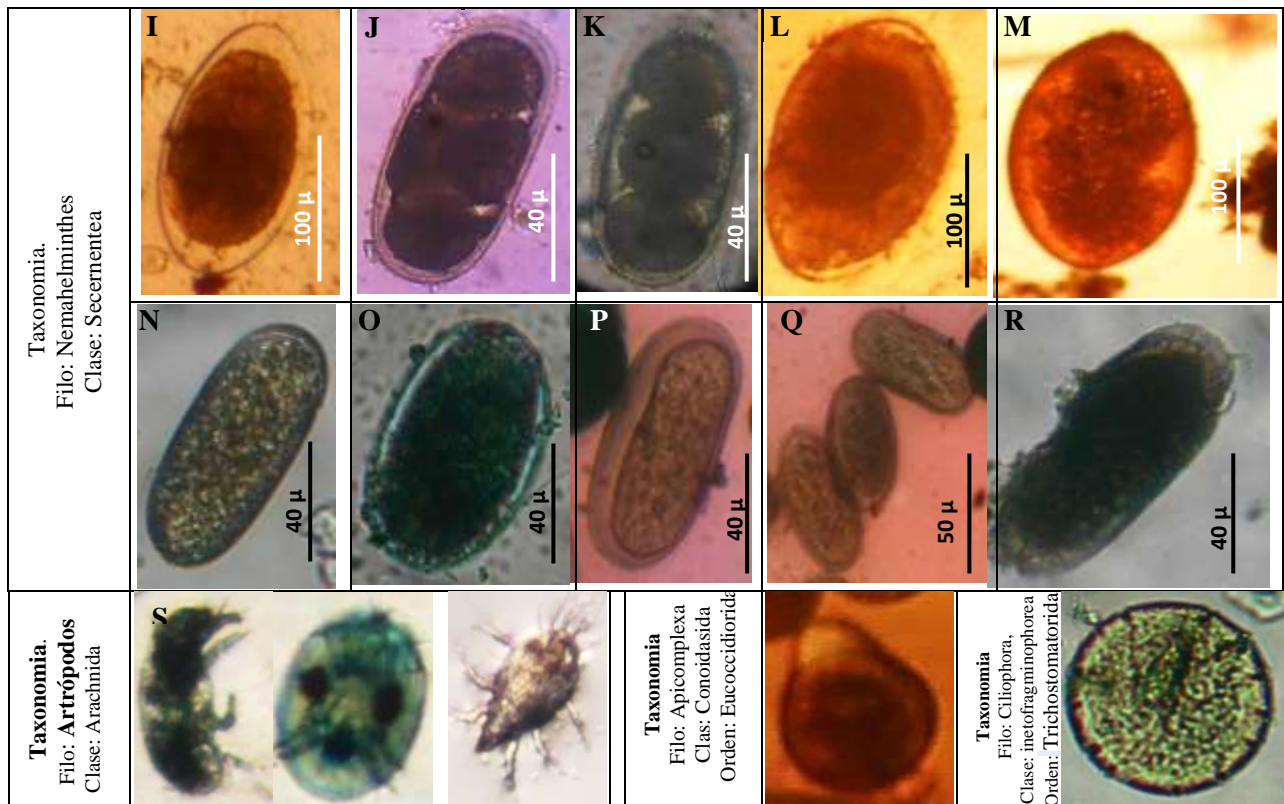


Figura 25. Parásitos identificados en coprodiagnóstico bovino A. *Dicrocoelium dendriticum*, B. *Fasciola hepatica*. C. *Opisthorchis* sp. D. *Paramphistomum* sp., E. *Schistosoma haematobium*, F. *Schistosoma japonicum*, G. *Schistosoma mekongi*, H. *Schistosoma* sp. Del Filo Nematoda: I. *Nematodirus filicollis* (Trichostrongylidae) J. *Manmomonogamus laringeus* (Syngamidae). K. sp.1 (Syngamidae), L. *Marshallagia marshalli*, (Trichostrongylidae) M. Sp.2, N. *Oesophagostomum* sp. O. *Haemonchus* sp, P. *Strongyloides* sp Q. *Cooperia* sp. (Trichostrongylidae) R. sp. 3 (Trichostrongylidae). S. Subclase: acari. Generos: *Chorioptes bovis* y *Psoroptes* spp. T. *Eimeria bovis*. U. *Buxtonella sulcata*. **Fuente:** directa.

4.1.2. Prevalencia y carga parasitaria de *Fasciola hepatica* en bovinos

La prevalencia general de *F. hepatica* en 122 bovinos en pie fue 13.93 %, con \bar{x} =17 % por humedal positivo y \bar{x} =12.82 % por humedal estudiado, en un ámbito de 0 a 19.6 %; resultando hiperendémica según escala epidemiológica (Marcos et al. 2007) y carga parasitaria \bar{x} =15.1 hpg, con infección moderada (++), según (Mérida 2017, Samamé et al. 2016, Kassai 2002). (fig. 26).

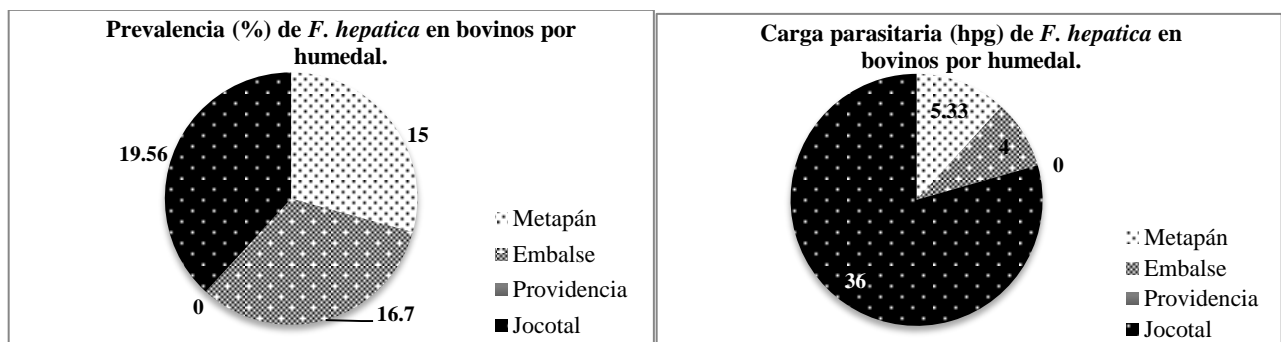


Figura 26. Prevalencia y carga parasitaria de *Fasciola hepatica* en cuatro humedales de El Salvador. **Fuente:** investigación directa.

4.1.3. Distribución espacio-temporal de *Fasciola hepatica*.

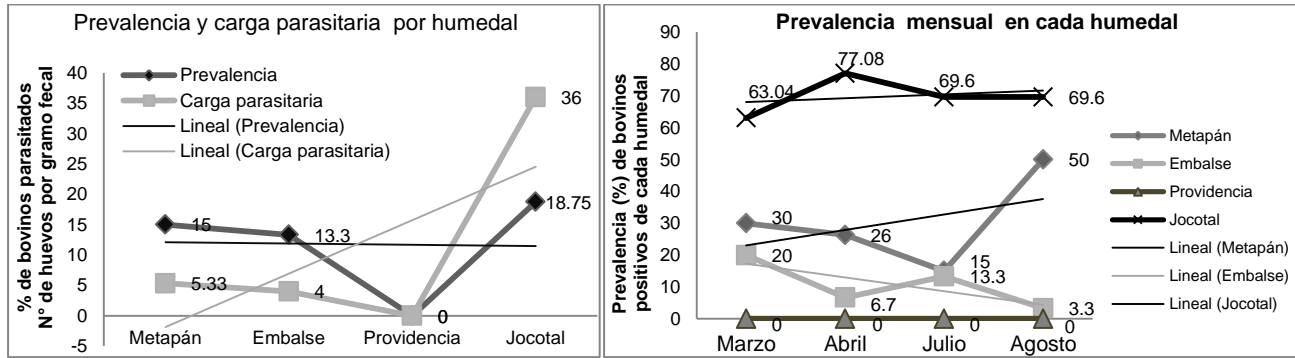


Figura 27. Izquierda: prevalencia y carga parasitaria media por humedal. Derecha Prevalencia media por mes. Fuente: directa.

La distribución espacial según coprodiagnóstico ratificó *F. hepatica* en el 75 % (3/4) de humedales en estudio, con prevalencia y cargas parasitarias levemente decrecientes de noroeste a sureste (Jocotal y Embalse), resultando nulas en Providencia y maximizándose en Jocotal, elevando la pendiente de cargas parasitarias hacia el oriente del país (fig. 27). Ambos parámetros fueron máximos en Jocotal, mínimos en Embalse y nulos en Providencia. Por su parte, la distribución temporal de prevalencia mostró incremento hacia los meses lluviosos en Metapán y Jocotal, sin embargo disminuyó en el Embalse, mientras que en Providencia los datos coprodiagnóstico permanecieron negativos a *F. hepatica* durante todo el periodo de estudio.

4.1.4. Confirmación de adultos de paramphistomido en necropsia bovina



Figura 28. *Paramphistomum* sp., adultos en rumen bovino de la Laguna Providencia, La Paz. Fuente: Investigación directa.

La revisión postmortem de un bovino de muestra en Laguna Providencia, La Paz, confirmó los resultados del coprodiagnóstico. Ratificando la ausencia de *F. hepatica*, en hígado y en filtrado de bilis; y develando ocho adultos en un área ruminal de 20 cm² del paramphistomido compatible con el huevo identificado en coprodiagnóstico por morfología del huevo según (fig. 28).

4.2. DETERMINACIÓN DEL MOLUSCO HOSPEDERO INTERMEDIARIO

4.2.1. Identificación taxonómica de gasterópodos en cuatro humedales de El Salvador.

Un total de 1,079 caracoles fueron identificados en los humedales, con una riqueza de 20 especies, de siete familias de agua dulce y tres terrestres. Se observó mayor riqueza en Laguna Jocotal y escasa en Laguna Providencia, con solo 3 especies en frecuencia alterna (fig. 29-30, tabla 2).

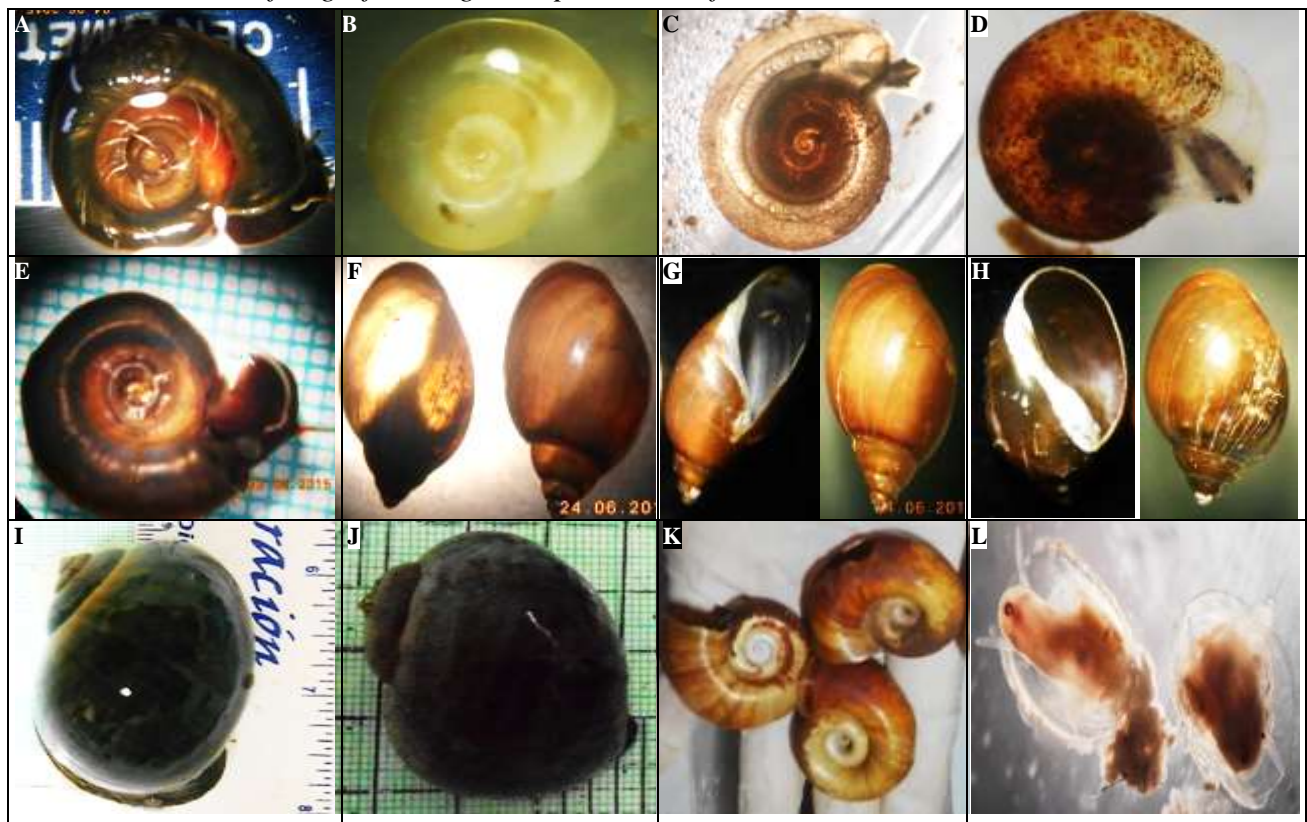
Se destaca el hallazgo del primer género de la familia Lymnaeidae, a reportarse para el Salvador *Radix balthica*, pulmonado de habito anfibio en agua estancada, posee alta tolerancia a variado pH, salinidad y temperatura, prefiere agua calcárea (Welter-Schulte 2009). Es hermafrodita, aberturas sexuales separadas, no endogámico. Es ovoviviparo, ovula a partir 1 año de edad, extensión de generación de 1 año, ovipositan

cordones gelatinosos de un 1 cm en sustrato duro. Tentáculos triangulares que aumentan la superficie absorbiendo más oxígeno. Su sangre con hemocianina, vuelve verde pálido la cabeza y pie, cambia su densidad con movimientos musculares del manto para flotar a la superficie o caer al fondo del agua. No come plantas con buena salud; se alimenta de algas, biopelículas bacterianas y protozoos en sustrato duro y detritus, por lo que se considera filtrador en el ecosistema. Es HI de una gran variedad de trematodos, principalmente Fasciolidae Rondelaud et al. (2014) y Paramphistomidae (Alevs et al. 2015) (fig. 29).



Figura 29. A. Foto de referencial. **Fuente:** Pope 2015. B. Vista dorsal de la concha de *Radix balthica*, encontrada en Laguna El Jocotal, San Miguel. C. Morfometría de la Concha. **Fuente:** directa

4.2.1.1. Lamina fotográfica de gasterópodos identificados en cuatro humedales de El Salvador



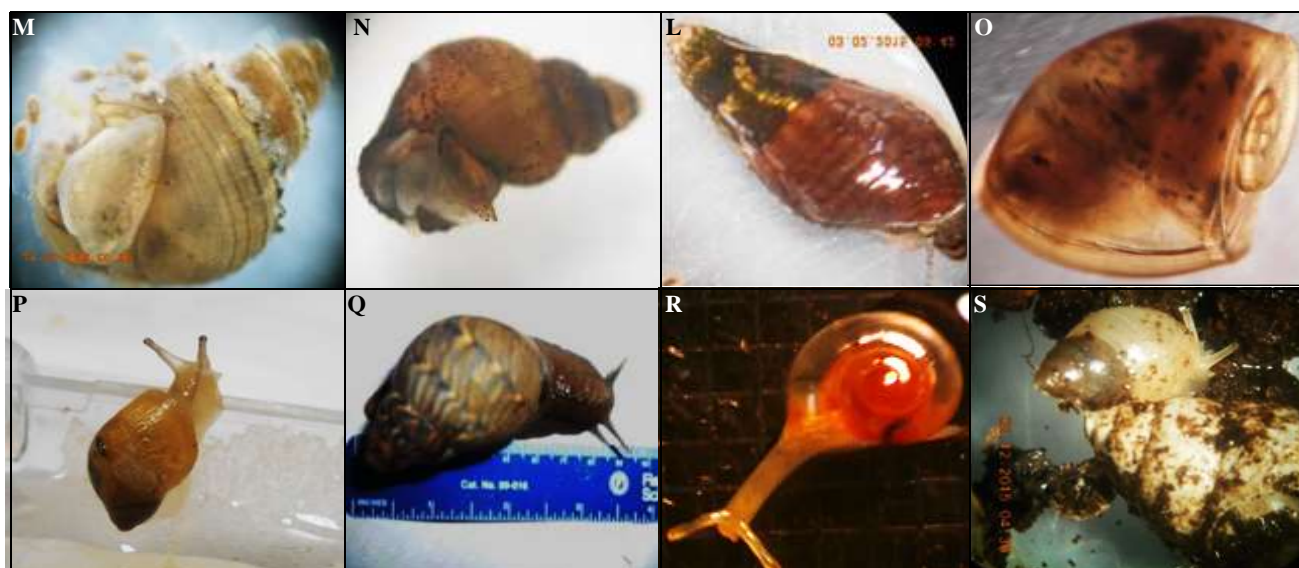


Figura 30. Moluscos identificados en cuatro humedales de El Salvador. Familia Planorbidae: A. *Biomphalaria havanensis* (12 mm) B. *Biomphalaria subprona* C. *Drepanotrema depressissimum*. D. *Gyraulus parvus* E. *Helisoma* sp. F *Planorbella* sp. G y H, I: Familia Physidae: *Mexinauta* cf. *M. aurantia* izquierda y Sp.6 derecha (vista dorsal, trasluz y ventral). Familia Ampullariidae. J. *Pomacea flagellata* K. *Pomacea* Sp. L. *Marisa cornuarietis*. M. *Acroloxus lacustris* (Acroloxidae), N. *Pyrgophorus spinosus* (Hydrobiidae) O. *Tarebia granifera* (Thiaridae). Terrestres: P. Succinidae: *Succinea* sp. Q. Orthalicidae: *Orthalicus princeps* R. Zonitidae: Spp. 7. S. Subulinidae: *Leptinaria unilamellata*. **Fuente:** directa

Tabla 2. Gasterópodos, identificados en cuatro humedales de El Salvador. **Fuente:** investigación directa.

Hábitat	Familia	Identificación	Reportados en El Salvador		
Suborden Basommatophora Keferstein en Bronn, 1864 (pulmonados de agua dulce)	1	1	<i>Radix balthica</i> (Linnaeus, 1758)	NR	
		2	<i>Biomphalaria havanensis</i> (Pfeiffer, 1839)	NR	
		3	<i>Biomphalaria subprona</i> (Martens, 1899).	Lobato-Paraense, 2003	
		4	<i>Drepanotrema depressissimum</i> (Moricand, 1839)	NR	
	2	Planorbidae	5	<i>Gyraulus parvus</i> (Say, 1817)	NR
			6	<i>Helisoma</i> sp. (Swainson, 1840)	http://invertebrates.si.edu/
			7	<i>Planorbella</i> sp. (Haldeman, 1843)	NR
	3	Ampullariidae	8	<i>Marisa cornuarietis</i> (Linnaeus, 1758)	NR
			9	<i>Pomacea flagellata</i> (Perry, 1810)	http://invertebrates.si.edu/
	4	Hydrobiidae	10	<i>Pomacea lineata</i> (Say, 1827).	NR
			11	<i>Pyrgophorus</i> sp. (Ancey, 1888).	http://invertebrates.si.edu/
			12	<i>Tarebia granifera</i> (Lamarck, 1822)	NR
			13	<i>Physella acuta</i> Draparnaud, 1805	NR
	6	Physidae	14	<i>Mexinauta</i> cf. <i>M. aurantia</i> (Carpenter, 1857)	NR
			15	<i>Physa</i> sp.	NR
7	Acroloxidae	16	<i>Acroloxus lacustris</i> Beck, 1838	NR	
Suborden Eupulmonata Haszprunar & ...	8	Orthalicidae	17	<i>Orthalicus princeps</i> (Broderip, 1833)	Pérez y López, 2003
	9	Subulinidae	18	<i>Leptinaria unilamellata</i>	NR
	10	Succinidae	19	<i>Succinea</i> sp. (Draparnaud, 1801).	NR
	11	Zonitidae	20	Sp 7	NR

Nota: NR: Primer reporte en El Salvador

15 Primeros reportes en El Salvador

4.2.1.2. Frecuencia y abundancia de moluscos en cuatro humedales de El Salvador.

4.2.1.2.1. Gasterópodos en humedales de menor riqueza específica.

De los 1,079 caracoles obtenidos en el estudio, 57 individuos de tres especies se identificaron en Metapán: *Acroloxus lacustris*, *Pomacea flagellata* y *Marisa cornuarietis*. En el Embalse Cerrón Grande se 269 caracoles de tres especies: *Acroloxus lacustris*, *Pila ampullacea* y *Bionphalaria habanensis*. Y la Laguna Providencia fue la menos diversa con dos especies: *Depanotrema depressissimum* y *Succinea sp.* (fig. 31).

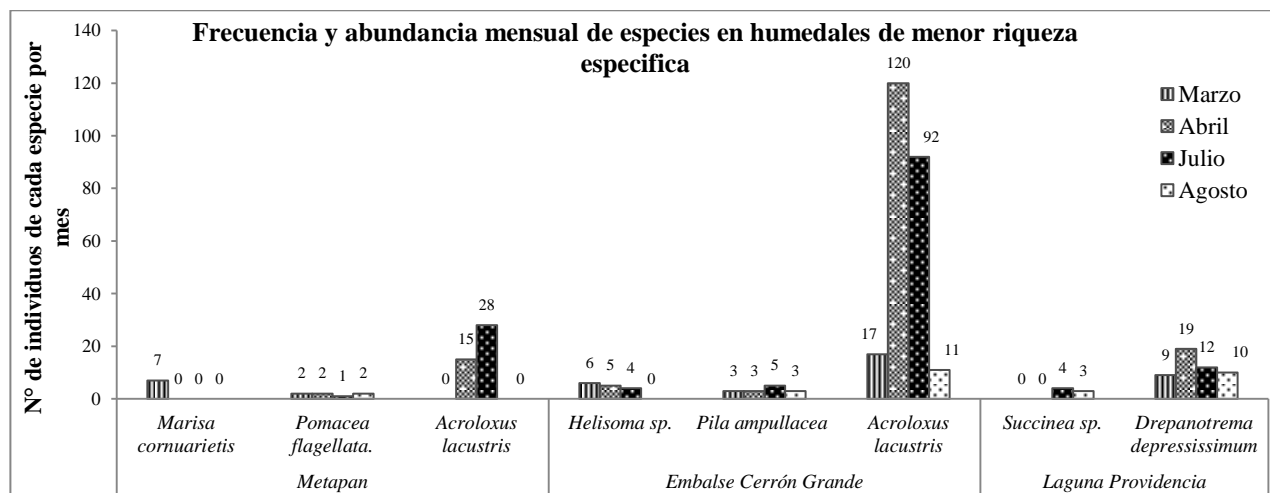


Figura 31. Frecuencia y abundancia mensual de especies en humedales de menor riqueza específica. **Fuente:** directa

4.2.1.2.2. Frecuencia y abundancia de gasterópodos en la Laguna El Jocotal.

De las 20 especies de moluscos identificadas en este estudio, 17 fueron colectadas en Laguna Jocotal, siendo *Physella acuta*, la más abundante y frecuente, seguida de *Mexinauta aurantia* y *Tarebia granifera*, los más escasos fueron, *Radix balthica*, con solo dos individuos vivos en el muestreo 1 y 7 conchas vacías en el muestreo 4 y los caracoles terrestres, solo en el último muestreo: *Orthalicus princeps*, dos individuos vivos, *Leptinaria unilamellata* con 9 individuos y 5 del miembro de la familia Zonitidae (fig. 32).

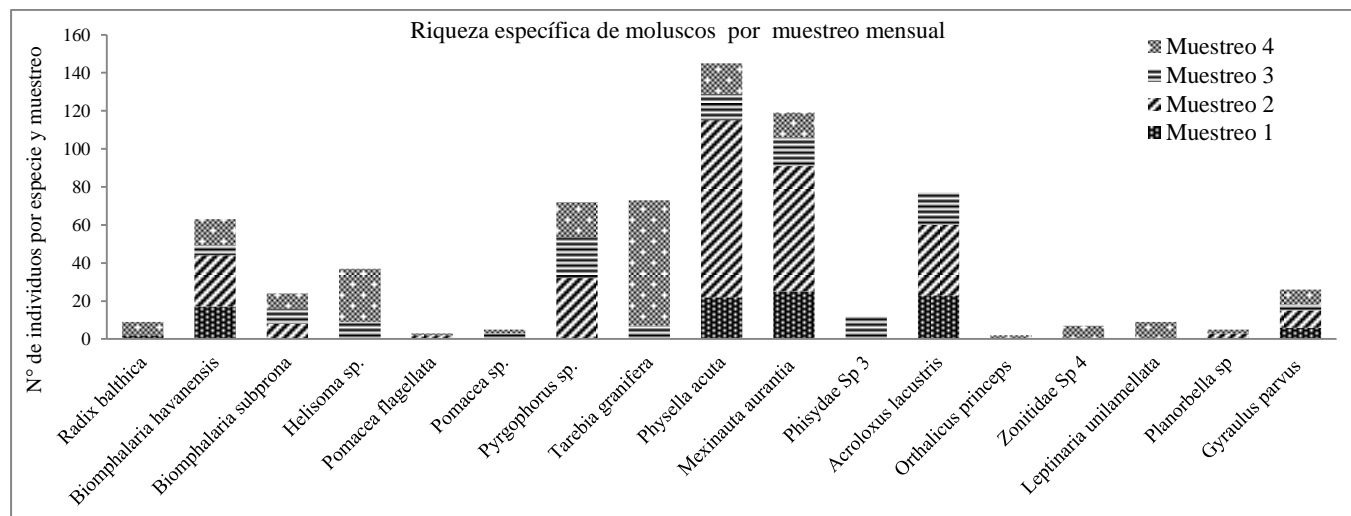


Figura 32. Riqueza y abundancia de especies de moluscos en la Laguna El Jocotal. **Fuente:** directa

4.2.2. Determinación de los moluscos como hospederos intermediarios de *F. hepatica*.

4.2.2.1. Inducción lumínica de HI, para emisión de cercarias (prueba presuntiva)

Este método mostró una cercaria (fig. 33) en la especie *Radix balthica* de la Familia Lymnaeidae, naturalmente infectado, obtenido en Laguna El Jocotal, San Miguel.

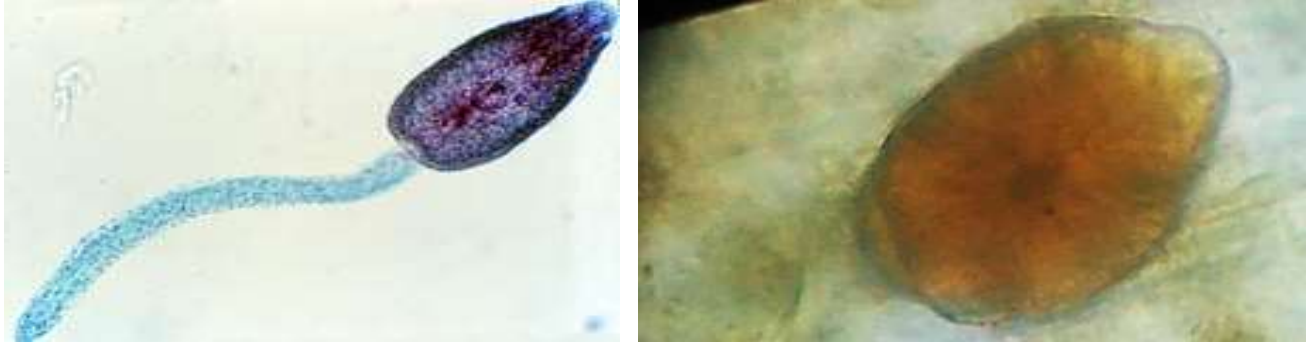


Figura 33. Cercarias: Izquierda: referencia, derecha: cercaria compatible con *F. hepatica* (cono cefálico, ventosa oral y ventral y cola presentes; manchas oculares ausentes), emitida por estimulación lumínica de un ejemplar de *Radix balthica*. **Fuente:** directa

4.2.2.1.1. Compresión de cuerpo del molusco para observar larvas endógenas.

La compresión de *Biomphalaria havanensis* y *Heliosoma* sp., evidenció el posterior de una redia típica de *F. hepatica* y *Gyraulus parvus* mostro: un esporocisto, una redia, dos cercarías compatibles con *Paramphistomum*, cuatro cercarías típicas de *F. hepatica*, y dos especies no identificadas a la fecha (fig.34).

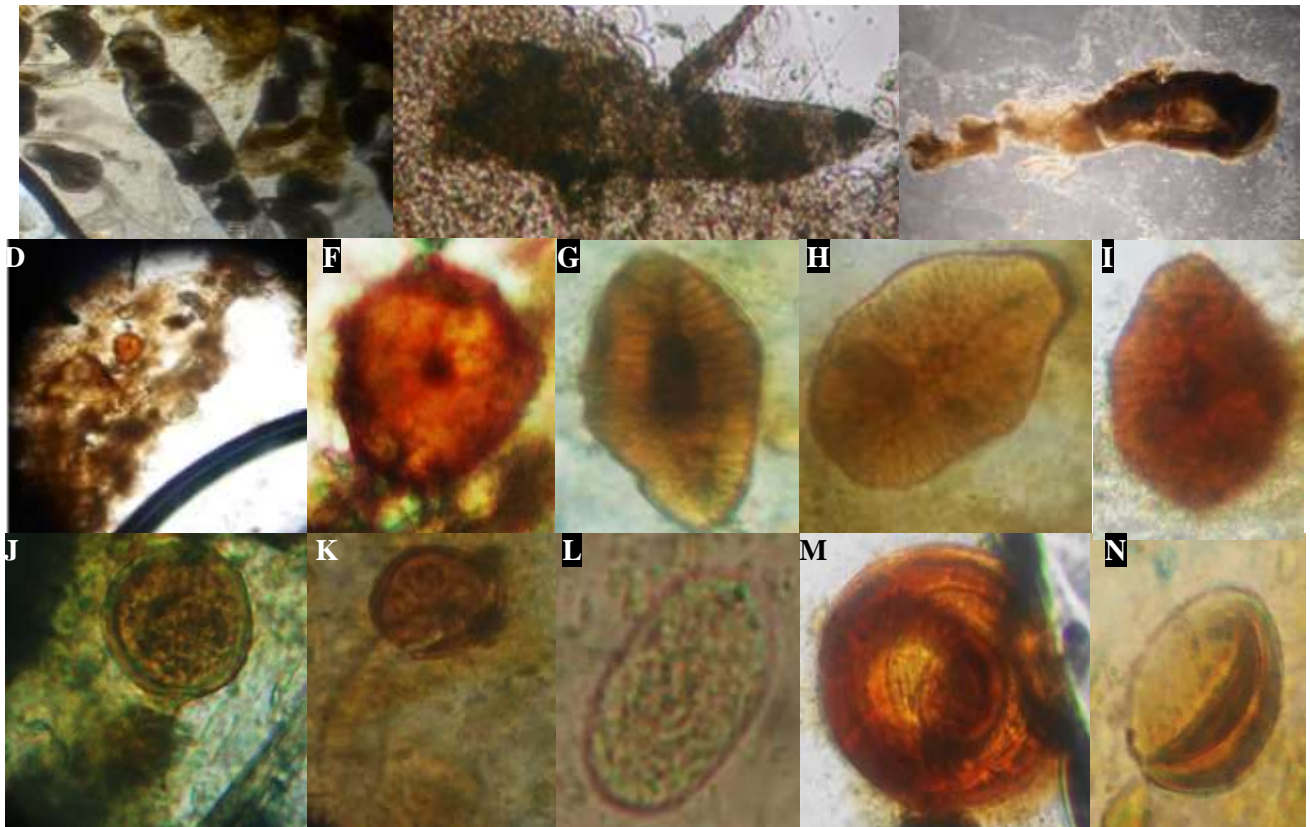


Figura 34. Fases endógenas vistas por compresión de moluscos **A.** Redia de *F. hepatica* referencial, **B.** Posterior de redia, observada en *Heliosoma* sp. **C.** Cuerpo del caracol. Fases endógenas en *Gyraulus parvus*: **D.** Parte anterior de redia, **E-I.** Cercarias compatibles con *F. hepatica*, **J-K.** Cercarias compatibles con *Paramphistomum* **H.** Esporocisto. **I.** Cercaria inmadura y **J.** Sp.7. **Fuente:** directa.

4.2.2.2. Infección de caracoles In Vitro (prueba confirmativa).

En la infección miracidio/molusco se observó la penetración de miracidio con manchas oculares en *Bionfalaria sp.*, obtenido en la Laguna Jocotal y el miracidio sin manchas oculares en *Drepanotrema depressissimum* obtenido en Laguna Providencia. El evento se registró en video, por la velocidad de movimientos del miracidio, por lo cual se presentan capturas de pantalla en la (fig. 35).



Figura 35. Infección In vitro Miracidio/molusco. A. Inserción del miracidio en el pie de *Bionfalaria sp.* B y C. *D. depressissimum*

4.3. FASES EXOGENAS EN MEDIO AMBIENTE.

Los estadios exógenos (huevos, miracidios, cercarias y metacercarias) observados por filtración de agua y pasto fueron: abundantes huevos, metacercarias, dos miracidios y dos cercarías, detallados en (fig. 36).

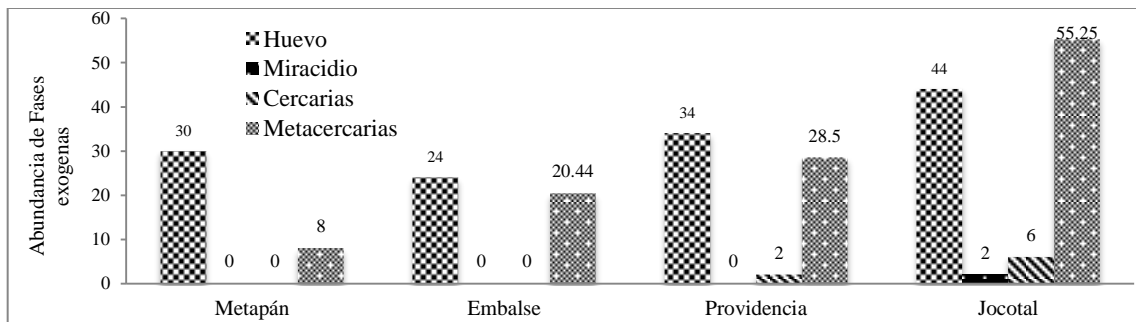


Figura 36. Potencial infestivo de fases exógenas de *F. hepatica* en agua y pastos de cada humedal. **Fuente:** directa.

4.3.1. Estadios exógenos por el método de filtración selectiva de agua (prueba presuntiva).

Este método mostro huevos, dos miracidios y dos cercarías, ambas en el filtrado de agua de Laguna Jocotal.

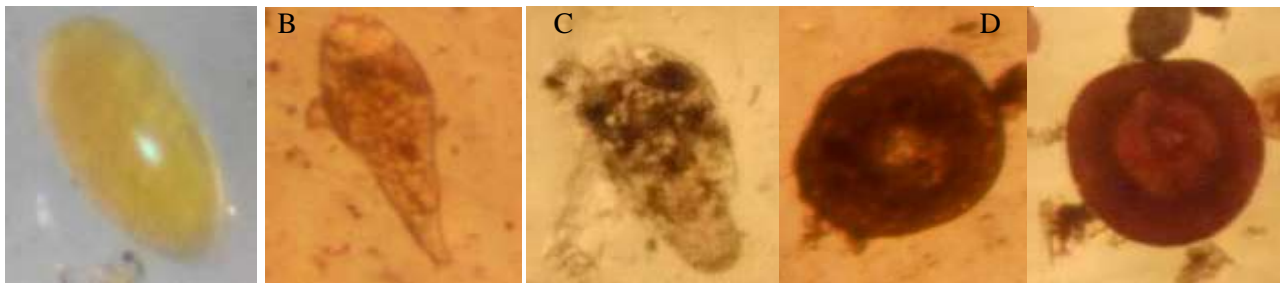


Figura 37. A. Huevo B y C. Miracidios. D. y E. Cercarías previo y enquistándose, en agua de Laguna Jocotal. **Fuente:** directa.

4.3.2. Estadios exógenos por el método de coprocultivo (prueba confirmativa).

Miracidios producidos en coprocultivo, donde se observó huevos embrionados y miracidios compatibles con *F. hepatica* y con *Paramphistomum sp* (fig. 38).

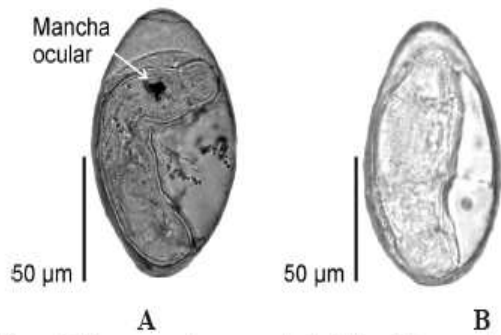


Figura 5. Huevos maduros con el miracidio próximo a eclosionar. A. Compatible con *Fasciola hepatica*. B. Compatible con Paramphistomidae. Fotografías laboratorio Malacología Médica y Tremátodos/PECET/Universidad de Antioquia.

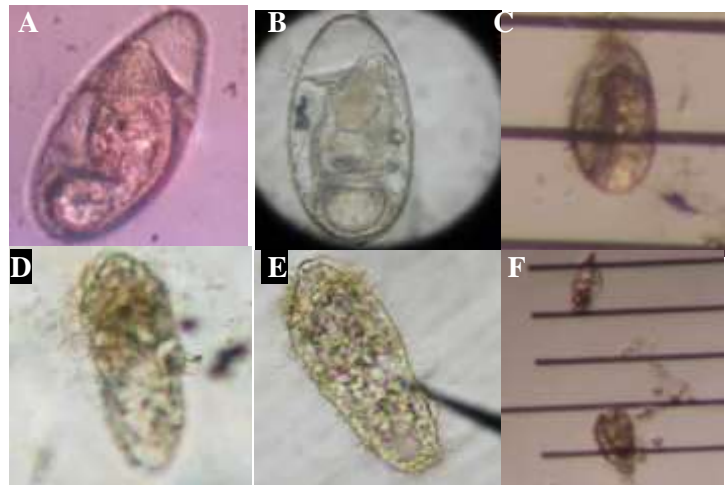


Figura 38. Miracidios: Izquierda: foto referencial. Derecha. A. huevo embrionado y D. miracidio, compatibles con *F. hepatica*, B. huevo embrionado y E. miracidio compatible con *Paramphistomum sp.* C y F. morfometría (graduación 100 µ). **Fuente:** directa.

4.4. FASE INFECTANTE EN VEGETACIÓN INUNDABLE.

La fase exógena metacercaria se evidenció por dos técnicas respectivas presuntiva y confirmativa: Observación directa (OD) con 24.25 metacercarias por gramo de vegetal seco Mc/gpsv y por Filtración selectiva de Embebido y Lavado Vegetal (ELV) 36.17 mc/gpsv con frecuencia de 28.05 Mc/mL de agua. Detectando también huevos por la misma técnica con una frecuencia promedio de 33 h/mL de agua (fig. 39).

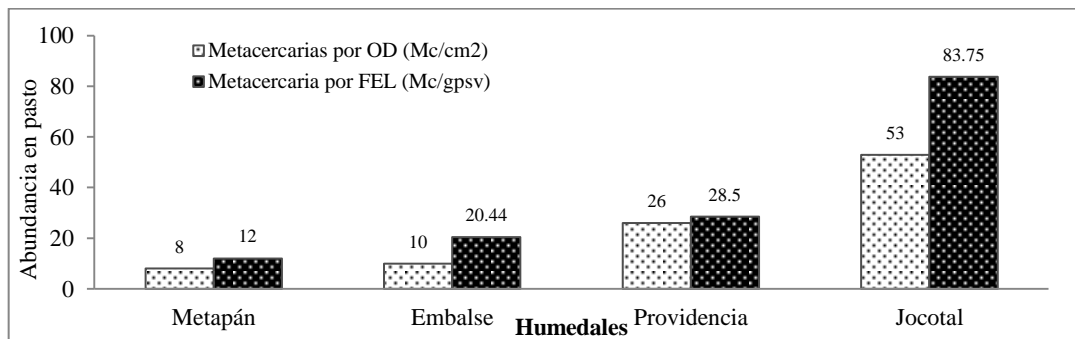


Figura 39. Abundancia de metacercarias en pasto por método de observación directa (OD) y Filtrado de embebido y lavado Vegetal (FEL). * Gramo en peso seco vegetal. **Fuente:** directa.

4.4.1. Búsqueda de metacercarias por observación directa (Prueba presuntiva).

La observación directa permitió ver quistes vacíos y metacercarias en proceso y enquistadas (fig. 40).

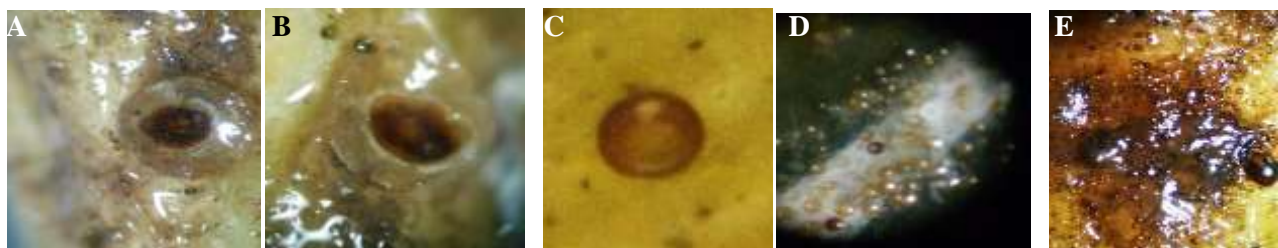


Figura 40. A y B. Metacercarias por observación directa. Quistes vacíos en *Eichhornia crassipes* extraída de Metapán, C. tronco de gramínea de Laguna del jocotal con múltiples quistes, D y E. metacercarias en enquistamiento, Laguna del Jocotal. **Fuente:** directa.

4.4.2. Búsqueda de metacercarias por filtrado de embebido y lavado (FEL).

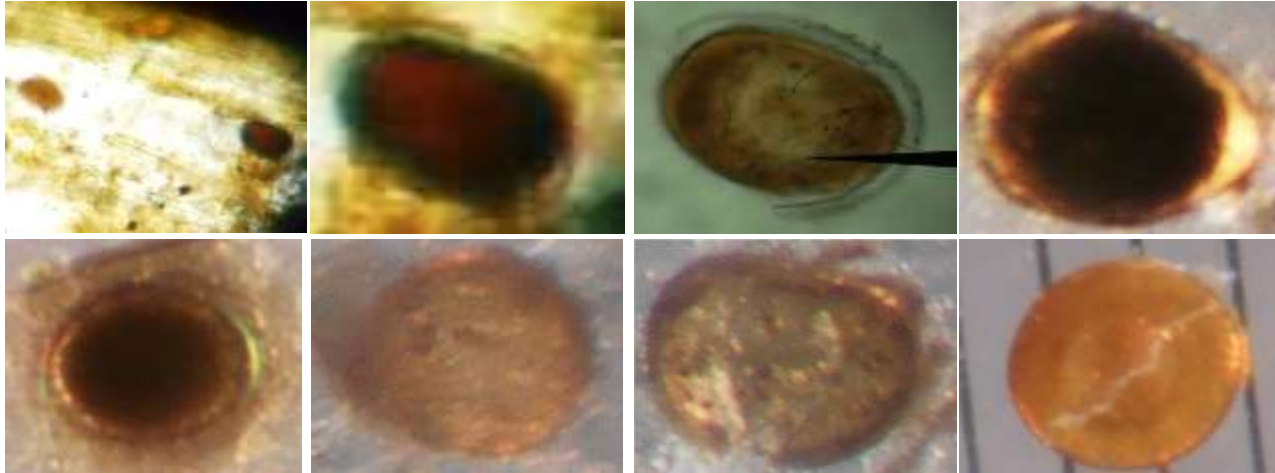


Figura 41. Metacercarias recuperadas de vegetación inundable de cuatro humedales de El Salvador. A. Muestra microscópica de filtrado de pasto. B-E. Metacercarias compatibles con *F. hepatica*, F y G. metacercarias compatibles con *Paramphistomum* sp. H. Quiste vacío medido a escala de 100 μ . **Fuente:** directa.

Tabla 3. Riqueza de especies vegetales de zona inundable portadoras de metacercarias en cuatro humedales de El Salvador.

Familia		Especie		Familia		Especie	
1	Asteraceae	1	<i>Artemisia</i> sp.	9	Passifloraceae	15	<i>Pasiflora</i> sp.
2	Boraginaceae	2	<i>Heliotropium</i> sp.	10	Phyllanthaceae	16	<i>Phyllanthus exiae</i>
		3	<i>Heliotropium indicum</i> L.	11	Poaceae	17	<i>Cynodon dactylon</i>
		4	<i>Cordia dentata</i>			18	<i>Cenchrus echinatus</i>
3	Commelinaceae	5	<i>Commelina</i> sp.			19	<i>Paspalum conjugatum</i>
		6	<i>commelina erecta</i>			20	<i>Ixophorus unisetus</i>
4	Convolvulaceae	7	<i>Ipomoea indica</i>	12	Pontederiaceae	21	<i>Eichornia crasipes</i>
5	Cucurbitaceae	8	<i>Luffa</i> sp.	13	Polygonaceae	22	<i>Polygonum punctatum</i>
		9	<i>Rytidostylis gracilis</i>	14	Rubiaceae	23	<i>Richardia</i> sp.
6	Cyperaceae	10	<i>Cyperus rotundus</i>	15	Solanaceae	24	<i>Solanum miryocarpa</i>
7	Euphorbiaceae	11	<i>Acalipha</i> sp.	16	<u>Targioniaceae</u>	25	<i>Targionia</i> sp.
8	Fabaceae	12	<i>Mimosa pigra</i>	17	Urticaceae	26	<i>Pilea</i> sp.
		13	<i>Piticebium dulce</i>	18	Verbenaceae	27	<i>Phyla nodiflora</i>
		14	<i>Mimosa</i> sp.				

4.5. CONDICIONES AMBIENTALES EN LOS SITIOS DE ESTUDIO.

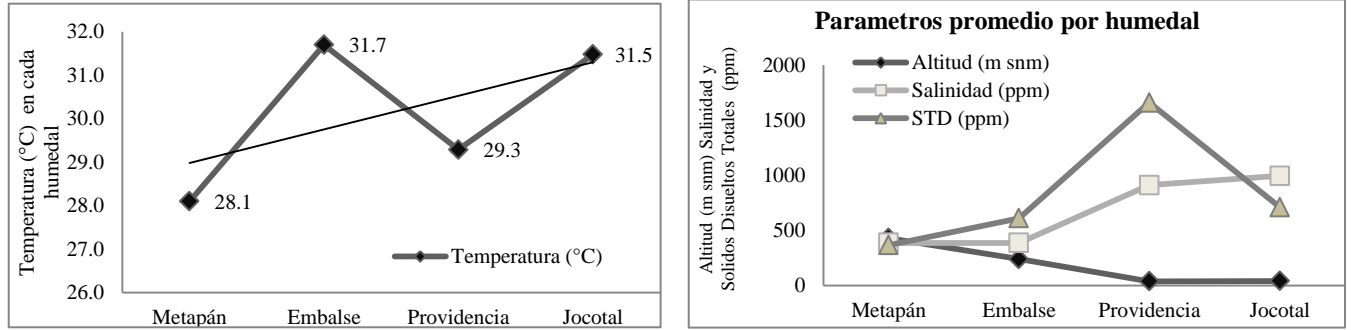


Figura 42. Promedio de parámetros ambientales en los humedales estudiados. A. Temperatura del agua, B. Altitud, salinidad y Total de Solidos Disueltos (TDS). **Fuente:** directa.

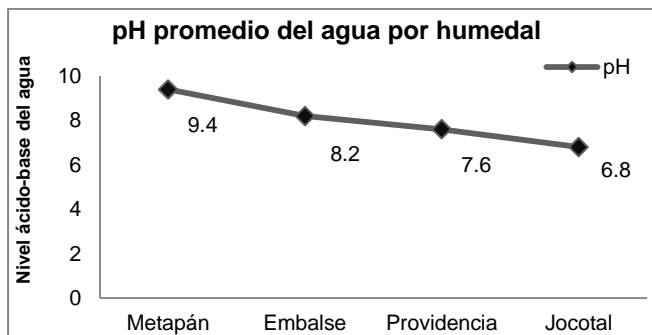


Figura 43. Niveles de pH de cada humedal. **Fuente:** directa.

Los factores ambientales medios por humedal observados, marcaron los ámbitos de Temperatura 28-32 °C, Salinidad 386.5-994 ppm, Solidos Totales Disueltos (STD) 366.5-1659 ppm, pH (6.8-9.4) y de altitud 38-430 m snm (fig. 42-43).

Los parámetros del agua Temperatura, Salinidad y SDT tendieron a crecer de noroeste a sureste, manifestando comportamiento inverso a la infestación de *F. hepatica*; mientras que la altitud del humedal y pH del agua (fig. 42-43), decrecieron con similar pendiente que la infestación de *F. hepatica*, sugiriendo cierta relación directamente proporcional.

5. DISCUSIÓN

El coprodiagnóstico de sedimentación confirmó la presencia de *Fasciola hepatica*, diferenciada entre 23 endoparásitos, de relevancia médica y veterinaria, mediante el hallazgo de huevos característicos de los parásitos zoonóticos *Paramphistomum* spp *Dicrocoelium dendriticum*, *Opisthorchis* sp., *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma japonicum*, *Schistosoma mekongi*, *Schistosoma* sp.), 10 Nematodos (*Nematodirus filicollis* (Trichostrongylidae), *Manmomonogamus laringeus* y Sp.1 (Syngamidae, zoonóticos). *Marshallagia marshalli*, Sp.2, *Oesophagostomum* sp., *Haemonchus* sp, *Strongyloides* sp, *Cooperia* spp. y los no zoonóticos: Sp.3 (Trichostrongylidae), dos Artrópodos probable *Psoroptes* spp. Y *Chorioptes bovis*, el coccidio *Eimeria bovis* y el ciliado *Buxtonella sulcata* (alta parasitación en los cuatro humedales) (fig. 29).

La mayoría de estos parásitos son primer reporte en el país, la ausencia de registros previos podría atribuirse a la baja sensibilidad de las técnicas diagnósticas utilizadas a nivel oficial; al respecto, Quiroz et al. (2011) y Soulby (1987) indican sedimentación para detectar trematodos y cestodos, cuya densidad precipita al descarte en las soluciones usadas para flotación; y afirman que el frotis directo falla en baja infestación. Dicho contraste ausencia/presencia coincidió con lo observado en León, Nicaragua, sitio declarado endémico en rastros por Gómez & Hernández (1993), confirmado hiperendémico por sedimentación (Rimbaud et al. 2007), mientras que Sequeira y Canales (2017) no registraron trematodos por la técnica de flotación.

La diferenciación diagnóstica de *F. hepatica*, aportó el hallazgo simultáneo del primer paramphistomido en el país, probable *Paramphistomum* spp., trematodo de importancia veterinaria mundial, coincidiendo con reportes veterinarios en Guatemala (Acevedo 1984, Mérida 2017, Duarte 1984, González 2012, Vivar 2015) y Nicaragua (Rodríguez y Salazar 2000, Soto et al. 2007 y Rimbaud et al. 2005). Paramphistomido confirmado zoonótico en Suramérica, tras el primer reporte humano en Venezuela (Longa et al. 2010) y casos posteriores en Laboratorio de enteroparásitos, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú (Beltrán 2018). Respecto a la coinfección de *F. hepatica* con *Paramphistomum* sp., observada en el 12 % (12/99 bovinos positivos), ambos con igual comportamiento estacional creciente hacia la época lluviosa, fue similar a la obtenida por Ojeda-Robertos et al. (2014).

La prevalencia general de *F. hepatica* de 13.93 % del total de bovinos en pie, superó al 10.16 %, (6/59) hígados decomisados por fasciolosis, correspondientes al 3.85 %, (6/156) bovinos inspeccionados en Rastro de San Salvador; prevalencia atribuida a bovinos importados (López y Rivas 2012). No obstante, boletos de destace y reportes de inspección postmortem de rastros locales, no registran procedencia bovina; sino del propietario proveedor directo al rastro (anexo 2).

Al respecto, las prevalencias en rastros generalmente son menores que las prevalencias en ganado en pie, ya que en rastros, la población bovina en sacrificio está compuesta por un alto porcentaje de machos sanos alimentados para engorda, menos expuestos a patógenos ambientales y el resto por vacas de descarte por

mastitis, edad (>8 años), fallas reproductivas, bajo peso y desnutrición (López y Rivas 2012). Esta diferencia de prevalencia fue observada en Chiquimula con 56.36% en ganado en pie (Monroy 2018) y 4.92 % en rastro (Rauda 2016). Respecto a la Fasciolosis humana en El Salvador, carece de reportes oficiales; sin embargo Camargo 2007 alude atención de casos humanos en el país, según Reyes (2011).

Referente a la distribución espacial parasitaria de *F. hepatica* en tres humedales, decreciente de noroeste a sureste de El Salvador, se alineó a la fasciolosis regional (OIRSA 2002). Al noroeste, el 15 % (3/20) en Laguna de Metapán y 16.7 % del Embalse (humedales vinculados con Guatemala y Honduras), se enmarcó a las prevalencia en pie (15.28 - 56.36 %) de Huehuetenango reportados por Lemus (2019), Monroy (2018) y 2-17.48 % en rastros de Chiquimula y Jutiapa (Estrada 2013 y Villatoro 2008). En Honduras no se encontró datos de prevalencia, pero figura como causa de decomiso visceral en rastro La Ceiba (Bueno et al. 2008) y entre parasitosis pediátricas más frecuentes de centroamérica (Fajardo & Castillo 1973, Quiroz et al 2011).

Ante la nula fasciolosis en Laguna Providencia Vivar (2015) y Mérida (2017), sugieren que la proximidad a la costa incrementa la salinidad, desfavoreciendo el desarrollo de Lymnaeidae. Sin embargo, en el presente estudio la presencia de *Radix balthica* (fig.32) y la mayor diversidad malacológica en Jocotal (próximo a la costa y levemente más salina que Providencia), muestra tolerable la salinidad de estos sitios, además presentó valores incluidos en la tolerancia referencial de estos organismos. Asimismo, Guatemala presenta mayores prevalencias en Peten y departamentos próximos al caribe (Rauda 2016, Campos 2014, Estrada 2013 y Villatoro 2008). Descartando la alta salinidad como factor excluyente de *F. hepatica* en Providencia.

La máxima prevalencia de *F. hepatica* con 9/46 bovinos observada en Laguna Jocotal, categorizada hiperendémica con infección grave (media 36 hpg), sobrepasó al 0.26 % y 20 % en rastro Nuevo Cárnic, procedentes de varios departamentos, incluidos León y Jinotega, Nicaragua (Andino y García 2018, Gómez y Hernández 1993), donde se enlista entre los principales patógenos bovinos (INTA/INATEC 2010, López-Sáez y Pérez-Soto 2010) y en *Odocoelius virginianus* del zoológico Nacional (Rimbaud et al. 2005).

Sobre la distribución temporal en el periodo estudiado, se registró mayor prevalencia y cargas parasitarias en los meses lluviosos en dos humedales (Metapán y Jocotal), difiriendo en el Embalse, donde las prevalecías y cargas parasitarias fueron máximas en marzo (época seca) y mínimas en agosto (época lluviosa). Contraste atribuible a incrementos bruscos de velocidad de corrientes en época lluviosa y las continuas turbulencias hidrodinámicas (llenado y vaciado) de la central hidroeléctrica (Torres-Bejarano et al 2016), al superar los 50 m/s provocan abrasión y arrastre de moluscos e invertebrados acuáticos (Reyes 2011), desfavoreciendo el desarrollo de moluscos consecuentes estadios endógenos y larvas exógenas de este tipo de trematodo.

En cuanto a la determinación del hospedero intermediario de *F. hepatica* reveló 20 especies de caracoles (tabla 2 y fig. 31) 16 dulceacuícolas; y 4 terrestres. Identificándose en Metapán tres especies de gastrópodos:

Acroloxus lacustris frecuente en dos muestreos con abundancia promedio de 21.5 individuos por muestreo; *Mariza cornuarietis*, biocontroladora de hospedero intermediario de parásitos tropicales según Ferrer et al. (1989), con 7 individuos, presente solo en marzo y *Pomacea flagellata* fue la más frecuente pero con baja abundancia (1.75 promedio por muestreo), que resultaron negativas como hospedero intermediario de *F. hepatica* en las tres pruebas: Inducción Lumínica, compresión del cuerpo blando e infección *In Vitro*, a pesar de encontrarse *F. hepatica* prevalente en este sitio. Resultados similares a Mérida (2017) en Guatemala, quien afirma que pese a no develarse el hospedero, la infestación bovina prueba su existencia en el sitio.

Las especies identificadas en el Embalse, fueron: *Acroloxus lacustris*, más abundante y frecuente, *Pomacea lineata*, igual frecuencia y baja abundancia, mientras que *Heliosoma* sp., poco abundante y presente en tres muestreos, fue positiva a compresión de cuerpo blando, mostrando la parte posterior de una redia compatible con *F. hepatica*, además fue susceptible a la infección *In Vitro*. Resultados semejantes a Tonn et al. (1964) en Costa Rica, mostrando cercarias gimnocéfalas en *Heliosoma*, *Stenophysa* y *Physa* definiendo a éstos géneros como vectores del parásito, en Cartago. Además, Abrous et al. (1998) infectó *In vitro* por primera vez a *Planorbis leucostoma*, siendo susceptibles los menores de 4 mm, preinfectados por *Pamramphystomum daubneyi*, así mismo Farag y Sayad (1995) con *Biomphalaria alexandrina*. Mostrando afinidad a varios géneros de la familia Planorbidae como hospedero facultativos en ausencia de Lymnaeidae.

En la Laguna Providencia (azolvada) se identificó dos especies: *Succinea* sp. con 3.5 individuos promedio por mes y *Depanotrema depressissimum* presente los cuatro meses, con 12.5 individuos promedio mensual, quien resulto negativo al *F. hepatica* (posible causa de la ausencia de *F. hepatica* en Providencia) y positivo al Paramphistomido. Coincidiendo con la infección natural y experimental de *Paramphistomum* sp. en *D. kermatoides* (Muller et al. 1992). Citado, entre vectores de marcado interés sanitario (Estévez et al. 2011).

La Laguna Jocotal presentó la mayor riqueza de Gastrópodos con 17 de las 20 especies identificadas: 14 dulceacuícolas y tres terrestres, siendo el único sitio donde se identificó *Radix balthica*, primer género de la Familia Lymnaeidae para El Salvador y el único que emitió cercaria compatible con *F. hepatica* por inducción lumínica. Resultados afines con Rondelaud et al. (2014) quienes demostraron a *R. balthica* como hospedero de *F. hepatica*, observando mayor prevalencia y producción de cercarias en caracoles juveniles.

Además, la compresión corpórea de *Biomphalaria havanensis*, reveló una redia de *F. hepatica* y *Gyraulus parvus* (Say, 1817), mostró 4 cercarias compatibles a *F. hepatica*, dos al paramphistomido y dos esporocisto. Géneros también positivos a infección *In Vitro* ante miracidios, develándose hospedero de ambos trematodos, pudiendo explicar la alta prevalencia y cargas parasitarias para este sitio, resultados similares a los reportados por Vásquez y Sánchez (2015), que consideran a *Biomphalaria havanensis* d'Orbigny 1835 y varias especies de este género como hospedero intermediario potencial de *Schistosoma mansoni* y otros

trematodos de importancia veterinaria. *F. hepatica* muestra una vez más, su capacidad de adaptación a un amplio espectro de hospederos (Correa et al., 2010); que explica su expansión mundial (WHO 2013).

En cuanto a la riqueza malacologica, la familia Planorbidae fue la más frecuente y abundante, seguida por Ampullariidae, mayormente representadas en tres de los cuatro humedales estudiados, Acroloxidae en dos humedales; Mientras que Lymnaeidae (una especie), Physidae (tres especies), Hydrobiidae, Thiaridae, Orthalicidae, Zonitidae y Subulinidae, solo constatados en Jocotal, mostrando menor adaptación ambiental. La conspicua riqueza malacologica en jocotal, evidencian condiciones mas favorables (SGCA et al. 2011).

Referente a la coexistencia de las familias presentes en Jocotal, la notoria dominancia de Planorbidae y Physidae, en contraste con la escasa representación de Lymnaeidae, Prepelitchi (2009), alude una posible competencia Lymnaeidae-Planorbidae y otros dulceacuícolas por alimentación y sustrato. Encontrado que donde hay planorbideos escasean o se ausentan los lymnaeidos y viceversa. Además de las ventajas adaptativas de Planorbidae, dado que según Hanson et al (2010) los Lymnaeidae y Physidae dependen en gran parte del aire superficial del agua y generalmente no pueden vivir a mucha profundidad. Mientras, los Planorbidae han evolucionado una branquia secundaria y además tienen hemoglobina, permitiéndoles vivir en aguas con poco oxígeno, expandiendo su espectro distribucional.

Respecto a las fases exógenas en agua encontradas por filtración, con frecuencia de dos cercarias en la Providencia, dos miracidios en Jocotal, 33 huevos promedio/mL y 28 metacercarias/mL en cada humedal. La prueba de filtración en agua fue poco sensible para detectar estadios exógenos (miracidio y cercaria), pero efectiva para determinar frecuencia y abundancia de huevos y metacercarias. Lo que se explica por la viabilidad del parásito, de 24 horas para el miracidio en agua, y la cercaria una hora antes del enquistamiento. Estos resultados fueron similares a Pérez-Cordón et al. (2008), quienes no encontrando fases exógenas en filtrado de agua; sino huevos. Contrario a la sensibilidad y especificidad del coprocultivo, que permite ver la evolución embrión-miracidio, hasta su eclosión, exhibiendo caracteres diferenciales: manchas oculares únicamente en miracidio de *F. hepatica* y en metacercaria de Paramphistomidos (Fiel et al. 2011).

En relación a la detección de metacercarias en pasto, la observación directa (OD), mostró una frecuencia promedio de 24.25 metacercarias por gramo en peso seco (mc/gpsv) para humedal, mientras la filtración selectiva fue superior con un promedio de 36.17 mc/gpsv, indicando mayor sensibilidad en la filtración. Evidencias similares, mostró (Pérez-Cordón et al. 2008, Devera et al. 2006 y Tananta et al 2014) detectando huevos en lechuga (*Lactuca sativa*), donde las metacercarias también mostraron sus caracteres diferenciales.

Al considerar las condiciones ambientales medias observadas en cada humedal: altitud, salinidad, Sólidos Totales Disueltos y pH (fig. 4.) describieron tendencia decreciente hacia el sureste en igual sentido que la parasitación de *F. hepatica* (con leve incremento en Jocotal), sugieren una relativa proporcionalidad, lo que

concuerta con Vázquez y Gutiérrez (2007) quienes encontraron influencia de factores abióticos de salinidad y acidez-alcalinidad y otros, sobre la abundancia poblacional de hospederos intermediarios determinando su desarrollo en los sitios. En cuanto a los sólidos disueltos Roldan (1992) afirma que a más sólidos disueltos, mayor la salinidad causando graves problemas de osmo-regulación en gran parte de los organismos acuáticos, de forma que a mayor concentración de sales, decrece la diversidad de organismos.

Por su parte, las fluctuaciones de temperatura aumentaron en dirección contraria a la parasitación de *F. hepatica*, sugiriendo cierta relación inversa; sin embargo, al examinar el contraste entre la máxima parasitación en Jocotal donde la temperatura superó en 1.5 °C la tolerancia de sus larvas exógenas y hospederos intermediarios sugerida por Reyes (2011); versus la mínima parasitación en el Embalse que la supera en 1.7 °C, con tan solo en 0.02 °C más que Jocotal. Esta discordancia podría atribuirse a un probable punto crítico de tolerancia térmica (a un máximo de 31.5 °C) que limita la presencia de hospederos en el embalse, pues reduce la riqueza de Planorbidae, Ampularidae y otros hospederos alternativos según (Darrigran y Lagreca 2005) y concordando con Roldan (2003) que en zonas tropicales un leve cambio en las constantes temperatura anuales, puede ser fatal para la supervivencia de los organismo acuáticos; agravándose en el Embalse, por las fluctuantes velocidades de corrientes y turbulencias hidrodinámicas aludidas por Torres-Bejarano et al (2016) y Reyes (2011).

Además, Roldan y Ramírez (2008) relacionan la temperatura con la elevación, la cobertura vegetal y la profundidad del sistema de los puntos de medición, lo que explica esta situación, ya que el Embalse a pesar de ser más elevado, con profundidad promedio de 2 m, presento mayor temperatura; pero la cobertura vegetal según (Martínez-Rodríguez 2019), fue menos diversa compuesta mayormente por gramíneas en contraste con la cobertura vegetal diversa en Jocotal mayoritariamente arbustiva, con temperatura levemente menor y con mayor profundidad promedio (3-3.5 m), presentando esta mayor riqueza y abundancia malacologica y parasitaria. Es necesario además considerar otros factores de calidad de agua como calcio y oxígeno que según SGCA et al. (2011) y Vázquez et al. (2009) también podrían estar restringiendo la presencia Lymnaeidae y otros hospederos alternativos.

En cuanto a los valores promedios de estos factores ambientales y fisicoquímicas: altitud, salinidad y TDS y niveles de pH y temperatura del agua observados en cuatro humedales de El Salvador, se encontraron concordantes y enmarcados entre los rangos requeridos o en su defecto, tolerados por fases exógenas de trematodos y sus hospederos intermediarios (pH 5-9, 10-30 oC, velocidades menores de 50 m/s, salinidad de 0.5 y 3 g/L, humedad media de 80 % y áreas húmedas como canales) sugeridas por varios autores (Quiroz et al. 2011, Hanson et al 2010, Quiroz y Figueroa 2010, Cordero et al 2007, Pardo 2005, Darrigran y Lagreca 2005, Gainey & Greenberg 1977 y Boltovskoy & Lena, 1974), excepto la temperatura que se excedió en y 1.5 °C en Jocotal y 1.7 en Embalse, además de sus fluctuantes velocidades de corrientes. Por su parte, la

laguna Providencia (azolvada), presentó condiciones ambientales congruentes con las toleradas por *F. hepatica* y trematodos; pero carente de su hospedero específico o alternativo. Debe también considerarse que otros factores de calidad de agua como calcio y oxígeno podrían estar restringiendo la presencia parasitaria y sus hospederos (SGCA et al. 2011).

Referente al ingreso temporal o espacial de las trematodosis encontradas, podría estudiarse tras la revisión cronológica y geográfica de investigaciones respectivas en países de la región mesoamericana y las normas oficiales exigidas para el ingreso de bovinos en pie, considerando como punto de partida el posible ingreso al continente mediante la importación ganadera durante la colonización española (Mas-Coma *et al.* 2009). Entre tanto a partir de la transversalidad de este estudio no podría precisarse, ya que solo se partió de una mención (fortuita) de *F. hepatica*, y no se pudo acceder a registros oficiales de años anteriores ni posteriores a los referidos en ese estudio (López y Rivas 2012). Dado que funcionarios oficiales vigentes al periodo del presente estudio, refirieron descarte periódico de datos de inspección en rastros locales. Datos epidemiológicos requeridos para estudio lineal (retrospección y prospección) en el país.

6. CONCLUSIONES

La presencia de *Fasciola hepatica* se identificó entre 23 endoparásitos de bovinos, con prevalencias mayores al 10 % clasificando hiperendémica, con infección moderada (++) en tres de los cuatro humedales estudiados.

- *Fasciola hepatica* se encontró distribuida en tres de los cuatro humedales, con tendencia decreciente de noroeste a sureste de El Salvador; ausente en Laguna Providencia, probablemente por carecer de su hospedero intermediario en el sitio.
- Se reporta por primera vez el Paramphistomidae, posible *Paramphistomum* sp. con prevalencia hiperendémica en infección moderada-grave en los cuatro humedales (confirmado por Necropsia en Providencia).
- Se agrega el hallazgo de huevos típicos de parásitos zoonóticos (*Dicrocoelium dendriticum*, *Opisthorchis* sp., *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma japonicum*, *Schistosoma mekongi*, *Schistosoma* sp.), 10 Nematodos (*Nematodirus filicollis* (Trichostrongylidae), *Manmomonogamus laringeus* y Sp.1 (Syngamidae, zoonóticos)). *Marshallagia marshalli*, Sp.2, *Oesophagostomum* sp., *Haemonchus* sp., *Strongyloides* sp, *Cooperia* sp. y los no zoonóticos: Sp.3 (Trichostrongylidae), dos Artropodos, un coccidio *Eimeria bovis* y el *Buxtonella sulcata* (Ciliophora de alta parasitación en los cuatro humedales).
- Las condiciones ambientales altitud, salinidad y TDS, niveles de pH (6.8-9.4) y temperatura del agua observadas en cuatro humedales de El Salvador, se enmarcan en las requeridas o en su defecto toleradas por fases exógenas de trematodos y sus hospederos intermediarios.

Se identificó 20 especies de caracoles, pertenecientes a 11 familias, siete del suborden Basomatophora y cuatro Eupulmonata, determinándose cinco especies hospederas intermediarias de trematodos: *Radix balthica* (en Jocotal, 1° registro de lymnaeido en el país,), *Helisoma* sp. (Embalse y Jocotal), *Biomphalaria havanensis*, *Gyraulus parvus* (Jocotal) y *Depanotrema depressissimum* (Providencia).

3. Las fases exógenas en agua mostraron dos cercarias en Providencia, dos miracidios en Jocotal; 33 huevos/mL de agua y 28 metacercarias promedio/mL de agua por humedal. El coprocultivo mostro 278 miracidios de ambos trematodos.

4. La fase exógena (metacercaria) en pasto, evidenció 24.25 metacercarias/gpsv por observación directa y 36.17 mc/gpsv por FELV mostrando mayor sensibilidad.

7. RECOMENDACIONES

Para estudios de coprodiagnóstico, las pruebas de concentración por sedimentación, siguen siendo una de las más sensibles y específicas en etapa prepatente para éste tipos de parásitos.

En los puntos oficiales de inspección de ingreso de ganado al país, se sugiere implementarse pruebas diagnósticas que determinen el estatus parasitario, particularmente para *F. hepatica*.

Realizar estudios de tipo inferencial de la presencia y comportamiento trematodológica, mediante la caracterización de los sitios endémicos de las parasitosis, para determinar causas y consecuencias ambientales que promuevan o delimiten la propagación del parásito; tales como el estudio de parámetros fisicoquímicos asociados a los hábitats de los hospederos intermediarios y fases exógenas

Realizar un estudio a nivel de rastro con animales procedentes de los humedales con mayor presencia parasitaria (según coprodiagnóstico) para determinar prevalencia de parásitos adultos.

Hacer estudio identificación molecular en *Buxtonella sulcata* y/o un estudio diferencial *Balantidium coli* (zoonótico)/*Buxtonella sulcata*.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Abrous, M., D. Rondelaud, & G. Dreyfuss, 2000. Influence of low temperatures on the cercarial shedding of *Paramphistomum daubneyi* from the snail *Lymnaea truncatula* parasite; Journ. Helminthology. 6:85-88.
- Abrous, M., D. Rondelaud, G. Dreyfusst, & J. Cabaret. 1998. Unusual Transmission of the Liver Fluke, *Fasciola hepatica*, by *Lymnaea glabra* or *Planorbis leucostoma* in France. American Society of Parasitologists J. Parasitol., 84(6), 1257-1259.
- Acevedo, R.M. 1984. Prevalencia inicial de *Paramphistomum cervi* en bovinos, en el departamento de Izabal, Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 32p.
- Acha, P. & B. Szyres 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales 3ª Edición. Washington: OPS. 413p.
- Aguilar, F. 1997. Parasitología Médica. Guatemala. GT. USAC. 182-189.
- Aguilera, R.V. 1992. Conceptos sobre parásitos. En Principios de helmintología veterinaria: rumiantes y cerdos. Centro de Investigación Pacífico Centro Campo Experimental Forestal y Agropecuario- Morelia, Morelia, Mich.:3-5.
- Aguirre, D.F. 2009. Parásitos branquiales de cuatro grupos genéticos de Tilapias cultivadas en la zona centro-norte del estado de Veracruz. Instituto de ecología A.C. tesis de MsC., Veracruz México. 88p.
- Aguirre, D.H., A.E. Viñaval & A.B. Gaido. 1998. Comparación de tres técnicas coprológicas para el diagnóstico de *Fasciola hepática* en rumiantes. Vet. Arg. Argentina. 15 (146): 421-427.
- AMSS, 2013. Resumen anual de decomisos de hígado bovino por diferentes enfermedades 2011. Departamento de Tiangué, Inspección y Técnicas de Inspección Sanitarias de Carne en Rastro de San Salvador.
- Anderson, R., (2016). *Radix auricularia* (Linnaeus 1758). [In] Mollusc Ireland.
- Alatoom, M., C. Dominick, S. Paul & R. Gander. 2008. *Fasciola hepatica* Infection in the United States, Lab. Medic. 39(7): 425-428.
- Alarcon, E. y L. Velasquez. 2009. Descripción morfológica de *Cotylophoron cotylophorum* (Digenea: Paramphistomidae) hallado en bovinos de Rio Negro, Antioquia, Colombia. Revista.
- Alevs, P.V., F.M. Vieira, CP. Santos, T. Scholz, JL. Luque. 2015. "Una lista de verificación de la Aspidogastrea (Platyhelminthes: Trematoda) del mundo". Zootaxa. 3918 (3).
- Alpizar, C., J. Bianque, A. Jimenez, J. Hernández, A. Berrocal, J. Romero. 2013. *Fasciola hepatica* en ganado bovino de carne en Siquirres y lesiones anatomopatológicas de hígados bovinos decomisados en mataderos de Costa Rica. Agronomía Costarricense. 37(2): 7-16.
- Arias, M., D. Dapena, M. Lema & M. Noya. 1986. Fascioliasis ectópica múltiple: descripción de un caso con afección pulmonar, meningoencefálica y orbitaria. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 4: 250-251.
- Arjona, R., J. Riancho, J. Aguado, R. Salesa, J. Gonzalez-Macias. 1995. Fascioliasis in Developer contraes: a eview of classic and aberrant forms of the disease. Medicine (Baltimore); 74(1): 13-23.
- Arroyo, R., R. Brenes & R. García 1986. Fasciolosis hepática humana en el Periodo de Estado. (Presentación de dos casos). VIII Congreso centroamericano de microbiología y Congreso nacional de microbiología Parasitología y Patología Clínica, San José, Costa Rica. Rev. Cost. Cienc. Méd. 7(2): 129-132.
- Barbosa, F.S. 1995. Tópicos en malacología médica. FIOCRUZ. Brasil. 314p.

- Barraza, J.E. 2006. Inventario de moluscos (mollusca): Identificación de Moluscos Comestibles de El Salvador. Gerencia de Vida Silvestre, Dirección General de Patrimonio Natural, Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales (MARN).
- Beltrán F.M. 2018. Avances y Logros en Salud Pública de los Laboratorios de Parasitología CNSP Instituto Nacional de Salud. Laboratorio de Referencia Nacional de VIH/SIDA, Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud. Bol Inst Nac Salud. Peru; 24(1-2):9-22.
- Beltrán, M., M. Tantaleán, H. Meza & M. Lozano. 2004. Fasciolosis Errática. Reporte de Caso. Rev. Perú Med. Exp. Salud Pública. 21(4): 276-279.
- Black, N.M. & G. Froyd. (1972). The possible influence of liver fluke infestation on milk quality. Veterinary Record. 90: 71-72.
- Brenes, R.R., G. Arroyo, G. Muñoz & E. Delgado. 1968: Estudio preliminar sobre *Fasciola hepática* en Costa Rica. Rev. Bio. Trop. 15(1): 137-142.
- Bocha, J.S. 1982. Parasitología en medicina veterinaria. Editorial Hemisferio Sur. México.: 483-514.
- Boray, J.C. 1959. Studies on intestinal amphistomosis in cattle. Australian Veterinary Journal, 35: 282-287.
- Boray, J.C. 1969. Experimental fascioliasis in Australia. Adv. Parasitol. 7: 95–210.
- Borda, C.E., F.M. Rea, A.L. Mosqueda & O. Benitez. 2006. Hospederos intermediarios y definitivos de *Schistosoma mansoni* en la provincia de Corrientes, Argentina. Centro Nacional de Parasitología y Enfermedades Tropicales (CENPETROP). Facultad de Medicina, Universidad Nacional del Nordeste. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Corrientes, Argentina. Resumen: M-127:3p.
- Bowman, D. 2011. Georgis Parasitología para veterinarios. Novena edición en español. Elsevier. España. 464p.
- Bueno, A.M. 2008. Evaluación de las pérdidas económicas causadas por el decomiso de vísceras y carcasas en bovinos y porcinos, en la procesadora municipal de carnes en La Ceiba, Atlántida, honduras. T.G. Méd. Vet., Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de San Carlos Guatemala. 102p.
- Bundy, D.A., P.V. Arámbulo, & C.L. Grey. 1984. La fasciolosis en Jamaica: aspectos epidemiológicos y económicos de una zoonosis parasitaria transmitida por caracoles. Bol. Of Sanit. Panam. 96(1):1-19.
- Burch, J.B. & A. Cruz-Reyes. 1987. Clave genérica para la identificación de Gasterópodos de Agua Dulce en México. 1ª Edición. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). México. 48p.
- Caicedo, R.E., J.D. T. Tlamani, C.M. Paz & Nieto 2011. Zoogeografía de los moluscos de importancia veterinaria en el estado de Puebla y su efecto en la salud humana y animal. Actas Iberoamericanas de Conservación Animal AICA 1 (2011): 359-363.
- Calderón JL. 2015. Determinación de la prevalencia de *Fasciola hepatica* en ovinos de la aldea Santa Apolonia, Tecpán, Chimaltenango. Universidad de San Carlos Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Escuela de Medicina Veterinaria. Tesis Médico Veterinario.
- Carrada-Bravo, T. 2007. *Fasciola hepatica*: Ciclo biológico y potencial biótico. medigraphic Artemisa. Rev Mex Patol Clin, 54(1): 21-27.
- Castellanos, J.R. 2012. Préstamo para Manejo de Riesgos de Desastres Experiencia de El Salvador. Ministerio de Hacienda. Secretaria de Estado. Directora General de Inversión y Crédito Público. Panamá. 23p.

- Castillo, M. 1982. Epidemiología de *Fasciolosis hepatica* en ovinos y estudio sobre el hábitat de su hospedero intermediario, en Nahualá, Sololá. Trabajo de Graduación para optar al grado de Lic. Med. Vet. Guatemala, GT, USAC/FMVZ. 50p.
- CEL/HARZA (Comisión Ejecutiva Hidroeléctrica del Rio Lempa). 1999. Estudio global de la sedimentación en la cuenca del río Lempa. Informe Principal. 69 p.
- Cesar, S. & S. Sezar 1980. Biología 3: genética, evolução, ecología, embriología. Atual Editora. Capítulo VII: 222-228.
- César S. & S. Sezar 1980. Níveis de Organização. Atual Editora – Biología. 1 (I): 1-4.
- Chavarría, R.A. 1939. Parásitos de nuestro ganado de destace. Rev. Agr. Ceno Na. Agr. IV 7, 8, 9:261-291.
- Chávez, A.V., R.L. Sánchez, C.D. Arana, & A.F. Suárez. 2012. Resistencia a dos antihelmínticos usados en ganado lechero en Jauja. Rev Inv. Vet. Perú; 23(1): 90-97.
- Chávez, Pérez, A.V., S.J. Rivas & S.R. Solís. 1998. Niveles de Desarrollo Turísticos en relación con el patrimonio Natural y Cultural en las Áreas Poblacionales del Lago Suchitlán. Universidad Politécnica de El salvador UPES. Facultad de Ingeniería y Arquitectura. Escuela de Arquitectura. El Salvador.204p.
- Cheng, C.T. 2012. General Parasitology. 2nd Edition, Elsevier Editor. USA. 827pp.
- Chen, M.G., K.E. Mott. 1990. Progress in assessment of morbidity due to *Fasciola hepatica* infection: a review of recent literature. Trop. Dis. Bull. 87, R1–R38.
- Cordero del Campillo, M., F.A. Martínez, A.C. Sánchez, S.R. Hernández, I.L. Navarrete, P. Diez Baños, H. Quiros. & M. Carvalho. 2007. Parasitología General. 2^a Edición, McGraw Hill Interamericana. España. 178p.
- Correa, AC, J.S. Escobar, P. Durand, P. David, P. Jarne J.P., Pointier, S. Hurtrez-Boussès. 2010. Bridging gaps in the molecular phylogeny of the Lymnaeidae (Gastropoda: Pulmonata), vectors of Fascioliasis. Evolutionary Biology. 10: 381
- Costamagna, SR, E. Visciarelli, L.D. Lucchi & J.A. Basualdo. 2005. Parásitos en aguas del arroyo Naposta, aguas de recreación y de consumo en la ciudad de Bahia Blanca (Provincia de Buenos Aires, Argentina). Argentina. Parasitol Latinoamerica 60: 122 – 126.
- Contruvo, J.A., A. Dufour, G. Rees, J. Bartram, R. Carr, D.O. Cliver, G.F. Craun, R. Fayer & V.P. Gannon, 2004. Waterborne Zoonoses: Identification, Causes, and Control. First published. © World Health Organization (WHO). 524p.
- Craun, D.O., G.F. Fayer, & V.P. Gannon. 2004. Waterborne zoonoses, identification, causes and control. (Eds) World Health Organization. London, IWA Publishing, Alliance House. 305-322.
- Dalton JP. 1999- Fasciolosis. CAB International Publishing, Oxon, UK.
- Daniel, W.M. 1996. Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud. 5ta ed. México: Ed. Limusa. 878p.
- Daniel, W.W. 1990. Applied nonparametric statistics. Boston, PWS-Kent, pp 635.
- Darrigran G. y Lagreca M. 2005. Moluscos litorales del estuario del Rio de la Plata – Argentina. ASPA C.S.A. ProBiota (Programa para el estudio y Uso Sustentable de la Biota Austral).Serie Tecnica Didactica, Guia Tecnica N° 8, Version electrónica. 1515-9329. Division Soologica Vertebrados, Museo de La Plata. Physis, 20(59):401-408

- Dennis W, W. Stone, L.A. 1954. Swanson. New laboratory and field diagnostic test for fluke ova in feces. Florida Agricultural Experiment Station Journal Series; 172: 47-50.
- Del Risco U. y L. Diéguez 2004. Presencia y distribución de hospederos intermediarios de *Angiostrongylus cantonensis* en camaguey. Prevalencia e importancia epidemiológica para su control Moluscos de relevancia médico-veterinaria. Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología de Camaguey. Revista Archivo Médico de Camaguey. ene.-feb. AMC vol.8 no.1.
- Devera R, Y. Blanco, H. González, L. García. Parásitos intestinales en lechugas comercializadas en mercados populares y supermercados de Ciudad Bolívar, Estado Bolívar, Venezuela. Rev Soc Ven Microbiol. 2006; 26(2): 100-7.
- Díaz, R., J. Blanca, A. Gilberto & R. Durán 2007, Diseño ambiental paisajista de la Laguna El Jocotal, Trabajo de grado, Facultad de Arquitectura, Universidad Albert Einstein, La Libertad El Salvador C.A.
- Díez-Baños, P. 2011. *Fasciola* y fasciolosis: un problema antiguo con nuevas soluciones impulsadas por la relación pluridisciplinar de la parasitología con otras ciencias. Academia de Farmacia de Galicia, Santiago de Compostela España. 214p.
- Dreyfuss, G., A. Moukrim, D. Rondelaud, C. Vareille-Morel. 1994. Field observations concerning infection of *Lymnaea palustris* by *Fasciola hepatica*. J. Helminthol. 68, 115–118.
- Dreyfuss, G., P. Vignoles, M. Arous, D. Rondelaud, 2002. Unusual snail species involved in the transmission of *Fasciola hepatica* in watercress beds in central France. Parasite 9:113–120.
- Duarte, S.A. 1984. Duarte Osorio, S.A 1984. Prevalencia de *Fasciola hepatica* y *Paramphistomum cervi* en bovinos, en el municipio de Chiquimula, Chiquimula, Guatemala - Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Tesis. 57p.
- Erk, N. 1976. A study of Kitab al Hail wal Baitara, written in the second half of the 9th century by Muhammed Ibn ahi Hizam. Historia medicinae veterinariae: (4) 101-104.
- ESCET (Escuela, Superior de Ciencias Experimentales y Tecnología). 2007. Química y Análisis de Alimentos, Universidad Rey Juan Carlos. Curso 06/07:168-1.
- Escobar, L.J. 1974. Prevalencia de *Fasciola hepatica* en bovinos y ovinos en el departamento de Chimaltenango. Lic. Med. Vet. Guatemala, GT USAC/FMVZ. 33p.
- Escudero, V., G. Chiu, A. Lara. 2013. Prevalencia de la *Fasciola hepática* en hatos lecheros en nuevo tonosí provincia de colon, panamá. 133p. En Memoria 58 Reunión Anual PCCMCA (Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos y Animales). Honduras. 21 1p.
- Escudero V., G. Chiu, & A. Lara. 2013. Prevalencia de la *Fasciola hepatica* en hatos lecheros en nuevo Tonosí, provincia de Colón, Panamá. 58 Reunión Anual del PCCMCA, La Ceiba, Atlántida, Honduras. 22-26.
- Esteban, J.G., M.D. Bragues, S. Mas-Coma. 1998. Geographical distribution, diagnosis, and treatment of human fasciolosis: A review. Parasit. 58:13–48.
- Estévez, E.N., M.E. García, F.L. Diéguez. 2011. Implementación de estrategias sostenibles en control de vectores de la Universidad Médica de Camaguey. Revista Archivo Medico de Camaway. AMC. ene.-feb. v.15 n.1.
- Estrada A.O. 2013. Análisis del Sistema de Vigilancia – Decomisos de Fascioliasis y Cisticercosis en Mataderos Certificado de Bovinos – Sistema Oficial de Inspección de Carnes (SOIC), Guatemala, 2012–2013. FETP, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA). Universidad del Valle de Guatemala Facultad de Ciencias y Humanidades.

- Eycleshymer, A.C. & D.M. Schoemaker. 1917. Anatomical names especially the Basle N6mina Anatómica (“BNA”). William Wood & Co., Nueva York, 776 p.
- Facey, R.V. & P.D. Marsden, 1960. Fascioliasis in man: an outbreak in Hampshire. Brit. Med. J.2, 619–625. D. Fajardo & R.G. Valenzuela 1973. Honduras Pediátrica, publicación de la Asociación Pediátrica Hondureña. Patronato Nacional de la Infancia. Tegucigalpa. Honduras. 1973. 4(6): 35p.
- Fajardo, C.D. & M.D. Castillo 1973. Tratamiento de las parasitosis intestinales más frecuentes en Honduras. In Puerto Homo. Asociación Pediátrica Tegucigalpa Honduras. Enero-abril Vol. 4. No 5.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 1996. Taller Regional Epidemiología. Diagn6stico y Control de Infecciones por Helmintos en Ganado. Mexico: 43-48.
- FAO/Roma. 2010. Censo Mundial del Agropecuario. Concepto adaptado al pa6s. IBID. Roma. 2:1-3., 21-23 y 84.
- FAO. 2010. La situaci6n de los recursos zoogen6ticos mundiales para la alimentaci6n y la agricultura. Comisi6n de Recursos Gen6ticos para la Alimentaci6n y la Agricultura. Organizaci6n de las Naciones Unidas para la Agricultura y La Alimentaci6n. Roma. 555p.
- Farag, H.F., & E.I. Sayad. 1995. *Biomphalaria alexandrina* naturally infected with *Fasciola gigantica* in Egypt. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 89-36.
- Fernández, C.R. & S.F. Moreno 2000. Absceso hepático por *Fasciola*. Caso cl6nico. Enf. Infec. y Microbiol. Mexico. 20(2):56-60.
- Ferrer J.R., G. Perera, M.C. Yong. O. Amador. 1988. Comparaci6n del crecimiento de *Fossaria cubensis* y *Pseudosuccinea columella* (mollusca: pulmonata: lymnaeidae), hospederos intermediarios de *Fasciola hepatica* en cuba. Revista cubana de medicina tropical. 40(3): 29-35.
- Ferrer J.R., R. Sánchez, O. Amador. 1986. Comportamiento del largo y del peso de *Marisa cornuarietis* (Mollusca: Prosobranchia). Rev Cubana Med Trop 38 (1): 27-31.
- Fiel, C.A., & P. Ferreyra 1998. Manual para el diagn6stico de nematodos en bovinos: técnicas de frecuente utilizaci6n en la práctica veterinaria: su interpretaci6n. D. Edici6n auspiciada por la Divisi6n de Sanidad Animal de Bayer Argentina S.A.:1-61.
- Fiel, C.A. 2005. Manual Técnico: antiparasitarios internos y endectocidas de bovinos y ovinos. Extractado de: Manual Técnico de Biogénesis, Bs.As. *Prof. Titular rea de Parasitología, Fac. Cs. Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires UNICEN-Tandil. Argentina. 17p.
- Fiel, C.A., P.E. Steffan y D.A. Ferreira. 2011. Diagn6stico de las parasitosis más frecuentes de los rumiantes. Técnicas de laboratorio e interpretaci6n de resultados. 1a Edici6n, Tandil: Abad Benjamín. Argentina. 131p.
- Fleiss, J.L. 1981. Statistical Methods for Rates and Proportions. New York. John Wiley. Sons. 255p.
- FUNDALEMPA/ADEL/PROCHALETE-UES. 1998. Diagn6stico y Propuesta de Plan de Manejo Ambiental departamental de Chalatenango. Informe de avance. 12 pp.
- FUNDALEMPA-CEL-CENDEPESCA 2004. Proyecto de Monitoreo de la Calidad de Agua en el Embalse del Cerr6n Grande. Apoyo a la gesti6n ambiental participativa en tres microrregiones ribereñas a los Embalses Cerr6n Grande y el Guayabo. 33 pp.
- Gallego, B.J. 2007. Manual de parasitología. Morfología y biología de los parásitos de interés sanitario. Ediciones de la Universidad de Barcelona. España. 516 p.

- García-Más, I., A.B. Muñoz, A.I. Amaya, R.I. Polo, M.A. García & R.P. Refoyo. 2008. Introducción a los Helmintos. Trematodos. Manual de laboratorio de Parasitología. Reduca (Biología). Madrid, España Serie Parasitología. 1(1): 67-93.
- García, A.M., M.J. Marugán, B.M. Ordóñez, S.N. Costilla & B. Díez. 1999. Fascioliasis hepática: Un nuevo caso en la infancia. Nota clínica. España. An. Esp. Pediatra. 51(1):65-67.
- Girod, A., Bianchi, I. & Mariani, M., 1980. *Gasteropodi*, (Gasteropoda: Pulmonata Prosobranchia: Neritidae, Viviparidae, Bithynidae, Valvatidae). Guide per il conocimiento delle specie animali delle acque interne italiane, 7: 1-86.
- Gómez, C.D. & A.M. Hernández 1993. Incidencia de *Fasciola hepatica* en Bovinos Sacrificados en la empresa Nuevo Carnic de Nicaragua. Tesis de Ing. Agro. Universidad Nacional Agraria (UNA.). Nicaragua. 38p.
- Gonzales, T.M., L.M. Pérez, H.H. Guerra, S.R. Solano, M.M. & Casanova. 2011. Fasciolosis: Presentación de dos casos. Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Pinar del Rio. Rev. Ciencias Médicas. 15(2):311-319.
- Gonzales PM. 2012. Determinación de la prevalencia de *Fasciola hepatica* en caprinos, a través del método AMS III, en el Municipio de Chimaltenango, del Departamento de Chimaltenango, Guatemala, año 2011. Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Escuela de Medicina Veterinaria. TG- USAC. 43p
- Gulsen, M.T., M.C. Savas & M. Koruk. 2006. Fasciolosis: A report of five cases presenting with common bile duct obstruction. Neth J Med. 64:17-19.
- Gutiérrez, G.D., & V. Núñez. 2010. Populational studies in a endemic gastropod species of waterfalls environment. American Malacological Bulletin, 28: 159-165.
- Gutiérrez, G.D. & V. Núñez. 2010. Método de colección de moluscos: Gasterópodos Continentales. División Zoología Invertebrados, Museo de La Plata, FCN y M-UNLP. Argentina Serie Didáctica 1:9.
- Hamed, N., H. Hammami, S. Khaled, D. Rondelaud, & A. Ayadi. 2009. Natural infection of *Fasciola hepatica* (Trematoda: Fasciolidae) in *Bulinus truncatus* (Gastropoda: Planorbidae) in northern Tunisia. Journal of Helminthology, 83(3), pp. 271-273.
- Hanson, P.; Springer, M.; Ramirez, A. 2010. Introducción a los grupos de macroinvertebrados acuáticos. Capítulo 1. Revista de Biología Tropical, vol. 58, núm. 4, diciembre, pp. 3-37.
- Happich, F.A. & J.C. Boray. 1969. Quantitative diagnosis of chronic fascioliasis. Comparative studies on quantitative faecal examinations for chronic *Fasciola hepática* infection in sheep. Aust. Vet. J. 1(45): 326-328.
- Heide, M. 2009. Das Buch Der Hippieatrie - Kitab Al-Baytara: Von Muhammad Ibn Yaqub Ibn Al-Ahi Hizam Huttali (Veröffentlichungen der Kommission Orientalischen (Vok) der A) (árabe Edition). Edición bilingüe. Harrassowitz Editorial. 780p.
- Heneberg, P. 2013. Phylogenetic data suggest the reclassification of *Fasciola jacksoni* (Digenea: Fasciolidae) as *Fascioloides jacksoni* comb. nov. Parasitol Res. 112(4):1679-89.
- Hernández, A.V. 2013. Fascioliasis humana y animal en Africa, con énfasis en Egipto. Tesis doctoral. Departamento de Biología Celular y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de València. España. 290p.

- Hernández, M.A. 1992. Inventario Preliminar de Moluscos Marinos de El Salvador. Secretaría Ejecutiva del Medio Ambiente. 164 pp.
- Hernández, M.C., S. I. Navarrete, P. Diez & H. Quiroz. 1999. Parasitología Veterinaria. Primera Edición. McGraw-Hill-Interamericana de España. España, 990p.
- Hernández S.R. Fernández C.C. & Baptista L.P. 2014. Metodología de la investigación, 6a. ed. McGraw-Hill editor, México. 634pp.
- Hiete, M., J. Ludwig, C. Bidart & F. Schultmann. 2010. Challenges for Sustainable Biomass Utilisation: Proceedings of the Chilean-German Biociclo Workshop (Karlsruhe, 26.03.2009). Eds. Karlsruher Institut für Technologie (KIT). Scientific Publishing, Germany. 134p.
- Hickman R., k. Larson, l´A. Eisenhour 2009. Principios integrales de Zoología. 14ª edición. Graw Hill. España. 936p.
- Hillyer, G.V. 1999. Immunodiagnosis of human and animal fasciolosis. En Dalton JP. Fasciolosis. Wallingford, Oxon, UK: CABI Pub. 435-47.
- Holdridge. 1975. Mapa Ecológico de EL Salvador. Memoria explicativa. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Documento de trabajo No. 6, FAO. San Salvador. 98 p.
- Hopkins D.R. 1992. Homing in on helminths. Am J Trop Med Hyg. 46:626-634.
- Houin R.,C. Moquet, C.C. Zeher & J.P. Vallois. 2004. Myocastor coypus, an imported rodent, changes the fundamentals of transmission of *Fasciola hepatica*. In: Mas-Coma S, et al., Editors. Multidisciplinary for parasites, vectors and parasitic diseases. Valencia: J. Aguilar S.L.: 265-266.
- Horak, I.G. 1971. Paramphistomiasis of domestic ruminants. En “Advances in Parasitology” Press. London. Dispersion parasitaria. 9:33-72.
- Hurtrez–Obuses, S., C. Meunier, P. Dusand & F. Renaud. 2001. Dynamic of host-parasite infections: The example of population biology of the liver fluke (*Fasciola hepatica*). Microbes Infect; 3: 841-849.
- Ibarra F., Y. Vera, H. Quiroz, 2004. Determination of the effective dose of an experimental fasciolicide in naturally and experimentally infected cattle. Vet. Parasitol. 120 (1-2): 65-74.
- Ibarra-Portillo, R., S. Henríquez, G. García & N. Chica. 2009. Flora y Fauna de El Rosario y sus Alrededores, Morazán, El Salvador. Informe de Campo Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales. No. 1:2009.
- Ibarra, V.F., M.Y. Vera & X.J. Munguía. 2011. Epidemiología de la fasciolosis animal y humana. Epidemiología de enfermedades parasitarias en animales domésticos. 1ª Edición, UNAM. México. Cap. 9:135-172.
- Instituto Nacional de las Mujeres (INMUJERES). 2006. Fechas conmemorativas: Una visión de género. Primera edición. INMUJERES, México. 152p.
- Javitt M.; Trujillo N., Cárdenas, E., Perdomo, Martín J., Rodríguez R. 2012. Presencia de moluscos del género *Lymnaea*, hospedadores intermediarios de *Fasciola hepatica*, en el Parque Recreacional “Los Arroyos” en el municipio Agua Blanca del estado Portuguesa. Año 2. Número 1.Enero – Junio, Pág. 23 – 27.
- Jiménez, A.S. 2010. Parasitosis gastrointestinal de los guajolotes criollos en condiciones de traspatio, en el estado de Michoacán, México. Trabajo de graduación para optar al grado de médico veterinario zootecnista Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

- Kaminsky, G.R. 2010. Infecciones Parasitarias del Sistema Nervioso Central. Revisión Bibliográfica. Parasitóloga. Septiembre–Diciembre. Honduras. Bun Synapsis 3(1): 5-9.
- Kendall, S.B. and J.W. Parfitt 1975. Chemotherapy of infection with *Fasciola hepatica* in cattle. Veterinary Record 97: 9-12.
- Leguía, G. 1988. Distomatosis hepática en Perú: Epidemiología y Control. Ciba Geigy – Hoesch. Lima. 42p.
- León, G.M. 2004. Proyecto de Armonización de las medidas Sanitarias y Fitosanitarias en Mesoamerica en apoyo al comercio Regional en el marco del Plan Puebla Panamá. Legislación sanitaria y fitosanitaria armonizada en materia de buenas prácticas de producción, manufactura e inspección alimentaria a nivel regional. Informe final. 156p.
- Lepe, L.M. 2009. Estudio de gasterópodos en fuentes de agua para consumo animal y su papel como potenciales hospederos de *Fasciola hepatica* en la aldea paquix, chiantla, Huehuetenango, del 15 al 17 de marzo de 2008. Tesis de Grado. Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Guatemala. 45p.
- LESVAES 2006. Ley de Sanidad Vegetal y Animal de El Salvador, 1995, Reformas: (1) D. L. N° 917, del 15 de diciembre de 2005, publicado en el D. O. N° 8, Tomo 370, del 12 de enero de 2006.
- Lincoln, R.J., F.A. Boxshall & P.F. Clark. 2009. Diccionario de Ecología, evolución y taxonomía. 2ª Edición en español. Fondo de Cultura Económica (FCE). México. 674p.
- Linnaeus, C. 1758. Systema Naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Editio decima, Tomus I. reformata. Holmiae. (Laurentii Salvii): 1(4): 18-24.
- Lobato-Paraense, W. 2003. A Bird's Eye Survey of Central American Planorbid. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. Jan. 98(1): 51-67.
- Longa A., Traviezo-Valles L. & Perdomo R. 2010. Primer caso humano parasitado por Paramphistomidae (Trematoda: Digénea) en Venezuela. Boletín de Malariología y Salud Ambiental, Vol. LX, N° 2.
- López, A.I., Chagollan A.F., del Campo J.M., García R.R., Contreras G.I., García V.R. 2006. Ecología. 1ª Edición. Umbral Editorial. México. 133p.
- López, C.C. & R.J. Rivas 2012. Prevalencia de las diferentes patologías causantes de decomiso de hígados de bovinos en la inspección post-mortem, sacrificados en el matadero municipal de san salvador. T.G. MVZ. Departamento de Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador. San Salvador. El Salvador. 83p.
- López, L.P., J. Romero, L.E. Velásquez. 2008. Aislamiento de Paramphistomidae en vacas de leche y en el hospedador intermediario (*Lymnaea truncatula* y *Lymnaea columella*) en una granja del trópico alto en el occidente de Colombia. Rev. Colomb. Cienc. Pecu. 21:9-18.
- López-Sáez, J.A. & J. Pérez-Soto. 2010. Etnobotánica medicinal y parasitosis intestinales en la Isla de Ometepe, Nicaragua Polibotánica, Redalyc (de Información Científica Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal). 3(30):137-161.
- Lucero PR. 2015. Determinación de la presencia de huevos de *Fasciola hepatica* en muestras de heces de equinos de la aldea Izabalito, Departamento de Izabal, Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Escuela de Medicina Veterinaria. Tesis Médico Veterinario.

- MAAMA, (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente). 2012. Protocolo de muestreo y laboratorio de invertebrados bentónicos en lagos código: ML-L-I-2012. Edita: © Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Secretaría General Técnica. Centro de Publicaciones. Catálogo de Publicaciones de la Administración General del Estado. España. 20p.
- Maco F. V., Marcos R.L., Terashima I.A., Samalvides C.F., Miranda S., Espinoza B.J. y H.E.Gotuzzo. 2002. Fas2-ELISA y la técnica de sedimentación rápida modificada por lumbreras en el diagnóstico de la infección por *Fasciola hepatica*. *Rev Med Hered* 13 (2), 49-57.
- Madriz, E.A. 1978. *Faciolosis Humana y Bovina (Datos Relativos a Faciolosis Humana y Bovina en Costa Rica)*. *Rev. Méd. Costa Rica*. XLV (464): 117-120.
- MAG, 2009. Reporte de Inventario Forestal 2003-2005 de la Dirección General de Recursos Naturales. El Salvador. El Salvador.
- MAG, 2009. IV Censo agropecuario 2007-2008: Resumen de Resultados. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Sistema Integrado de Censos y Encuestas Agropecuarios; Volumen 1 Programa Mundial del Censo Agropecuario 2010. 54p.
- MAG, 2010. Plan Estratégico Sectorial 2010-2014. Modernización y ampliación de la base productiva agroalimentaria. Documento de Trabajo interno. El Salvador. 117 P.
- MAG/OPE/DAE, (Oficina de Políticas y Estrategias)/DAE (División de Análisis Estratégico) 2009. El presente informe de Coyuntura. El Salvador. 200p.
- Mailles, A., I. Capek, F. Ajana, C. Schepens, D. Ilef & V. Vaillant. 2006. Commercial watercress as an emerging source of fascioliasis in Northern France in 2002: results from an outbreak investigation. *Epidemiol. Infect.* 134(5): 942-945.
- MARN, (Ministerio del Medio Ambiente y Recursos Naturales) 2009. Inventario de Moluscos (Mollusca) de El Salvador. Gerencia de Vida Silvestre, Dirección General de Patrimonio Natural. Publicación electrónica de uso público.
- MARN, 2011, Informe de la calidad del agua de la Laguna de Metapan para el año 2010, Servicio Hidrológico Nacional, Dirección General de Observatorio Ambiental (DGOA), El Salvador. 17p.
- MARN, 2011. Evaluación de daños y pérdidas en El Salvador ocasionados por la depresión tropical 12E. Primer Informe Preliminar. Organización de las Naciones Unidas OEA. Secretaría Técnica de la Presidencia (STP) y CEPAL. El Salvador. 16p.
- MARN, 2012, Plan Nacional para la Construcción y Mejoramiento de Rastros Municipales 2010. Gobierno de El Salvador. Entre 2002 y 2011, El Salvador fue impactado por 8 eventos hidrometeorológicos extremos, el mismo número que en las cuatro décadas anteriores. Cuatro de ellos provinieron del Océano Pacífico.
- Maldonado, G.J. 1969. Encuesta de fasciolosis hepática en ovinos del departamento de Huehuetenango. GT, USAM/FMVZ. Guatemala. 22p.
- Maldonado, L. A. & G. J. Guillén. 1980. Informe técnico lista de peces algunas características de la Laguna Jauta, San Luis, Departamento de La Paz. Vol. I Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas Campo de Prácticas y Experimental Piscicultura, Flora y Fauna. 21 pp.
- Malek , E ; Cheng , T. 1974. *Medical and economic malacology*. Academic Press, New York.

- Marcos L.A., A. Terashima, G. Leguía, M. cananles, J.R. Espinoza & E. Gotuzzo. 2007. La Infección por *Fasciola hepatica* en el Perú: una Enfermedad Emergente. Rev. Gastroenterol. Perú. 27:389-396.
- Marcos-Raymundo, LA, V. Maco-Flores, A. Terashima, F. Samalvides, E. Miranda, M. Tantalean & cols. 2004 Hiperendemicidad de fasciolosis humana en el Valle de Mantaro, Perú: Factores de riesgo de la infección por *Fasciola hepatica*. Rev. Gastroenterol. Perú; 24:6-20.
- Mas-Coma, S, R. Fons, C. Feliu, M.D. BARGUES, M.A. Valero, M.T. Galán-Puchades. 1988. Small mammals as natural definitive hosts of the liver fluke, *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 (Trematoda: Fasciolidae): a review and two new records of epidemiologic interest on the island of Corsica. Riv Parassitol. 5:73-8.
- Mas-Coma, S., A. Rodríguez, M.D. BARGUES, M.A. Valero, J. Coello & R. Angles. 1998. Secondary reservoir role of domestic animals other than sheep and cattle in fascioliasis transmission on the northern Bolivian Altiplano.
- Mas-Coma, S., R. Angles, J.G. Esteban, M.D. BARGUES, P. Buchon & M. Franken. 1999. The northern Bolivian altiplano: a region highly endemic for human fascioliasis. Trop Med. Int. Health. 4(4):54-67.
- Mas-Coma, S., M.D. BARGUES, M.A. Valero & M.V. Fuentes. 2003. Adaptation capacities of *Fasciola hepatica* and their relationships with human fascioliasis: from below sea level up to the very high altitude. In: Combes C, Jourdan J, editors. Taxonomy. Ecology and evolution of metazoan parasites. Perpignan. Presses Universitaires de Perpignan: 81-123.
- Mas-Coma, S., M.D. BARGUES & M.A. Valero 2005. Fascioliasis and other plant-born trematode zoonoses. International Journal for Parasitology. 35:11-12.
- Mas-Coma S., Valero M.A. & BARGUES M.D.. 2009. Fasciola, lymnaeids and human fascioliasis, with a global overview on disease transmission, epidemiology, evolutionary genetics, molecular epidemiology and control. Adv. Parasitol. 69:41-146.
- Mas-coma, S. 2011. Circulación de *Fasciola hepatica* en áreas de endemia humana: hacia un enfoque zoonótico-ambiental integrado. España. Biomédica. 31(3):3-315.
- Martínez Pérez, J. M. (2015). Fasciolosis ovina: estudios clínicos y desarrollo de nuevos métodos de diagnóstico y control.
- Matinez-Valladares M., Robles-Perez D., Martinez-Perez J., CorderoPerez C., Famularo M.R., Fernandez-Pato N., Gonzalez-Lanza C., Castañon-Ordóñez L. & Rojo-Vazquez FA. 2013. Parasites et Vectors 6: 282.
- Markell, E.K. & M. Voge. 1999. Medical Parasitology, 8ª ed. Saunders Company Publication: 185-188.
- Méndez, L.B. 2010. Huracanes y ciclones en centroamerica y region caribeña. Compilación. Embajada de México en El Salvador. Organización Meteorológica Mundial (OMM). Centro Nacional de Huracanes (CNH). Estados Unidos de América. 46p.
- Merida CM. 2017. Determinación de la prevalencia de Paramphistomum cervi en bovinos de la finca Santa Elena en el municipio de Iztapa, departamento de Escuintla, Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Tesis. 45p.
- Merlos, R.E., V.L. Murillo & S.C. Villalta. 2011. El manejo técnico de los procesos agropecuarios y su influencia sobre los recursos naturales, para fomentar el desarrollo agroecoturístico en la Estación Experimental y de Prácticas de la Facultad de Ciencias Agronómicas, San Luis Talpa, departamento de La Paz. Trabajo de Grado. Universidad de El Salvador. 120p.

- MMA-MRM (Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino). 2011. Protocolo de muestreo de fitoplancton en lagos y embalses código: M-LE-FP-2011. Secretaria de estado de Medio Rural y Agua, dirección General del Agua, Subdirección General de Gestión Integrada del Dominio Público Hidráulico. España. 18p.
- Ministério da Saúde. 2007. Vigilancia y control de las almejas importancia epidemiológica: directrices técnicas: Programa de Vigilancia y Control de la esquistosomiasis (PCE). 2a edición. Editora del Ministerio de Salud. Departamento de Vigilancia Epidemiológica. Secretaría de Vigilancia Sanitaria. Brasil. Brasilia II. (Serie A. Normas técnicas y manuales). 178 p.
- Mitchell G.B., Maris L., Bonniwell M.A. 1998. Triclabendazole resistant liver fluke in Scottish sheep. *Vet. Rec.* 143 (14): 399p.
- Moll, L., C.P. Gaasenbeek, P. Vellema, F.H. Borgsteede 2000. Resistance of *Fasciola hepatica* against triclabendazole in cattle and sheep in The netherlands. *Vet. Parasitol.* 91 (1-2): 153-8.
- Molles, C.M. 2010. Ecology Concepts and Applications. 5th Edition. Mc Graw Hill. United States. 572p.
- Morales, G., L.Pino, E. Sandoval y J. Morales 2017. Diagnóstico diferencial ante mortem entre *Fasciola hepatica* y *Cotylophorum* spp. Colombiana de Ciencias Pecuarias; 22(2):168-177.
- Moreno, C.E. 2001. Métodos para medir la biodiversidad. M&T- Manuales y Tesis SEA. Vol.1. Zaragoza, 84p.
- Moriena, R.A., O. Racioppi, J.D. Álvarez, M.C. Wisnivesky & L. Prepelitchi. 2007. Fasciolosis en bovinos hembras en crecimiento del Departamento Berón de Astrada (Corrientes, Argentina). *Revista Veterinaria*, 18(2): 136-138.
- Morrondo, P.P., R. Sánchez-Andrade, P. Díez-Baños, Pérez V.L. & S.C. López. 1994. Dynamics of *Fasciola hepática* egg elimination and *Lymnaea truncatula* populations in cattle farms in Galicia (North-West Spain). *Res. Rev. Parasitol.* 54: 47-50.
- MSC (Ministerio de Sanidad y Consumo). 2008. Guía de enfermedades infecciosas importantes. Coordinación y gestión: Área de Promoción de la Salud. Subdirección General de Promoción de la Salud y Epidermiología. Dirección General de Salud Pública. Gobierno de España. 211p.
- Müller, G.S., Lara I.M. & Ribeiro P.B. 1992. Infecção natural e experimental de *Depanotrema kermatoides* (planorbidae) com *Paranphistomum* (Fischoeder, 1901) no-Rio Grande do Sul, Brasil. *Rev. Brasil. Parasitol. Vet.* 1:23-26.
- Muñoz, C.R. 2004. La investigación Científica paso a paso, Cuarta edición, Editorial Publitem, El Salvador, 274p.
- Náquira, V.C. 2005. Nomenclatura de las infecciones parasitarias. *Rev. Perú. Med. Exp. Salud Pública.* 22(2):150.
- Naranjo-García, E. & E.C. Gómez. 2011. "Moluscos". Págs. 495-518. En: Bautista-Zúñiga F., Delfín-González H. y Palacio P.J. 2011. Técnicas de Muestreo para manejadores de recursos naturales. 2ª Edición. Centro de Investigación en Geografía Ambiental. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. CONACYT, INE. México 790p.
- Nestares, J., L. Huayanay & E. Gotuzzo 2007. Zonas Hiperendémicas y Mesoendémicas de la Infección por *Fasciola hepática* aledañas a la Ciudad de Lima: Una Enfermedad Emergente.
- O'Brien, D.J., 1998. Fasciolosis: a threat to livestock. *Irish Vet. J.* 51, 539–541.
- OIRSA (Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria). 2002. Actualidad Alimentaria. Boletín informativo. CRIA (Coordinación Regional de Inocuidad de Alimentos). 1(2): 11p.

- OIRSA-FAO. 2009. Informe de encuesta y misión. Vigilancia Epidemiológica y sistemas de información. Belice, Costa Rica, Cuba, El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicaragua, Panamá y República Dominicana. Fortalecimiento del sistema de prevención de la EEB y la adopción de las buenas prácticas en la alimentación animal. TCP/RLA/3113. 119p.
- Ojeda-Robertos NF. ,Medina-Reynés A., GarduzaArias G. y Rangel-Ruiz LJ. 2014, Dinámica de excreción de huevos de *Fasciola hepática* y *Paramphistomum* spp. En ganado bovino de tabasco. Ecosistemas y recursos agropecuarios. 1 (1):73-79.
- Okolodkov, Y.B. 2010. Biogeografía Marina. Universidad Autónoma de Campeche. 217 p.
- Olaechea, F.V. 2004, *Fasciola hepática*, Conferencia Electrónica Septiembre 2004, Red de Helminología de FAO para América Latina y el Caribe. 9p.
- Ollerenshaw, C. B. and Rowlands, W. T. (1959). A method of forecasting the incidence of fascioliasis in Anglesey. Vet. Rec. 71, 591-598.
- Ollerenshaw, C.B. 1971. Some observations on the epidemiology of fascioliasis in relation to the timing of molluscicide application in the control of the disease. Veterinary Record; 88: 152-164.
- Olsen W. 1977. Parasitología animal: II Platelminetos, Acantocéfalos y Nematelminetos. Volumen 2. 3ª Edición. AEDOS Editores. USA. Traducido por M. Cordero del Campillo. España 719p.
- OMS (Organización Mundial para la Salud). 2012. 56 millones de personas padecen de trematodosis de transmisión alimentaria © Copyrigh 2001 Editorial Notitarde, C.A.
- ONU (Organización de las Naciones Unidas), para la Agricultura y la Alimentación 2007. Un Sistema Integrado de Censos y Encuestas Agropecuarios; Volumen 1 Programa Censo.
- OPS (Organización Panamericana de la Salud)/OMS. 2009. Estrategia de Cooperación Técnica Perú 2010-2014. Resumen Ejecutivo Informe del cumplimiento de los Objetivos de Desarrollo del Milenio Perú – 2008, PNUD, Lima. Perú. 102p.
- Ordoñez, M.D. 2010. Fasciolosis crónica avanzada: análisis del desarrollo del parásito adulto y de la ovoposición en el modelo experimental wistar. Tesis Doctoral. Universitat de València. Servei de Publicacions. Departament de Biologia Celular, Parasitologia. España. 265p.
- OSPESCA/TAIWAN/OIRSA/MAG 2005. Inventario de cuerpos de agua continentales de El Salvador con énfasis en la pesca y la acuicultura. Plan Regional de Pesca y Acuicultura Continental (PREPAC). Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA), Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). Organización del Sector Pesquero y Acuícola del Istmo centroamericano. El Salvador. 474p.
- Overend, D.J., F.L. Bowen. 1995. «Resistance of *Fasciola hepática* to triclabendazole». Aust. Vet. J. 72 (7): 275-6. PMID 8534235.
- Over, H.J. 1982. Ecological basis of parasite control trematodes with special reference to fascioliasis. Veterinary Parasitology. 11: 85-97.
- Padilla, F.A. & A.E. Cuesta 2003. Zoología Aplicada. 1ª Edición. Editorial Díaz de Santos. España. 488p.
- Palacios, W.E. 2016. Determinación de las pérdidas económicas por decomisos de hígados afectados por *Fasciola hepática* en el ganado bovino faenado en el Rastro Municipal de Quetzaltenango, en un período de tres meses. Universidad de San Carlos de Guatemala facultad de medicina veterinaria y zootecnia escuela de medicina veterinaria

- Páucar, S.S. 2008. Prevalencia de fasciolosis y paramphistomosis en el ganado lechero de tres distritos de la provincia de Oxapampa, Pasco. Tesis de Grado. Lima-Perú. 62p.
- Paz-Silva, A., M.S. Francisco, I. Arias, F.J. Cortiñas, R. Francisco, E. Mochales, J.L. Suárez, P. Díez-Baños, P. Morrondo, R. & Sánchez-Andra. 2010. Cross-immunity and interpretation of the diagnostics of parasitic trematodosis in ruminants by means of immunoenzymatic probes. In: Veterinary Parasitology (Gregory V. Lamann, Ed.). Nova Science Publishers Inc., New York, USA, 271-288
- Pereira, A., & M. Pérez. 2004. Trematodosis hepáticas Características de la fasciolosis, la clonorquiasis y la opistorquiasis. *Ámbito Farmacéutico Parasitología. OFFARM. Vol. 23 No 4: 116-124.*
- Perera, G., M. Yong, & J. R. Ferrer. 1991. Control biológico de *Fossaria cubensis*, hospedero intermediario de *Fasciola hepatica*, en 2 localidades con diferentes agentes de control. *Rev. Cubana Med. Trop. 43:17-20.*
- Perera, G, R. Sánchez; M. Yong 1985. Comparación del crecimiento de *Helisoma duryi* y *Helisoma scalare*. *Rev Cubana Med Trop 37 (2): 150-154.*
- Pérez, A.M., López, S.J. 2003. Listado de la Malacofauna Continental (Mollusca: Gastropoda) del Pacífico de Nicaragua. *Rev. Biol. Trop. (3): 405-451 pp.*
- Pérez-Cordón, G, M.J. Rosales, R.A. Valdez, F. Vargas-Vásquez, O. Córdova. 2008. Detección de parásitos intestinales en agua y alimentos de trujillo, Perú. *Rev Perú Med. Exp. Salud Publica.; 25(1): 144-48.*
- Pérez, I. 1993. Determinación de larvas de *Fasciola hepática* en 204 caracoles, escogidos al azar, procedentes de los ríos adyacentes del área de Chiantla, departamento de Huehuetenango. Del 24 de mayo al 30 de junio de 1993. Tesis Lic. Med. Cir. Guatemala, GT, USAC/FM. 43p.
- Prepelitchi, L., F. Kleiman, S. Pietrokovsky, R. Moriena, O. Racioppi, J. Álvarez, C. Wisnivesky-Colli. 2003. First report of *Lymnaea columella* say, 1817 (Pulmonata: Lymnaeidae) naturally infected with *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 98(7): 889-891,*
- Prepelitchi, L. 2009, Ecoepidemiología de *Fasciola hepática* (Trematoda, Digenea) en el norte de la provincia de Corrientes destacando aspectos ecológicos de *Lymnaea columella* (Pulmonata, Lymnaeidae) y su rol como hospedador intermediario, T.D. Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Universidad de Buenos Aires. Argentina. 164p.
- Pino, L.A. y G. Morales 1982. *Lymnaea cubensis* Pfeiffer 1839 hospedador intermediario de *Cotylphoron cotylphorum* (Fischoeder 1901) Stiles y Goldberger 1910 en condiciones naturales. *Acta Cientif, Venezolana 33:57-60.*
- Phiri, A. M., Chota, A., Phiri, I. K., 2007. Seasonal pattern of bovine amphistomosis in traditionally reared cattle in the Kafue and Zambezi catchment areas of Zambia. *Trop Anim. Health. Prod. 39, 97-102.*
- Pumarola, A., A. Rodríguez-Torres, J.A. García-Rodríguez & G. Piedrola-Angulo, 1995. *Microbiología y Parasitología Médica. 2ª Edición, Salvat Editores S. A. España. 916p.*
- Quiroz, H, & M. Carvalho. 2000. *Parasitología Veterinaria. Primera Edición Madrid: Mc-Graw Hill Interamericana. España. 968 p.*
- Quiroz R.H. 2005. *Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos. Editorial Limusa S.A. de C.V. México, pp. 254-259.*
- Quiroz, R.H., Figueroa C.J. 2010. Estudio de la fasciolosis en México de 1879 a 2006. 1ª edición. Universidad Nacional Autónoma de México, 330p.

- Quiroz, R.H., Figueroa C.J., Ibarra V.F., Lopaz A.M. 2011. Epidemiología de enfermedades parasitarias en animales domésticos. 1ª Edición, UNAM. Mexico.
- Rimbaud E., Luna L., Morales X., Aguirre J., Treminio C., Soto J., Sandoval M. (2007). Informe de resultados de estudios epidemiológicos de enfermedades en animales de comunidades miskitas de la R.A.A.N. Managua, Nicaragua: Universidad de Ciencias Comerciales.
- Reinhard EG. 1957. Landmarks of parasitology. I. The Discovery of the life cycle of the liver fluke. *Experimental Parasitology*, 6: 208-232.
- Reyes, L.L. 2011. Determinación de la presencia de *Fasciola hepatica* en rebaños de ovinos en la sierra de los cuchumatanes del departamento de Huehuetenango por medio de la técnica de sedimentación AMS III. Proyecto Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FODECYT). No 039-2009. Guatemala. 70p.
- Rimbaud, E., N. Pineda, L. Luna, E. Sacasa, M. Doña, G. Rivera, S. Ortega, L. Molina, M. Solórzano, S. Robletto, H. Flores, J. Gutiérrez, Sandino S., Zeledón B., Blanco E. 2005. Parásitos diagnosticados por el Centro de Diagnóstico Veterinario de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Ciencias Comerciales, Nicaragua, ejercicio 2003 - 2004. *Boletín de Parasitología de la UCR en Costa Rica*, 3 (6): 2, ISSN-1659-0295
- Rodríguez, V.E., y C.M. Salazar. 2000. Efectos de la utilización de la hoja de Nim (*Azadirachta indica*), en relación al levamisol como desparasitante interno en cabras nubias en el Centro de Experimentación y Capacitación Agropecuaria (CECA), Granada, Nicaragua. Ingeniería tesis, Universidad Nacional Agraria, UNA. 38p.
- Romero, B.R. & M.W. Castillo. 2012. Implicaciones de la *Fasciola hepatica* en los niveles bioproductivos en bovinos adultos de la Empresa Pecuaria La Vitrina. T.G. MVZ. Universidad Central. Marta Abreu de Las Villas Facultad de Ciencias Agropecuarias.
- Rondelaud, D., A. Titi, P. Vignoles, A. Mekroud, G. Dreyfuss. 2014. Adaptation of *Lymnaea fuscus* and *Radix balthica* to *Fasciola hepatica* through the experimental infection of several successive snail generations. *Parasites & Vectors* 2014 7:296.
- Rupert, E. y R. Barnes. 1996. Zoología de los Invertebrados. 6ª Edición, McGraw Hill Interamericana Editores. México. 1001p.
- Samamé L.M., VA Chávez., R.V. Pinedo. 2016. Fasciolosis en Vicuñas (*Vicugna vicugna*) de la Sierra Central del Perú, *Rev Inv Vet Perú* 2016; 27(1): 137-144p.
- Sanchís, J., S. Miguelez, M.A. Solari, P. Piñero, M.I. Macchi, G. Maldini, J. Venzal, P. Morrondo, P. Díez-Baños, R. Sanchez-Anrade, A. Paz-Silva & M.S. Arias, 2011. Seroprevalencia de la fasciolosis bovina en el departamento de Salto (Uruguay). *Rev. Ibero-Latinoam. Parasitol.* 70 (2): 163-171p.
- Sarmiento, F.O. 2000. Diccionario de Ecología. Paisajes, conservación y desarrollo sostenible para Latinoamérica. Ecuador. 229p.
- Schniebs K., 4, Glöer P., Vinarski MV., Hundsdoerfer AK. 2013. Intraspecific morphological and genetic variability in the European freshwater snail. *Contributions to Zoology*, 82 (1) 55-68.
- Sequeira, E.J. y Canales, K.T. 2017. Prevalencia de vermes gastrointestinales en fincas de producción bovina en los municipios de León, Malpaisillo y Nagarote del departamento de León, marzo - julio 2016. Tesis. Universidad Nacional Agraria, Facultad de Ciencia Animal, Departamento De Veterinaria.

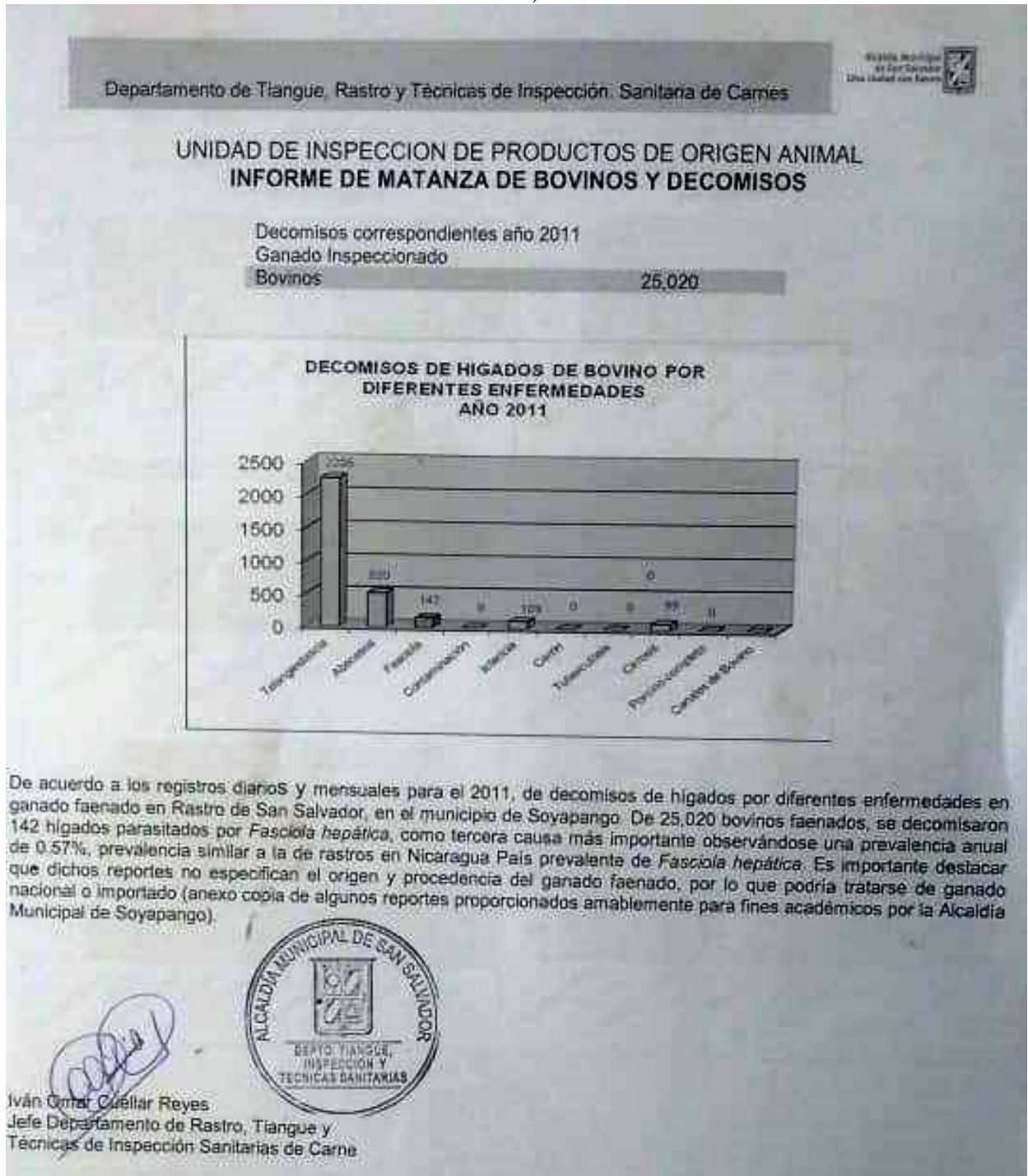
- (SGCA, PE) / (BM, US) / (GEF, US) / (MAE/PRAA, EC) / (FONAG, EC). 2011. Sistema de monitoreo para evaluar la disponibilidad de agua y evolución de los impactos asociados al cambio climático en la parte alta de la cuenca del río Guayllabamba y en las microcuencas Papallacta y Antisana. Estudio sobre Caudales Ecológicos. Quito, EC. 61 p.
- SNET, (Servicio Nacional de Estudios Territoriales). 2002. Estrategias de descontaminación de los ríos Acelhuate, Sucio y Suquiapa. SNET/MARN. San Salvador. 69p.
- SNET, 2016, Clima en El Salvador, Ministerio del Medio Ambiente y Recursos Naturales MARN.
- Solórzano, C.L. 1999. Prevalencia de *Fasciola hepática* en bovinos en el municipio de Tactic, departamento de Alta Verapaz. Tesis Lic. Med. Vet. Guatemala, GT, USAC/FMVZ. 53p.
- Soto, J.L., Rimbaud E., Gutiérrez M., Caballero P., Lacayo F., Duarte H., Picado L., Torres I. 2007. Diagnóstico de enfermedades endoparasitológicas en fincas de productoras del municipio de Malpaisillo, Departamento de León, pertenecientes a mujeres productoras rurales organizadas del grupo Xochilt Acatl. REDVET. Rev. electrónica de Veterinaria 1695-7504. Vol.VIII N°3.
- Soulsby, E.J. 1987. Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales domésticos, 7ª Edición, Nueva Editorial Interamericana. México D.F. 823p.
- Spithill, T.W., P.M. Smooker & D.B. Copeman 1999. *Fasciola gigantica*: epidemiology, control, immunology and molecular biology. En Dalton, J.P. Fasciolosis. Wallingford, Oxon, UK: CABI Pub. 465–525.
- Strong, E.E., O. Gargominy, W.F. Ponder & P. Bouchet. (2008). Global Diversity of Gastropods (Gastropoda; Mollusca) in Freshwater. *Hydrobiologia* 595: 149-166.
- Suess, E. 1914. International Catalogue of Scientific Literature. Science. Francia. 39(1017): 933-935.
- Taira, N., H. Yoshifuji & J.C. Boray. 1997. Zoonotic potential of infection with *Fasciola* spp. by consumption of freshly prepared raw liver containing immature flukes. *Int. J. Parasitol.* 27:775–779.
- Tananta, I, Chávez A, Casas E, Suárez F, Serrano E. Presencia de enteroparásitos en Lechuga (*Lactuca sativa*) en establecimientos de consumo público de alimentos en cercado de Lima. *Rev Inv Vet Peru* 2004; 15(2): 157-62.
- Taylor, E.L. 1951. Parasitic bronchitis in cattle. *Vet. Rec.* 63, 859-873.
- Taylor, E.L. 1939. Technique for estimation of pasture infestation by strongyle larvae. *Parasitology.* 31. 473-478p.
- Taylor, AE. 1965. Host-parasite relationship in invertebrate host. Blackwell Scientific Publications. Oxford: 51-73.
- Dittmar, K. y Teegen W. 2003. The presence of *Fasciola hepatica* (liver-fluke) in humans and cattle from a 4500 year archeological site in Saale–Unstrut Valley, Germany. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*; 98 Suppl. 141-144(3):1–6.
- Thompson, F.G. 1963. New Land Snails from El Salvador. *Proc. Biol. Soc. Wash.* Vol 76: 19-32
- Ticona, S.D., V. Chavez, Amanda, V. Casas, Gina *et al.* 2010. Prevalencia de *Fasciola hepatica* en bovinos y ovinos de Vilcashuamán, Ayacucho. *Rev. investig. vet. Perú.* jul./dic. 21(2).
- Tolan, R.W. 2011. Fascioliasis Due to *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* Infection: An Update on This ‘Neglected’ Neglected Tropical Disease. *February. Lab. Med.* 42(2): 107-116.
- Tonn, R., Hunter G., Alfaro M. Zúñiga J., Redmond D. 1964. Seasonal incidence of larval trematodes in Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 12:59-65.

- Torgerson, P., & J. Claxton 1999. Epidemiology and control. En Dalton, JP. Fasciolosis. Wallingford, Oxon, UK: CABI Pub. 113–49.
- Torres-Bejarano F., Padilla C.J., Rodríguez C.C., Ramírez L.H. y Cantero R. R. La modelación hidrodinámica para la gestión hídrica del embalse del Guájaro, Colombia. Rev. int.métodosnumér.cálc.diseñoing.2016; 32 (3):163–172.
- Marcos, R. Fons & S. Mas-Coma 1998. *Fasciola hepatica* development in experimentally infected black rat, *Rattus rattus*. Parasitol. Res. 84:188-94.
- Valero, MA & S. Mas-Coma 2000. Comparative infectivity of *Fasciola hepatica* metacercariae from isolates of the main and secondary reservoir animal host species in the Bolivian Altiplano high human endemic region. Folio Parasitol.; 47:17-22.
- Vásquez, M. 2001. Propuesta de manejo integrado de los recursos naturales asociados al Humedal Cerrón Grande. Fundación Río Lempa. Ministerio de Medio Ambiente y recursos Naturales. Alcaldía Municipal de El Paraíso. Asociación Ecológica de Chalatenango. 116 p.
- Vázquez A. y N.J. Sánchez. 2015. Clave ilustrada y comentada para la identificación de moluscos gasterópodos fluviales de Cuba. Revista Cubana de Medicina Tropical, Vol. 67, No 2.
- Velastegui L.F. y J.M. Guerra. 2012. Prevalencia de parasitosis por *Paramphistomum spp.* en ganado bovino del Cantón del Chaco, Provincia del Napo, Ecuador. Universidad Central del Ecuador, 100p.
- Vignau, M.L., L.M. Venturini, J.R. Romero, D.F. Eiras & W.U. Basso. 2005. Parasitología práctica y modelos de enfermedades parasitarias en los animales domésticos, 1º edición, UNLP Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional de La Plata, Argentina 194p.
- Vignoles, PG. Dreyfuss and D. Rondelaud. 2002. Redial growth and cercarial productivity of *Fasciola hepatica* in three species of young lymnaeid snails. Journal of Helminthology, 76, pp 269-272.
- Villacorta, R. *et al.* 2000. Mapeo de la Vegetación Natural de los Ecosistemas Terrestres y acuáticos de Centroamérica. El Salvador. MARN. Informe sin publicar. San Salvador.
- Villatoro, G.L. 2008. Diagnóstico de *Fasciola hepatica* y las pérdidas económicas que ocasiona en bovinos que se faenan en el rastro anisa de villa nueva. Escuela de Médica Veterinaria, Medicina Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de San Carlos. Guatemala. TG- USAC. 43p.
- Vivar, J.V. 2015. Determinación de la presencia de *Paramphistomun cervi* en terneros de 4 meses a un año de edad, en las comunidades Hopay, Chachahualia y Punta de Manabique, por medio de la técnica AMS III, en el municipio de Puerto Barrios, Departamento de Izabal, Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Escuela de Medicina Veterinaria. Tesis.
- Walker, S.M., Prodöhl, P.A., Hoey, E.M., Fairweather, I., Hanna, R.E., Brennan, G., Trudgett, A., 2012. Substantial genetic divergence between morphologically indistinguishable populations of *Fasciola* suggests the possibility of cryptic speciation. Int. J. Parasitol. 42, 1193–1199.
- Walker, T.S. 2000. Microbiología. 1ª edición. McGraw-Hill Interamericano. México. 532p.
- Ying, M., H. Xiaosu & W. Bim. 2007. A case of ectopic parasitism: *Fasciola hepatica* larvae burrow through a human braun and mimic cerebral aneurysm. Trans R. Soc. Trop. Med. Hyg. 101: 1051-1052.

9. ANEXOS

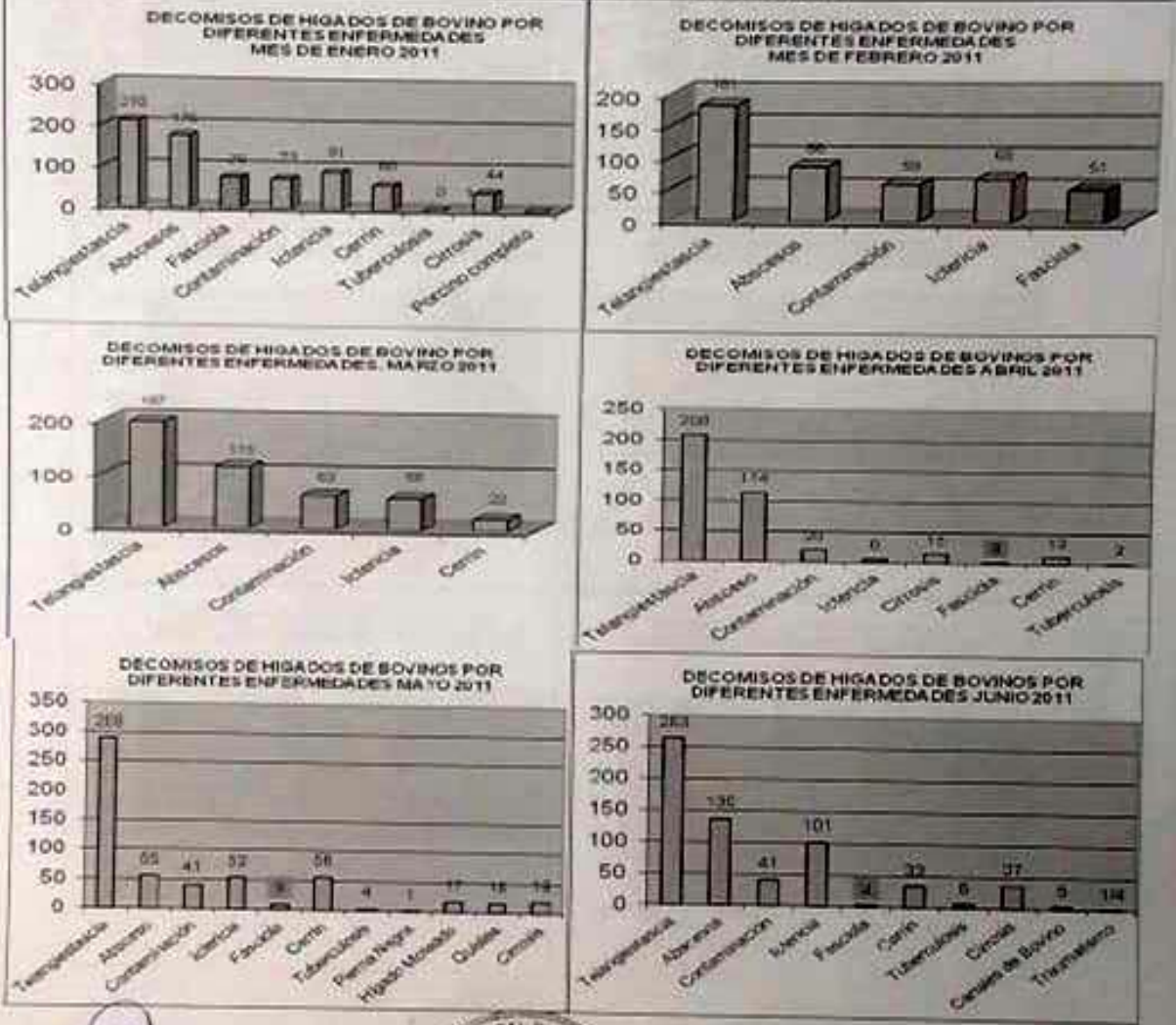
Anexo 1.

Resumen anual de causas de decomiso de hígado bovino correspondientes al año 2011 en Rastro de Soyapango (AMSS 2013).



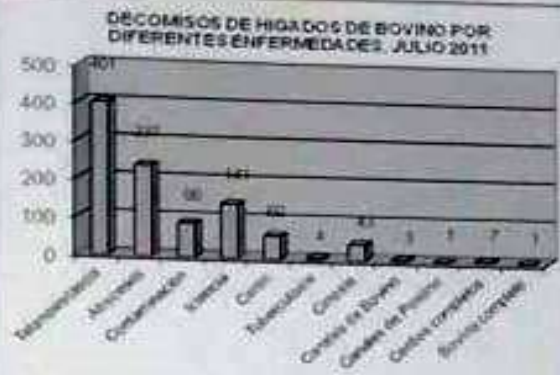
Informe de Matanza de Bovinos y Decomisos

Registros Mensuales para 2011, Rastro municipal de Soyapango



Iván Omar Cuéllar Reyes
 Jefe Departamento de Rastro, Tiangué y
 Técnicas de Inspección Sanitarias de Carne






 Iván Omar Cuellar Reyes
 Jefe Departamento de Rastro, Tiague y
 Técnicas de Inspección Sanitarias de Carne



Anexo 2.

A. Reportes de inspección post-mortem en Rastro Municipal de San Salvador. De 16 -01 al 15 -02- 2011.

MAG DGSVA	Título: Inspección de establecimientos de bovinos y porcinos	Versión: 1 Fecha: 31/05/06	Código: PE - DIA - UTA 7.62.3 Página: 12 de 13
--------------	--	-------------------------------	---


MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA
 DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL Y ANIMAL
 DIVISIÓN DE INOCUIDAD DE ALIMENTOS
 UNIDAD DE INSPECCIÓN DE PRODUCTOS DE ORIGEN ANIMAL
INFORME DE MATANZA DE BOVINOS Y DECOMISOS


NUMERO DE INIC	APROBADOS	CONDENADOS	RETENIDOS
NOVILLOS	253	253	—
BUEYES	350	350	—
TOROS	181	181	—
NOVILLAS	806	76	—
VACAS	801	801	—
TOTAL	1661	1661	—

Fecha: 15 de 02 de 2011
 Nombre establecimiento: Municipio de San Salvador
 Número: 4
 Tipo: Mensual Anual
 De 16 de 01 al 15 de 02 de 2011

CAUSA DE CONDENA	PRODUCTO CONDENADO														OBSERVACIONES			
	NOVILLOS	TOROS	VACAS	NOVILLAS	BUEYES	HIGADOS	PULMONES	CORDONES	RINONES	CABEZAS	MONDONGOS	BALOS	LENCLAS	SESOS		FETOS	UBRES	PATAS
DIST CERCCOSIS																		
SEPTICEMIA TRAUMATICA																		
SAPREMIA O TOXEMIA																		
ACTINOMICOSIS																		
TUBERCULOSIS																		
MELANOSIS																		
ABCESOS						99		12						14				
CIRROSIS						9												
CALCULOS																		
DEGENERACION CONFIRMACION						27		2										
PERICARDITIS								4										
QUISTES																		
PIGMENTACION																		
ATROFIA																		
EMACIACION																		
PETECIAS Y HEMORRAGIAS																		
ICTERICIA						34												
EPITELIOMA O TUMORES																		
PERITONITIS																		
CARNE TRAUMATIZADA																		
ENFISEMA																		
NEUMONIA																		
NEFRITIS																		
MICOSIS																		
ADHERENCIA																		
ELANGECTASIA						197												
H MYEASO																		
PLEURITIS																		
MASTITIS																		
LACTANCIA																		
GABARRO																		
O ROS						76												20
TOTALES						423		1661		12				219		39		20

OBSERVACIONES: Se decomisaron 1661 patitas por ley


 Eduardo Castellanos Guillen
 INSPECTOR TECNICO VETERINARIO
 ACREDITACION 052 (MAG)


 Dr. EDGAR RUBEN ARANA LOVO
 MEDICO VETERINARIO
 J. V. P. S. V. No. 22


 DGSVA
 Depto. Gestión de Calidad
 Control de Documentos
 N.º de Copia: 1

FPE-DS-UW 7.62.3.4 V1

B. Reportes de inspección post-mortem en Rastro Municipal, San Salvador. De 16 febrero a 15 marzo 2011.

MAG DGSVA	Título: Inspección de establecimientos de bovinos y porcinos	Versión: 1 Fecha: 31/05/06	Código: PE - DIA - UJA 7.62.3 Página: 12 de 13
--------------	--	-------------------------------	---



MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA
DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL Y ANIMAL
DIVISIÓN DE INOCUIDAD DE ALIMENTOS
UNIDAD DE INSPECCIÓN DE PRODUCTOS DE ORIGEN ANIMAL



INFORME DE MATANZA DE BOVINOS Y DECOMISOS

NÚMERO DE INSPECCIÓN	APROBADOS	CONDENADOS	RETENIDOS
NOVILLOS		—	—
BUEYES		—	—
TOROS		—	—
NOVILLAS		—	—
VACAS		—	—
TOTAL	1627	1625	2

Fecha: 17.03.2011
Nombre establecimiento: Matadero Municipal de San Salvador
Número: 24
Día: Mensual:
Del 16 de 02 al 16 de 03 de 2010

CAUSA DE CONDENA	PRODUCTO CONDENADO													OBSERVACIONES				
	NOVILLOS	TOROS	VACAS	NOVILLAS	BUEYES	HIGADOS	PULMONES	CORAZONES	RIÑONES	CABEZAS	MONDOINGOS	BAZOS	LENGUAS		SESOS	FETOS	UBRES	PATAS
ESPECIFICOS																		
SEPTICEMIA TRAUMÁTICA																		
SAPREMIA O TOXEMIA																		
FOTINMICOSIS			2										2					
FUBERCULOSIS																		
MELANOSIS																		
ABCESOS						13												
CIROSIS						10												
CALCULOS																		
DEGENERACION																		
CONFIRMACION																		
PERICARDITIS																		
QUISTES																		
INFLAMACION																		
ATROFIA																		
EMACIACION																		
PETEQUAS Y HEMORRAGIAS																		
ICTERICIA																		
EPITELIOMA O TUMORES																		
PERITONITIS																		
CARNE MALPARATIZADA																		
ENFISEMA																		
NEUMONIA																		
NEFRITIS																		
MIOSITIS																		
ADHERENCIA																		
ELANGECTASIA																		
H. MOTEADO																		
PLEURITIS																		
MASTITIS																		
LACTANCIA																		
OTROS																		
TOTALES						25												34
						447												10216
																		17398

OBSERVACIONES: Se decomputaron los bovinos 1627 por mala calidad de la carne.

Eduardo Castellanos Guzmán
INSPECTOR TÉCNICO VETERINARIO
ACREDITACION 052 (MAG)

Dr. Edgar Pizarro Cruz Leiva



DGSVA
Depto. Gestión de Calidad
Control de Documentos
N° de Copia: 1

B. Base de datos de estadíos libre en agua de cada humedal

Resultado de Estadíos libres en Agua													
Fecha de _____		Muestreo _____		Zona _____		Humedal _____		Ganadería _____					
Coordenadas _____			Altitud _____		T°C _____		Humedad _____		T°C Agua _____		pH _____		OD _____
Tamaño de la muestra _____				método _____				Microhabitat _____		colectores _____			
Muestreador: <u>Yolanda I. Martínez Rodríguez</u>													
<i>F. hepatica</i>								Otras Sp.					
Estadio	Abund. (ind./ml)	Morfometría (µm)			Frecuencia (Mes)			Riqueza	Abund. (ind./ ml)	Frecuencia (Mes)			
		l	a	d	Mar	Abr	May	Sp.		Mar	Abr	May	
Miracidios													
Cercarias													
Metacercarias													
Huevos													
Total													
Promedio													

C. Hoja de resultados de metacercarias en vegetación

Resultado de Metacercarias en pasto										
Fecha de _____		Muestreo _____		Zona _____		Humedal _____		Ganadería _____		
Coordenadas _____			Altitud _____		T°C _____		Humedad _____		T°C Agua _____	
pH _____				OD _____		Tamaño de la muestra _____		método _____		Microhabitat _____
colectores _____		Muestreador: <u>Yolanda I. Martínez Rodríguez</u>								
Observaciones:										
<i>F. hepatica</i>						Otras Sp.				
Metacercarias		Frecuencia			Otro estadío.	Metacercarias	Abund.	Frecuencia		
NMGps (n°/g)	Abundancia	Oct	Nov	Dic			NMGps (n/g)	Oct	Nov	Dic
Total										
Promedio										

D. Resultados de pruebas de laboratorio a *F. hepática* en bovinos.

Fecha del muestreo _____ Zona _____ Humedal _____ Ganadería _____														
Coordenadas _____ Altitud _____ T °C _____ Humedad _____ Radiación _____														
Tamaño de la muestra _____ método de muestreo _____														
Nombre de colector(es/as) MVZ-MAG: _____														
Muestreador: Yolanda Isabel Martínez Rodríguez														
Observaciones: _____														
Bov.	<i>F. hepatica</i>								Otros Trematodos					
	Coproscodiagnostico						Prev.		ELISA		Otras Sp		Prev. Patente	
	Exam. Macro (Prepatente)		Exam. Micro				Prev. Patente		Prev.total					
	Nº Joven	Talla (Pix.)	(-)	(+)	NPG	Talla prom.	(-)	(+)	(-)	(+)		NPG	(-)	(+)
Total														
Promedio														

E. Matriz de resultados de laboratorio de gasterópodos

Resultado de Morfometría de Gasterópodos									
Fecha de _____ Muestreo _____ Zona _____ Humedal _____ Ganadería _____									
Coordenadas _____ Altitud _____ T °C _____ Humedad _____ T °C Agua _____ pH _____									
OD _____ Tamaño de la muestra _____ método _____ Microhabitat _____ colectores _____									
Muestreador: <u>Yolanda I. Martínez Rodríguez</u>									
Observaciones: _____									
Nº ind.	Alto (mm)	Ancho (mm)	Nº Espiras	Angulo (°)	Abertura (mm)	Radio (mm)	Id. Tax	Clave (Autor, año)	
Con. Glob.	1.								
	2.								
	3.								
	4.								
	5.								
Conica	1.								
	2.								
	3.								
	4.								
	5.								
Planispiral	1.								
	2.								
	3.								
	4.								
	5.								
Plano	1.								
	2.								
	3.								
	4.								
	5.								

	2.									
	3.									
	4.									
	5.									
	1.									
Otros	2.									
	3.									
Total										
Prom.										

F. Resultados a emisión de Cercarias de *F. hepatica* en moluscos

Resultado de emisión de Cercarias en Gasterópodos															
Fecha de _____ Muestreo _____ Zona _____ Humedal _____ Ganadería _____															
Coordenadas _____ Altitud _____ T°C _____ Humedad _____ T°C Agua _____ pH _____ OD _____															
Tamaño de la muestra _____ método _____ Microhabitat _____ colectores _____															
Muestreador: <u>Yolanda I. Martínez Rodríguez</u> Observaciones: _____															
Sp. Ind.	Metodo de emision	Prev. Cercarias <i>F. hepatica</i>						Otras sp.							
		N° Cerc.	Oct.		Nov.		Dic.		Sp.	Oct.		Nov.		Dic.	
			(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)		N° Cerc.	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
Sp. 1	1.														
	2.														
	3.														
	4.														
	5.														
Sp. 2	1.														
	2.														
	3.														
	4.														
	5.														
Sp. 3	1.														
	2.														
	3.														
	4.														
	5.														
Total															
Promedio															

Anexo 4.

PROTOCOLOS

Técnica modificada en este estudio: "Filtración sostenida/sedimentación"

Utilizando SDSS (Solución de Dennis, Stone & Swanson (1954) al 5% y la técnica Happich & Boray (1969), con base en resultados observados en Aguirre *et al.* (1998), Morales y Pino (2004).

Procedimiento: Se homogeneizara (evitando generar espuma) 10g de fecas concentradas en 100 ml de solución jabonosa SDSS al 5 % (5ml de detergente no iónico concentrado/1000ml agua destilada/para facilitar el desprendimiento de los huevos de la materia fecal acelerando la precipitación.

Técnica modificación: La suspensión se tamizara en un sistema de tres filtros 1000, 250 y 180 μ m de poro (retirando materia de gran tamaño que obstruye poros y retiene huevos), la materia retenida se conservara en el sistema de tamizado y la solución tamizada se dejará sedimentar por 5' en un vaso cónico o beaker de 500 ml (1° lavado). Luego se eliminara el sobrenadante hasta 1cm sobre el sedimento y se aforara a 500 ml con solución SDSS, sobre el material retenido en el sistema de tamices (para arrastrar los huevos retenidos), dejándola sedimentar 3' para el 2° y 3° lavado. Se eliminara el sobrenadante dejando 10 ml de líquido con el sedimento. Se trasvasara la suspensión final a una caja de petri de 10cm de diámetro. Observar bajo estereoscopio. Si se dificulta diferenciar los huevos de la materia fecal presente, se agregara 2 gotas de azul de metileno 1% que colorea la materia vegetal de azul y los huevos de amarillo y dejar reposar 5'. La técnica de sedimentación se basa en que el tiempo de caída de los huevos de *F. hepatica* en el agua (100 mm/minuto) es menor al de los detritos de la materia fecal, no debe pasar de 3 a 4 minutos, para evitar exceso de restos vegetales (Happich y Boray 1969).

Para el recuento de huevos por gramo (HPG), se homogenizara cuidadosamente la suspensión y se extraerán 10ml que contienen 1g de heces, los huevos contenidos se cuantificaran al estereoscopio por barrida zigzagante en una caja petri sobre una cuadrícula microbiológica transparente grabada en acetato. El caso de alta carga parasitaria se homogenizara 1ml y se cuantificara en portaobjetos de vidrio sódico-cálcico con cavidades con diámetro de aprox. 15 - 18mm y profundidad aprox. 0,6 - 0,8 mm (aprobadas para aplicaciones diagnósticas in-vitro según la directiva 98/79/CE). Las modificaciones de las técnicas se basan en la caracterización de los organismos descrita por Sousby (1987), Walker (2000), Cordero del Campillo *et al.* (2007).

Técnica de sedimentación de Dennis, Stone y Swanson.

La técnica de sedimentación es uno de los métodos coprológicos directos utilizados para detectar huevos de *F. hepatica* en la materia fecal del hospedador definitivo. La concentración de los huevos para su posterior visualización en la lupa se basa en que el tiempo de caída de los huevos de *F. hepatica* en el agua (100 mm/minuto) es más rápido que el de los detritos presentes en la materia fecal. La sedimentación de los huevos puede ser auxiliada con el uso de soluciones jabonosas que facilitan su desprendimiento (Dennis, Stone y Swanson, 1954).

Reactivo:

Solución de Dennis, Stone y Swanson (SDSS)

5 ml..... Detergente concentrado

1000 ml.... Agua C.S.P.

8 gotas..... Alumbre (SO₄)₂ Al K 1%

Colorante:

10 g Iodo metálico (I)

50 g Ioduro de potasio (IK)

100 ml..... Agua destilad.

Procedimiento:

1. Homogeneizar 8 g de materia fecal de cada muestra con 300 ml de solución SDSS, evitando generar espuma.
2. Trasvasar la suspensión a un vaso cónico de 500 ml y dejar sedimentar 5` (1° lavado).
3. Eliminar el sobrenadante hasta 1 cm por encima del sedimento.
4. Agregar 500 ml de solución SDSS y dejar sedimentar 5` (2° lavado).
5. Repetir puntos 3 y 4 (3° lavado).
6. Eliminar el sobrenadante dejando 10 ml de líquido con el sedimento.
7. Trasvasar la suspensión final a una caja de petri de 10cm, agregar 2-3 gotas de Colorante y dejar reposar 5`.
8. Observar bajo microscopio estereoscópico (20-40x)
9. Contar el número de huevos de *F. hepática*

Protocolo para la fijación y conservación de moluscos de agua dulce

Relajación: Los 5 ejemplares de cada especie serán relajados de acuerdo a su microbiotopo, sumergiéndolos en agua fría hervida, sin oxígeno, lleno al ras y tapado dejándolo reposar por 24 horas, a temperatura ambiente con entre 3 y 7 cristales de mentol o una pizca de tabaco para acelerar la relajación corroborar su inmovilidad completa (Rangel-Ruiz y Gamboa-Aguilar, 2005). Una vez relajados se transferirán a alcohol al 35% o formol al 5 o 10% para dormirlos sin que haya contracción. Desprender el cuerpo de la conchilla tirando del pie con una pinza adecuada, de los moluscos terrestres se conservan el pie y la glándula digestiva colocados en pequeños viales con tapa de broche, y se etiquetan con tinta indeleble (Barbosa 1995, Naranjo y Gómez 2011).

Fijación y conservación: Colocar el cuerpo de cada caracol en líquido fijador Railliet-Henry:

Solución fisiológica.....	930 ml
Formol 4% neutralizado.....	50 ml
Ácido acético glacial.....	20 ml

El volumen del fijador debe ser 20 veces mayor al volumen del cuerpo , renovar el líquido fijador a las 24 hs, Conservar el material en el fijador por tiempo indefinido en un recipiente hermético, rotular con el mismo código el cuerpo y la conchilla de cada espécimen (Paraense, 1984).

Protocolo para la emisión de cercarías de *Fasciola hepatica*

Inhibición de la emisión: Colocar 20 caracoles vivos en recipientes de plásticos con agua declorada, refrigerar por 3 horas.

Estimulación de la emisión

- Retirar los recipientes con caracoles de la heladera,
- colocar los recipientes bajo una lámpara de 60 watts por 2 horas aprox.
- Identificar los recipientes con cercarías nadando o metacercarias enquistadas,
- Aislar individualmente los 20 caracoles en nuevos recipientes con agua, para identificar al/los infectado/s (caracoles positivos).
- Repetir el procedimiento por 10 días.
- Disecar a los caracoles negativos para buscar otros estadios larvales de *F. hepática*.

Anexos 5
MATRICES DE DATOS CRUDOS.

A. Prevalencia y carga parasitaria de Trematoda en bovinos de la Laguna de Metapán. Ind=individuos; gr=gramos.

N° de bovino	Laguna de Metapán				
	Mes #1	Mes #2	Mes #3	Mes #4	
	Trematoda	Trematoda	Trematoda	<i>Paramphystomon</i>	<i>Fasciola</i>
1	0	2	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	24	0
4	4	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	4	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0
8	0	2	8	4	0
9	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0
11	8	2	0	8	0
12	0	13	0	52	0
13	8	1	0	16	0
14	0	0	0	0	0
15	8	0	0	0	8
16	0	0	0	0	0
17	0	3	0	12	0
18	0	3	0	12	8
19	0	0	0	0	0
20	0	1	0	0	4
Prevalencia	25 %	40 %	5 %	35 %	15 %
Carga parasitaria	6.4 ind/gr	3.38 ind/gr	8 ind/gr	18.29 ind/gr	6.67 ind/gr

B. Prevalencia y carga parasitaria de Trematoda en bovinos del Embalse del Cerrón Grande. Ind=individuos; gr=gramos.

N° de bovino	Embalse Cerrón Grande				
	Mes #1	Mes #2	Mes #3	Mes #4	
	Trematoda	Trematoda	Trematoda	Paramphystomon	Fasciola
1	0	0	0	0	0
2	0	1	0	0	4
3	0	0	0	0	0
4	0	8	44	0	0
5	0	0	41	0	0
6	0	0	0	0	0
7	2	8	0	0	0
8	0	0	0	0	0
9	0	1	0	0	4
10	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0
17	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0
21	8	0	0	0	0
22	0	0	0	0	0
23	0	0	0	0	0
24	0	0	37	0	4
25	0	0	0	0	0
26	0	0	0	0	4
27	8	0	0	4	4
28	0	0	0	0	0
29	0	4	0	0	0
30	0	0	0	0	0
Prevalencia	10	17	10	3	17
Carga parasitaria	6 ind/gr	4.4 ind/gr	40.67 ind/gr	4 ind/gr	4 ind/gr

C. Prevalencia y carga parasitaria de Trematoda en bovinos de La Laguna Providencia. Ind=individuos; gr=gramos.

N° de bovino	Laguna Providencia, La Paz				
	Mes #1	Mes #2	Mes #3	Mes #4	
	Trematoda	Trematoda	Trematoda	<i>Paramphystomon</i>	<i>Fasciola</i>
1	12	4	10	12	0
2	0	0	17	22	0
3	0	2	15	22	0
4	0	0	13	0	0
5	9	12	0	58	0
6	3	14	34	34	0
7	0	0	40	52	0
8	0	12	0	62	0
9	0	0	75	182	0
10	0	3	100	436	0
11	13	0	30	60	0
12	7	0	0	50	0
13	0	0	0	50	0
14	0	38	25	45	0
15	8	3	30	50	0
16	0	12	10	18	0
17	0	14	22	34	0
18	5	0	21	32	0
19	12	4	32	70	0
20	5	0	75	128	0
21	0	0	15	0	0
22	1	0	27	44	0
23	0	34	0	12	0
24	0	24	0	12	0
Prevalencia	41.67 %	54.17 %	75.00 %	91.67 %	0%
Carga parasitaria	7.5 ind/gr	13.54 ind/gr	32.83 ind/gr	67.5 ind/gr	0 ind/gr

D. Prevalencia y carga parasitaria de Trematoda en bovinos de la Laguna El Jocotal. Ind=individuos; gr=gramos.

N° de bovino	Laguna El Jocotal				
	Mes #1	Mes #2	Mes #3	Mes #4	
	Trematoda	Trematoda	Trematoda	<i>Paramphystomun</i>	<i>Fasciola</i>
1	422	12	34	0	40
2	84	22	50	40	0
3	14	22	28	40	40
4	8	0	73	200	40
5	104	58	113	0	0
6	60	34	0	40	0
7	14	52	17	40	40
8	50	62	23	40	0
9	46	182	7	40	0
10	6	436	60	0	40
11	30	60	12	120	40
12	26	50	44	0	0
13	18	50	14	40	0
14	8	45	37	0	0
15	4	50	161	40	0
16	14	18	14	40	0
17	32	34	204	40	0
18	56	32	23	40	40
19	26	70	11	0	0
20	40	128	16	0	0
21	24	0	12	0	80
22	30	44	9	40	0
23	28	12	11	10	0
24	4	12	8	4	0
25	3	40	0	4	0
26	1	30	40	12	0
27	2	12	0	12	0
28	3	0	40	8	0
29	4	26	0	18	0
30	12	30	10	0	0
31	0	4	0	16	0
32	4	12	0	16	0
33	0	20	0	14	8
34	4	4	0	0	0
35	4	102	1	12	0
36	4	0	0	12	12
37	40	14	0	8	0
38	60	0	6	0	0
39	52	14	18	0	3

40	24	0	1	8	0
41	0	4	3	4	0
42	0	0	0	0	0
43	0	24	0	8	0
44	0	4	0	0	0
45	0	0	0	12	8
46	4	0	0	38	8
47	0	4	0	0	0
48	0	0	0	0	0
Prevalencia	81	79	65	67	27
	35.10				
Carga parasitaria	ind/gr	48.13 ind/gr	35.48 ind/gr	31.75 ind/gr	30.69 ind/gr

E. Recolección de moluscos en cada humedal por muestreo.

Humedal	Laguna de Metapán				Embalse del Cerrón Grande				Laguna Providencia				Laguna El Jocotal			
	M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4
Especie Muestreo																
<i>Radix balthica</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
<i>Biomphalaria havanensis</i>	0	0	0	0	6	19	21	18	0	0	0	0	17	8	5	14
<i>Biomphalaria subprona</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	7
<i>Helisoma</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	21
<i>Drepanotrema depressissimum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	7	15	12	10	0	0	0	0
<i>Gyraulus parvus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Planorbella</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Marisa cornuarietis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pomacea flagellata</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1
<i>Pomacea</i> sp.	2	0	0	0	3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3	0
<i>Pyrgophorus</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	27	21	0
<i>Tarebia granifera</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	37	0	32
Sp 1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	5	0	3	0	5	2	2
Sp 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	8	7
Sp 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	3
<i>Acroloxus lacustris</i>	0	0	24	0	17	0	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0


<i>Orithalicus princeps</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Succinea</i> sp.	0	7	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sp 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2

F. Estadíos exogenos de la Clase Trematoda en agua y vegetación. h= huevo; m=miracidio; c=cercaría, mc=metacercaria; ml=mililitro; gpsv=gramo en peso seco vegetal.

Ambiente	Agua												Vegetación			
	Huevo (h/1 ml)				Miracidio (m/1 ml)				Cercaria (c/1 ml)				Metacercaria (Mc/gpsv)			
Estadio	M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4
Humedal/ Muestreo	M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4
Laguna de Metapán	8	8	0	16	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	1	2
Embalse del Cerrón Grande	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	7	4	5
Laguna Providencia	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	13	11	12
Laguna El Jocotal	8	1	0	16	0	2	0	0	1	1	0	0	3	2	3	2
Total	19	11	0	32	0	2	0	0	1	1	0	0	13	24	19	21

Anexos 6

Constancias de estancia investigativa para la ratificación de especies trematoda resultantes del trabajo de graduación.

 <p>UNIVERSIDAD NACIONAL AVENIDA DE MÉXICO</p>	<p>FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA COORDINACIÓN DE ENSEÑANZA PRÁCTICA</p>	
<p>OF. N°.: FMVZ/COEPA/g/61t/15. ASUNTO: Término de Estancia.</p>		
<p>A QUIEN CORRESPONDA.</p>		
<p>Se hace constar que el C. MARTINEZ RODRIGUEZ YOLANDA ISABEL, concluyó de manera satisfactoria su estancia en el Departamento de Parasitología, de la FMVZ-UNAM. Dicha estancia se realizó del 19 al 24 de Octubre y del 3 al 13 de Noviembre de 2015, bajo la supervisión de la Dra. Irene Cruz Mendoza.</p>		
<p>Agradeciendo en antemano su atención, quedo a sus órdenes para cualquier aclaración.</p>		
<p>ATENTAMENTE . "POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU. Cd. Universitaria, D.F., noviembre 11 del 2015. EL COORDINADOR.</p>		
<p> DR. JAVIER FLORES COVARRUBIAS.</p>		
<p><small>Av. Universidad 3000. Universidad Nacional Autónoma de México, CU, Del. Coyoacán, Distrito Federal, CP 04510. Tels.: 01 (55) 5622-5877 y 5622-5959. Fax: 01 (55) 5616-7166.</small></p>		

Anexo 6.



Instituto Politécnico Nacional
Secretaría Académica
Dirección de Estudios Superiores
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas



ASUNTO: Constancia de Estancia.

SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN PÚBLICA

SEP

A QUIEN CORRESPONDA.

Se hace constar que la estudiante **MARTÍNEZ RODRÍGUEZ YOLANDA ISABEL**, concluyó de manera satisfactoria su estancia de capacitación en la identificación molecular de especies, en el Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Departamento de Zoología, Laboratorio de Variación Biológica y Evolución. Dicha estancia se realizó del 26 al 30 de Octubre y del 2 al 13 de Noviembre 2015, bajo la coordinación del suscrito y con la instructoría técnica de la M. en C. Verónica Torres Banda.

La capacitación consistió en la selección de técnicas idóneas de acuerdo al tamaño de muestra y tipo de organismo, uso y manejo bioseguro y desecho de residuos, extracción de ADN fresco y antiguo, PCR, electroforesis, visualización, purificación y cuantificación de los amplicones, así como, la gestión de síntesis de primers y secuenciación (financiadas por la presente institución); y finalmente la instrucción del procesamiento de datos para la identificación y generación de árboles filogenéticos.

La ratificación de especies de interés incluyó identificación molecular de macroinvertebrados a partir de muestras manométricas (huevecillos de parásitos) de ADN; con énfasis en los trematodos parásitos *Fasciola hepatica* (zoonótico) y *Paramphistomum cervi* encontrados en la tesis PRESENCIA DE *Fasciola hepatica* Y SU PREVALENCIA EN BOVINOS DE CUATRO HUMEDALES DE EL SALVADOR, ejecutada por la estudiante de la Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Universidad de El Salvador.

Agradeciendo en antemano su atención, quedo a sus órdenes para cualquier aclaración.

ATENTAMENTE

Dr. Gerardo Zúñiga Bermúdez

Coordinador del Laboratorio de Variación Biológica y Evolución,
Departamento de Zoología, Escuela Nacional de Ciencias
Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. IPN. Ciudad de México,
México.