

**UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**



ESCUELA DE POSGRADO

**TESIS PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE DOCTORA
EN CIENCIAS PARA EL DESARROLLO SUSTENTABLE
CON MENCIÓN EN PRODUCCIÓN Y BIENESTAR ANIMAL**

**PREVALENCIA, CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE
LA FASCIOLIASIS E IMPACTO SOBRE LA
PRODUCTIVIDAD DE BOVINOS EN AMAZONAS**

Autora:

Mg. Clavel Diaz Quevedo

Asesores:

PhD. Juan R. Tejedo Huamán

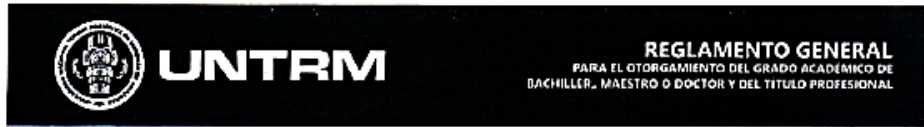
PhD. Stella Maris Chenet Carrasco

Registro: (.....)

CHACHAPOYAS – PERÚ

2022

**AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE LA TESIS EN EL REPOSITORIO
INSTITUCIONAL DE LA UNTRM**



ANEXO 6-H

**AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE LA TESIS DE MAESTRÍA ()/DOCTORADO () EN EL
REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UNTRM**

1. Datos de autor 1

Apellidos y nombres (tener en cuenta las tildes): Díaz Oueverdo Clavel
DNI N°: 45724138
Correo electrónico: valcita.diaz@gmail.com
Nombre de la Maestría () / Doctorado (X): Ciencias para el Desarrollo Sustentable
con mención en Producción y Bienestar Animal.

Datos de autor 2

Apellidos y nombres (tener en cuenta las tildes): _____
DNI N°: _____
Correo electrónico: _____
Nombre de la Maestría () / Doctorado (): _____

2. Título de la tesis para obtener el grado académico de Maestro () / Doctor (X)

Prevalencia, Caracterización molecular de la fascioliasis e impacto
sobre la productividad de bovinos en Amazonas.

3. Datos de asesor 1

Apellidos y nombres: Tejedo Huamán Juan Rigoberto
DNI, Pasaporte, C.E.N°: 08633602
Open Research and Contributor-ORCID (<https://orcid.org/0000-0002-9670-0970>): 0000-0002-8434-7516

Datos de asesor 2

Apellidos y nombres: Chenel Carasco Stella Maris
DNI, Pasaporte, C.E.N°: 41255427
Open Research and Contributor-ORCID (<https://orcid.org/0000-0002-9670-0970>): 0000-0002-5305-0664



4. Campo del conocimiento según Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos- OCDE (ejemplo: Ciencias médicas, Ciencias de la Salud-Medicina básica-Immunología)
https://catalogos.concytec.gob.pe/vocabulario/ocde_ford.html
Ciencias médicas

5. Originalidad del Trabajo

Con la presentación de esta ficha, el(la) autor(a) o autores(as) señalan expresamente que la obra es original, ya que sus contenidos son producto de su directa contribución intelectual. Se reconoce también que todos los datos y las referencias a materiales ya publicados están debidamente identificados con su respectivo crédito e incluidos en las notas bibliográficas y en las citas que se destacan como tal.

6. Autorización de publicación

El(los) titular(es) de los derechos de autor otorga a la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM), la autorización para la publicación del documento indicado en el punto 2, bajo la *Licencia creative commons* de tipo BY-NC: Licencia que permite distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial por lo que la Universidad deberá publicar la obra poniéndola en acceso libre en el repositorio institucional de la UNTRM y a su vez en el Registro Nacional de Trabajos de Investigación-RENATI, dejando constancia que el archivo digital que se está entregando, contiene la versión final del documento sustentado y aprobado por el Jurado Evaluador.

Chachapoyas, 14 / noviembre, 2022



Firma del autor 1

Firma del autor 2



Firma del Asesor 1



Firma del Asesor 2

DEDICATORIA

A Dios, por regalarme la vida y salud; a mis padres, Elisa Quevedo Macedo y Josbin Lachuma Puyo, por su amor y apoyo incondicional, por inculcarme valores y darme educación; a mis hermanos Jorge, Tato, Jhon Robin, Lenin y Jorge Antonio.

A mis tutores, el Dr. Juan Rigoberto Tejedo Huamán y la Dra. Stella Maris Chenet Carrasco por guiarme en todo el proceso de mi investigación.

AGRADECIMIENTO

Esta investigación ha sido financiada por el Proyecto Concytec - Banco Mundial “Mejoramiento y Ampliación de los Servicios del Sistema Nacional de Ciencia Tecnología e Innovación Tecnológica” 8682-PE, a través de su unidad ejecutora ProCiencia. [contrato número 03-2018-FONDECYT-BM-PDAEG]

Al Instituto de Enfermedades Tropicales de la UNTRM, que se encuentra bajo la dirección del Dr. Rafael Tapia Limonchi, por brindarme el equipamiento y materiales necesarios para realizar la fase experimental de genómica.

Al Laboratorio de Fisiología Molecular, que se encuentra bajo la dirección del Dr. Rainer Marco López Lapa, por brindarme el equipamiento necesario para realizar la fase experimental de genómica.

Al Laboratorio de Enfermedades Parasitarias e Infecciosas, que se encuentra a cargo del M.Sc. Hugo Frías Torres, por el apoyo brindado en equipamiento y materiales para el desarrollo de la fase experimental de microscopía.

A los tesisistas de pregrado, por el apoyo en la colecta de muestras y encuestas dirigidas a productores ganaderos, correspondiente al objetivo de prevalencia

A todo el personal del matadero municipal de Chachapoyas, por brindarme las facilidades para la obtención de muestras para la ejecución de mi tesis.

**AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ
DE MENDOZA DE AMAZONAS**

Dr. POLICARPIO CHAUCA VALQUI

RECTOR

Dra. FLOR TERESA GARCÍA HUAMÁN

VICERRECTORA DE INVESTIGACIÓN

Dr. MIGUEL ÁNGEL BARRENA GURBILLON

VICERRECTOR ACADÉMICO

Dr. RAÚL RABANAL OYARCE

DIRECTOR DE LA ESCUELA DE POSGRADO

VISTO BUENO DEL ASESOR DE LA TESIS

El docente adscrito a la Escuela de Posgrado de la Universidad Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM-A) que suscribe, hace constar que han asesorado la realización de la tesis titulada:

“PREVALENCIA, CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA FASCIOLIASIS E IMPACTO SOBRE LA PRODUCTIVIDAD DE BOVINOS EN AMAZONAS”

Presentada por la alumna del Doctorado en Ciencias para el Desarrollo Sustentable:

Mg. Clavel Diaz Quevedo

Asimismo, doy el visto bueno al informe final de la tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el jurado, comprometiéndome a supervisar el levantamiento de las observaciones para continuar con los trámites correspondientes.



Juan Rigoberto Tejedo Huamán

Ph.D.

VISTO BUENO DEL ASESOR DE LA TESIS

El docente adscrito a la Escuela de Posgrado de la Universidad Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM-A) que suscribe, hace constar que han asesorado la realización de la tesis titulada:

“PREVALENCIA, CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA FASCIOLIASIS E IMPACTO SOBRE LA PRODUCTIVIDAD DE BOVINOS EN AMAZONAS”

Presentada por la alumna del Doctorado en Ciencias para el Desarrollo Sustentable:

Mg. Clavel Diaz Quevedo

Asimismo, doy el visto bueno al informe final de la tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el jurado, comprometiéndome a supervisar el levantamiento de las observaciones para continuar con los trámites correspondientes.



Stella Maris Chenet Carrasco

Ph.D.

JURADO EVALUADOR DE LA TESIS



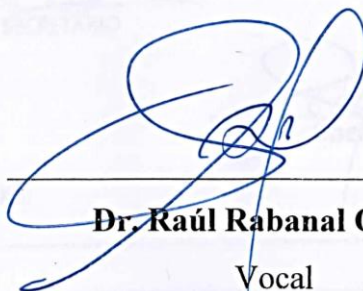
Dr. Rainer Marco López Lapa

Presidente



Dr. Carlos Eduardo Millones Chanamé

Secretario



Dr. Raúl Rabanal Oyarce

Vocal

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS



ANEXO 6-0

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO () / DOCTOR (x)

Los suscritos, miembros del Jurado Evaluador de la Tesis titulada:

PREVALENCIA, CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA FASCIOCLASIS E IMPACTO SOBRE LA PRODUCTIVIDAD DE BOVINOS EN AMAZONAS

presentada por el estudiante ()/egresado (x) CLAVEL DIAZ GUEVEDO

de la Escuela de Posgrado, Maestría () / Doctorado (x) en CIENCIA PARA EL

DESARROLLO SOSTENIBLE

con correo electrónico institucional clavel.diaz@untrm.edu.pe

después de revisar con el software Turnitin el contenido de la citada Tesis, acordamos:

- a) La citada Tesis tiene 11 % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es menor (x) / igual () al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM.
- b) La citada Tesis tiene % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es mayor al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM, por lo que el aspirante debe revisar su Tesis para corregir la redacción de acuerdo al Informe Turnitin que se adjunta a la presente. Debe presentar al Presidente del Jurado Evaluador su Tesis corregida para nueva revisión con el software Turnitin.

Chachapoyas, 21 de JUNIO del 2022




SECRETARIO


PRESIDENTE


VOCAL

OBSERVACIONES:

.....
.....

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS



UNTRM

REGLAMENTO GENERAL

PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

ANEXO 6-Q

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO () / DOCTOR (X)

En la ciudad de Chachapoyas, el día 18 de Julio del año 2022, siendo las 16:20 horas, el aspirante Clavel Diaz Quevedo, defiende en sesión pública presencial (X) / a distancia () la Tesis titulada: Prevalencia, caracterización molecular de la fasciolosis e impacto sobre la productividad de bovinos que tiene como asesor a Ph.D. Juan R. Tejedo Huamani, Ph.D. Stella M. Chenet Canales para obtener el Grado Académico de Maestro () / Doctor (X) en Ciencias para el Desarrollo Sustentable a ser otorgado por la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas; ante el Jurado Evaluador, conformado por:

Presidente: Dr. Rainer Marco López Laza

Secretario: Dr. Carlos Eduardo Millones elancumé

Vocal: Dr. Raúl Rabanal Oyarce



Procedió el aspirante a hacer la exposición de la Introducción, Material y método, Resultados, Discusión y Conclusiones, haciendo especial mención de sus aportaciones originales. Terminada la defensa de la Tesis presentada, los miembros del Jurado Evaluador pasaron a exponer su opinión sobre la misma, formulando cuantas cuestiones y objeciones consideraron oportunas, las cuales fueron contestadas por el aspirante.

Tras la intervención de los miembros del Jurado Evaluador y las oportunas respuestas del aspirante, el Presidente abre un turno de intervenciones para los presentes en el acto de sustentación, para que formulen las cuestiones u objeciones que consideren pertinentes.

Seguidamente, a puerta cerrada, el Jurado Evaluador determinó la calificación global concedida a la sustentación de la Tesis de Maestría () / Doctorado (X), en términos de:

Aprobado (X)

Desaprobado ()

Otorgada la calificación, el Secretario del Jurado Evaluador lee la presente Acta en esta misma sesión pública. A continuación se levanta la sesión.

Siendo las 18:10 horas del mismo día y fecha, el Jurado Evaluador concluye el acto de sustentación de la Tesis para obtener el Grado Académico de Maestro () / Doctor (X).

SECRETARIO

PRESIDENTE

VOCAL

OBSERVACIONES:

LEVANTAR LAS OBSERVACIONES HECHAS POR EL JURADO EN EL PLAZO DE TIEMPO SEGÚN REGLAMENTO.

CONTENIDO GENERAL

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE LA TESIS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UNTRM	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS	v
VISTO BUENO DEL ASESOR DE LA TESIS	vi
VISTO BUENO DEL ASESOR DE LA TESIS	vii
JURADO EVALUADOR DE LA TESIS	viii
CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS	ix
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS	x
CONTENIDO GENERAL	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xiv
ÍNDICE DE FIGURAS	xvi
RESUMEN	xviii
ABSTRACT	xix
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. ANTECEDENTES	3
1.1.1. Epidemiología de la fascioliasis	3
1.1.2. Ciclo de vida de <i>Fasciola</i> spp.	3
1.1.3. Distribución de <i>Fasciola</i> spp.	5
1.1.4. Pérdidas económicas mediante decomiso de hígados	6
1.1.5. Caracterización molecular de <i>Fasciola</i> spp.	6
1.1.5.1. Marcadores moleculares	6
1.1.5.2. Haplotipos de <i>Fasciola</i> spp.	7

1.1.6.	Estrategias sostenibles para el control de fascioliasis	8
1.1.6.1.	Aplicación de lectinas para controlar la fascioliasis	8
1.1.6.2.	Manejo de pastizales e instalaciones.....	9
1.1.6.3.	Aplicación de hongos para combatir la fascioliasis.....	10
II.	MATERIALES Y MÉTODOS	12
2.1.	Material de estudio: prevalencia de fascioliasis	12
2.2.	Material de estudio: prevalencia de fascioliasis por decomiso de hígado.....	14
2.3.	Análisis de datos	15
2.4.	Material de estudio: caracterización molecular de <i>Fasciola</i> spp.	15
2.5.	Extracción de ADN de tejido de duelas	16
2.6.	Extracción de ADN de huevos de <i>Fasciola</i> spp.	17
2.7.	Amplificación del ADN.....	19
2.7.1.	PCR Convencional	19
2.7.2.	Amplificación de ADN de la región Ribosomal ITS1+ITS2 de <i>Fasciola</i> spp.	19
2.7.3.	Amplificación de una región del gen mitocondrial <i>nad1</i>	20
2.7.4.	Amplificación del fragmento del gen citocromo oxidasa (<i>cox1</i>)	21
2.8.	Electroforesis.....	22
2.8.1.	Preparación del gel de agarosa	22
2.8.2.	Carga en gel de agarosa de los productos generados por PCR.....	22
2.8.3.	Revelado	23
2.9.	Secuenciación y análisis.....	23
2.10.	Análisis de datos.....	24
2.11.	Población, muestra y muestreo de pérdidas productivas mediante decomiso de hígado.....	25
2.12.	Análisis de datos.....	26
III.	RESULTADOS	28

3.1. Prevalencia de fascioliasis en ganado bovino en las cuencas de Leimebamba, Molinopampa, La Florida y Omia.....	28
3.2. Caracterización molecular de muestras de duelas hepáticas de ganado bovino obtenidas a partir de hígados decomisados en mataderos municipales	39
3.3. Pérdidas productivas mediante el decomiso de hígados de ganado bovino en el matadero municipal de Chachapoyas.	53
IV. DISCUSIÓN	56
4.1. Prevalencia de fascioliasis en ganado bovino en las cuencas de Leimebamba, Molinopampa, La Florida y Omia.....	56
4.2. Caracterización molecular de muestras de duelas hepáticas de ganado bovino obtenidas a partir de hígados decomisados en mataderos municipales	61
4.3. Pérdidas productivas mediante el decomiso de hígados de ganado bovino en el matadero municipal de Chachapoyas	64
4.4. Propuesta de desarrollo sustentable para la reducción de incidencia de <i>Fasciola</i> spp. de ganado bovino de la región Amazonas.	66
4.4.1. Ganadería sustentable	66
4.4.2. Uso de controladores biológicos para fascioliasis.....	68
4.4.2.1. Lectinas como controlador de fascioliasis.....	68
4.4.2.2. Hongos como controlador de fascioliasis	69
4.4.2.3. Manejo de pastizales e instalaciones.....	70
V. CONCLUSIONES	72
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Prevalencia y asociación de fascioliasis en bovinos de las Cuencas ganaderas en la región Amazonas.....	28
Tabla 2. Prevalencia y asociación de fascioliasis con las características fenotípicas del ganado bovino procedentes de las cuencas ganaderas de la región Amazonas.	30
Tabla 3. Prevalencia y asociación de fascioliasis referente a los datos geográficos del predio y sistema de alimentación bovina en las cuencas ganaderas de la región Amazonas.	31
Tabla 4. Regresión logística binaria para la infección por fascioliasis en bovinos de las Cuencas ganaderas en la región Amazonas.	33
Tabla 5. Regresión logística binaria para la infección por fascioliasis con las características fenotípicas del ganado bovino procedentes de las cuencas ganaderas de la región Amazonas.....	35
Tabla 6. Regresión logística binaria para la infección por fascioliasis referente a los datos geográficos del predio y sistema de alimentación bovina en las cuencas ganaderas de la región Amazonas.....	36
Tabla 7. Prevalencia y asociación de fascioliasis en hígados de ganado bovino beneficiados en el matadero municipal de Chachapoyas según procedencia y época del año.	37
Tabla 8. Prevalencia y asociación de fascioliasis en hígados de ganado bovino beneficiados en el matadero municipal de Chachapoyas según características fenotípicas.....	39
Tabla 9. Haplotipos de <i>nad1</i> presentes en las muestras.....	40
Tabla 10. Haplotipos de <i>cox1</i> presentes en las muestras	41
Tabla 11. Data de muestra total de <i>F.hapatica</i> colectadas en el Matadero municipal de Chachapoyas, R. Mendoza y muestras de heces procedentes del distrito de Omia.	44
Tabla 12. Pérdidas productivas y económicas mediante decomiso de hígado bovino ...	53
Tabla 13. Pérdida productiva de carne (kg)1 mediante decomiso de hígado según raza.	54
Tabla 14. Pérdida productiva de carne (kg)1 mediante decomiso de hígado según época del año.....	54

Tabla 15. Pérdidas productivas de hígado (kg)1 mediante decomiso total y parcial según raza.....	55
Tabla 16. Pérdidas productivas (kg)1de hígado mediante decomiso total y parcial según época del año.	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo biológico de <i>Fasciola spp.</i> Fuente: (CDC, 2020).....	5
Figura 2. Fotografía microscópica del huevo de <i>Fasciola spp.</i> indicando sus partes.....	13
Figura 3. Mapa de Ubicación geográfica de las cuencas ganaderas donde se colectaron las muestras de heces bovinas. En la leyenda muestra el sector representado por un color específico.....	13
Figura 4. Mapa de Ubicación geográfica del lugar de procedencia de los bovinos que ingresaron al matadero municipal de Chachapoyas de junio a diciembre 2020. (Díaz-Quevedo et al., 2021).....	14
Figura 5. Mapa de Ubicación geográfica del lugar de procedencia de las muestras de <i>Fasciola spp.</i> , A. Ubicación del Perú en América del Sur; B. Ubicación de la región Amazonas; C. Provincia de Chachapoyas; D. Matadero municipal de Chachapoyas; E. Distrito de Omía.....	16
Figura 6. Extracción de ADN de tejido de <i>Fasciola spp.</i> A. Extracción de tejido; B. Traslado del volumen final de ADN a tubos estériles de 2mL previamente codificado.	17
Figura 7. Procedimiento para el shock térmico. A: muestras congeladas de heces de ganado bovino infectados en huevos de <i>Fasciola spp.</i> ; B. Baño maría con temperatura de 70°C para el shock térmico.....	18
Figura 8. Mix PCR y amplificación A. Mix PCR; B. Colocación de las muestras del mix PCR en el termociclador.....	19
Figura 9. Perfil de temperatura en el termociclador para la región Ribosomal ITS1+ITS2 de 2030pb.	20
Figura 10. Perfil de temperatura en el termociclador para una región del gen mitocondrial nad1 de 2930 pb.	21
Figura 11. Perfil de temperatura en el termociclador para el fragmento del gen citocromo oxidasa cox1 493pb.	22
Figura 12. Carga de productos amplificados en gel de agarosa. A. Mezcla con 2mL de Buffer de carga de DNA (Loadig Dye); B. Carga del producto PCR en el gel de agarosa.....	23
Figura 13. Figura modificada de la fase experimental caracterización molecular (Díaz-Quevedo et al., 2021).....	24
Figura 14. Hígado de ganado bovino según grado de infestación por fascioliasis.....	25

Figura 15. Prevalencia de fascioliasis por raza. Las barras naranjas indican el número de bovinos infectados y las barras azules indican el número de bovinos no infectados. Los números rojos indican el porcentaje total de la raza. (Díaz-Quevedo et al., 2021).....	38
Figura 16. Frecuencia y porcentaje de haplotipos correspondientes al fragmento del gen <i>nad1</i> , en muestras obtenidas de los mataderos municipales A) Matadero municipal de Chachapoyas; frecuencia absoluta de haplotipos y porcentaje de haplotipos según frecuencia absoluta. B) Matadero municipal de Rodríguez de Mendoza; frecuencia absoluta de haplotipos y porcentaje de haplotipos según frecuencia absoluta.	42
Figura 17. Frecuencia y porcentaje de haplotipos correspondientes al fragmento del gen <i>cox1</i> , en muestras obtenidas de los mataderos municipales A) Matadero municipal de Chachapoyas; frecuencia absoluta de haplotipos y porcentaje de haplotipos según frecuencia absoluta. B) Matadero municipal de Rodríguez de Mendoza; frecuencia absoluta de haplotipos y porcentaje de haplotipos según frecuencia absoluta.	43
Figura 18. Flujograma de la propuesta de Desarrollo Sustentable para la reducción de la incidencia de fascioliasis en ganado bovino de la región Amazonas.	71

RESUMEN

Los objetivos de esta tesis doctoral fueron: i.- determinar la prevalencia de fascioliasis, ii.- caracterizar genéticamente al agente etiológico de la Fascioliasis y iii.- calcular las pérdidas económicas causadas por fascioliasis. La prevalencia total de fascioliasis bovina mediante microscopía de muestras de heces de bovino reportada en las cuatro cuencas ganaderas fue del 52% (1464), y la prevalencia reportada en muestras de hígado de bovino provenientes del matadero municipal de Chachapoyas fue del 90,13% (790). La caracterización molecular de *Fasciola* spp. se realizó en 110 muestras de ADN extraídas de duela y en 8 muestras de heces de ganado bovino procedentes de la cuenca ganadera de Omia, utilizando marcadores específicos ITS1, ITS2, *nad1* y *cox1*. De acuerdo a los resultados, se obtuvo un 100 % de similitud para *Fasciola hepatica*, y el estudio con los marcadores mitocondriales mostró la presencia de 33 haplotipos, de los cuales 25 han sido reportados por primera vez en este estudio. Los estudios de pérdidas ocasionadas por la fascioliasis mediante decomiso de hígado mostraron una pérdida productiva de 53,281.00kg de hígado y 6,800kg de carne, lo que ocasiona una pérdida económica en soles de S/. 104,122.24 y S/. 136,000 respectivamente. Estos resultados muestran que la fascioliasis tiene una alta prevalencia, así mismo los reportes de nuevos haplotipos, y el impacto en la producción, indican la necesidad de controlar, vigilar e implementar propuestas de control para esta parasitosis.

Palabras clave: Fascioliasis, prevalencia, caracterización molecular, haplotipos, pérdidas productivas, factores de riesgo.

ABSTRACT

The objectives of this doctoral thesis were: i.- to determine the prevalence of fascioliasis, ii.- to genetically characterize the etiological agent of fascioliasis and iii.- to calculate the economic losses caused by fascioliasis. The total prevalence of bovine fascioliasis by microscopy reported in the four livestock basins was 52% (1464), in bovine feces samples and the prevalence reported in the Chachapoyas municipal slaughterhouse was 90,13% (790), in liver samples of bovine infected by *Fasciola* sp; molecular characterization was performed on 110 DNA samples extracted from adult *Fasciola* sp (102) and fecal eggs (08) where specific markers for *Fasciola hepatica* were used, such as ITS1 and ITS2, which showed 100% similarity to *Fasciola hepatica*. The molecular study with the mitochondrial markers *nad1* and *cox1* showed the presence of 33 haplotypes, of which 25 have been reported for the first time in this study and 8 of them coincided with previous reports; studies of losses caused by fascioliasis through liver seizure showed a productive loss of 53,281.00kg of liver and 6,800kg of meat, which leads to an economic loss in soles of S/. 104,122.24 and S/. 136,000 respectively. These results show that fascioliasis has a high prevalence, as well as the reports of new haplotypes, and the impact on production, which indicates the need to control, monitor and implement control proposals for this parasitosis.

Keywords: Fascioliasis, prevalence, molecular characterization, haplotypes, productive losses, risk factors.

I. INTRODUCCIÓN

La distomatosis hepática o fascioliasis es una enfermedad de gran importancia y de distribución cosmopolita, causada por el tremátodo *Fasciola* spp., el cual ocasiona severos daños patológicos en el hígado, especialmente en los conductos biliares. Este parásito tiene como huésped intermediario a los caracoles del género *Lymnaea* (Familia Lymnaeidae) y como hospedadores definitivos a los rumiantes, herbívoros y, esporádicamente, a humanos (Bahrami et al., 2014; León-Gallardo y Benítez, 2018; Molento et al., 2018). Esta parasitosis es causante de pérdidas considerables en la producción de ganado bovino y ovino en nuestro país debido al decomiso de vísceras rojas, principalmente el hígado, que se encuentran infectadas con duelas jóvenes o adultas (León-Gallardo y Benítez, 2018). Un aspecto relevante es la distribución geográfica del huésped intermediario que, en el Perú, coincide con las zonas de mayor población de crianza (los andes peruanos); con el añadido de que la actividad pecuaria se realiza bajo el sistema de explotación extensiva que favorece el desarrollo de esta parasitosis (Rosemberg, 2018).

La ganadería bovina es una actividad económica importante en nuestro país, concentrándose el 73,2% de la población bovina en la sierra. Las razas que más predominan son el ganado criollo con un 63.9%, seguido del Brown Swiss con 17,6%, Holstein con 10,3%, Gyr/Cebú con 3,4% y otras razas con 4,8% (INEI, 2012). La actividad ganadera en la región Amazonas representa el 3.79 % de la ganadería en el Perú (INEI, 2012); en esta región, las razas más predominantes son la Brown Swiss y criollos con 17,6%, seguidos por otras razas (INEI, 2012). El tipo de sistema empleado para la crianza bovina en la región Amazonas es el sistema extensivo, para ello se cuenta con 62.2% de pastos naturales y el 36.4% son pastos de corte (Murga et al., 2019). El 68.5% de ganaderos desparasita a sus animales cada tres meses y el suministro de agua es *ad libitum* (Murga et al., 2019). Estos datos muestran que la mayor parte de la crianza bovina en esta región se da mediante el pastoreo, lo que ocasiona un control deficiente en manejo de pastos y de parasitosis.

Reportes previos indican que existe alta prevalencia de fascioliasis en los valles andinos, siendo considerada altamente endémica en humanos y rumiantes (Rosemberg, 2018). Esto pone en riesgo la economía, cuyas pérdidas estimadas superan los tres millones de dólares anuales a nivel nacional. Estas pérdidas no solo involucran decomiso de hígados

infectados por fascioliasis, sino que, además, involucran la disminución de peso, la merma en la producción de leche, la reducción en la tasa de preñez y el alto costo de tratamiento veterinario (Espinoza et al., 2010).

El incremento de la prevalencia de fascioliasis bovina en el país se debe a la falta de un programa bueno y eficiente de prevención y control de esta parasitosis. Esta información es relevante a la hora de diseñar programas que inculquen buenos hábitos de crianza en las comunidades, de esta manera se disminuiría la infección por *Fasciola* spp. (Espinoza et al., 2010; Cabada et al., 2018). Sumándose a ello, la distomatosis hepática es una zoonosis parasitaria de importancia en nuestro país, ya que existen reportes de prevalencia del 10% en humanos (Cabada et al., 2018).

Esta problemática puede ser estudiada por epidemiología molecular, explorando patrones de transmisión entre los hospedadores intermediarios (HI) y hospedadores definitivos (HD). Además, se puede obtener información relacionada al incremento de la diversidad genética del parásito (Pereira et al., 2020; Kasahara et al., 2021), clave para una mayor dispersión y adaptabilidad (Dar et al., 2019). Diversos estudios reportan que la confirmación de la especie de *Fasciola* spp. puede ser determinada utilizando los marcadores ITS-1 e ITS-2 del ADN ribosómico (ITS1 e ITS2 del ADNr) (Dar et al., 2019; Kipyegen et al., 2021). Adicionalmente, los marcadores mitocondriales, tales como la subunidad I del gen NADH deshidrogenasa (*nadI*) y la citocromo c oxidasa I (*coxI*), permiten realizar estudios de genética de poblaciones, tales como: parentesco, dispersión geográfica y migración a nivel mundial (Khan et al., 2020).

En el año 2015, se reportó un 59,50 % de prevalencia de fascioliasis bovina en 3 zonas ganaderas de la región Amazonas (Julon et al., 2020). Sin embargo, la muestra estudiada (n = 478) y la metodología de muestreo utilizada no permiten obtener conclusiones confiables. En este contexto, utilizando un diseño experimental más apropiado, la presente investigación permitirá conocer la situación actual de prevalencia de fascioliasis en la ganadería bovina y su impacto en las pérdidas productivas mediante el decomiso de hígados en la región Amazonas. Esto relacionado con el sitio de procedencia de cada animal, el sexo, raza y edad. También, utilizando marcadores moleculares NADH (*nadI*), ITS1 e ITS2; y la Citocromo C Oxidasa I (*coxI*) se podrá inferir sobre aspectos relacionados a la diversidad genética y procedencia de la parasitosis en el ganado vacuno. Adicionalmente, los resultados obtenidos permitirán realizar comparaciones con los

obtenidos en otras regiones del Perú y en otros países y contar con información actualizada. En este sentido, el **objetivo general** de esta tesis de doctorado fue: determinar la prevalencia y caracterizar molecularmente al parásito causante de la fascioliasis y su impacto en el ganado bovino en la región Amazonas. Los **objetivos específicos** fueron: 1) determinar la prevalencia de *Fasciola hepatica* en ganado bovino en las cuencas de Leimebamba y Molinopampa de la provincia de Chachapoyas, La Florida de la provincia de Bongara y Omia de la provincia de Rodríguez de Mendoza; 2) realizar la caracterización molecular de muestras de duelas hepáticas de ganado bovino obtenidas a partir de hígados decomisados en mataderos Municipales; 3) calcular las pérdidas productivas mediante el decomiso de hígados de ganado bovino en el matadero municipal de Chachapoyas, y 4) elaborar una propuesta de desarrollo sustentable para la reducción de incidencia de *Fasciola hepatica* de ganado bovino de la región Amazonas.

1.1.ANTECEDENTES

1.1.1. Epidemiología de la fascioliasis

La fascioliasis es causada por un tremátodo del género *Fasciola* spp., está ampliamente distribuida a nivel mundial y afecta principalmente a bovinos, ovinos, caprinos, porcinos y animales de compañía. Por su alta capacidad de infestar humanos, se convierte en una enfermedad zoonótica (Espinoza et al., 2010; Valderrama, 2016). En el Perú, diversos reportes han mostrado la presencia de esta parasitosis en 21 de las 24 regiones del país. La mayor prevalencia en animales y humanos se encuentra, principalmente, en valles andinos en las regiones de Cajamarca, Arequipa, Junín y Cusco y, por lo general, la infección se da en poblaciones rurales agropecuarias. La relación genética-ambiental es de vital importancia para esta parasitosis, ya que juega un papel fundamental entre el parásito y sus hospedadores. Además, la epidemiología de la fascioliasis está altamente relacionada con el sistema de crianza extensiva del ganado vacuno (Samamé et al., 2016; Valderrama, 2016)

1.1.2. Ciclo de vida de *Fasciola* spp.

El ciclo biológico de vida de *Fasciola* spp. necesita de ciertas condiciones ambientales como: temperatura, humedad y precipitaciones (Perea et al., 2018); teniendo la capacidad de desarrollarse en zonas húmedas, especialmente en abrevaderos, charcos, pantanos y nacientes de agua, lo cual permite el desarrollo del parásito en un rango de temperatura

entre 10 a 30°C. (Bargues et al., 2017). Estas características coinciden con las exigencias ambientales del huésped intermediario. La *F. hepatica* es caracterizada por tener un potencial biótico prolífico, llegando a producir hasta 25 mil huevos en un periodo de tres meses de su ciclo productivo (Perea et al., 2018).

El ciclo de vida (Figura1) se inicia con la expulsión de los **huevos** a través de las heces de animales infectados; luego de la eclosión de los huevos, emerge el **miracidio**, este tiene un lapso de 24 horas de vida; antes de que termine su reserva energética, tiene que encontrar al huésped intermediario, el caracol del género *Lymnea*, como: *L. truncatula*, *L. viator* y *L. columella* (Correa et al., 2010); la familia *Planorbidae* (Hamed et al., 2009) y *Succineidae* (Relf et al., 2009), e introducirse a través de la papila cónica del caracol, la cual se encuentra en el extremo proximal (CDC, 2020). Una vez introducida, inicia la fase de **cercaria** en un periodo de uno a tres meses. Se ha descrito que el paso de miracidio a cercaria depende de la temperatura. Finalmente, la cercaria es liberada del huésped intermediario y se adhiere a las plántulas existentes en el medio, donde se transforma a **metacercaria** (fase Ninfectiva de este parásito). Los mamíferos se infectan al ingerir metacercarias (CDC, 2020; Espinoza et al., 2010). Una vez ingerida la metacercaria, es desenquistada por la acción de la bilis y otros jugos gástricos, dando salida a una **adolescencia** que tiene la capacidad patogénica de atravesar la pared intestinal y llegar al parénquima hepático, periodo de 35 a 42 días. Luego, se dirige hacia el parénquima hepático (Perea et al., 2018), situándose especialmente en los conductos biliares por un periodo aproximado de 90 días, donde alcanza el estadio de **duela adulta**, para dar paso a la ovoposición; los huevos son expulsados a través de las heces al momento de la defecación, dando inicio al nuevo ciclo biológico (Perea et al., 2018; CDC, 2020).

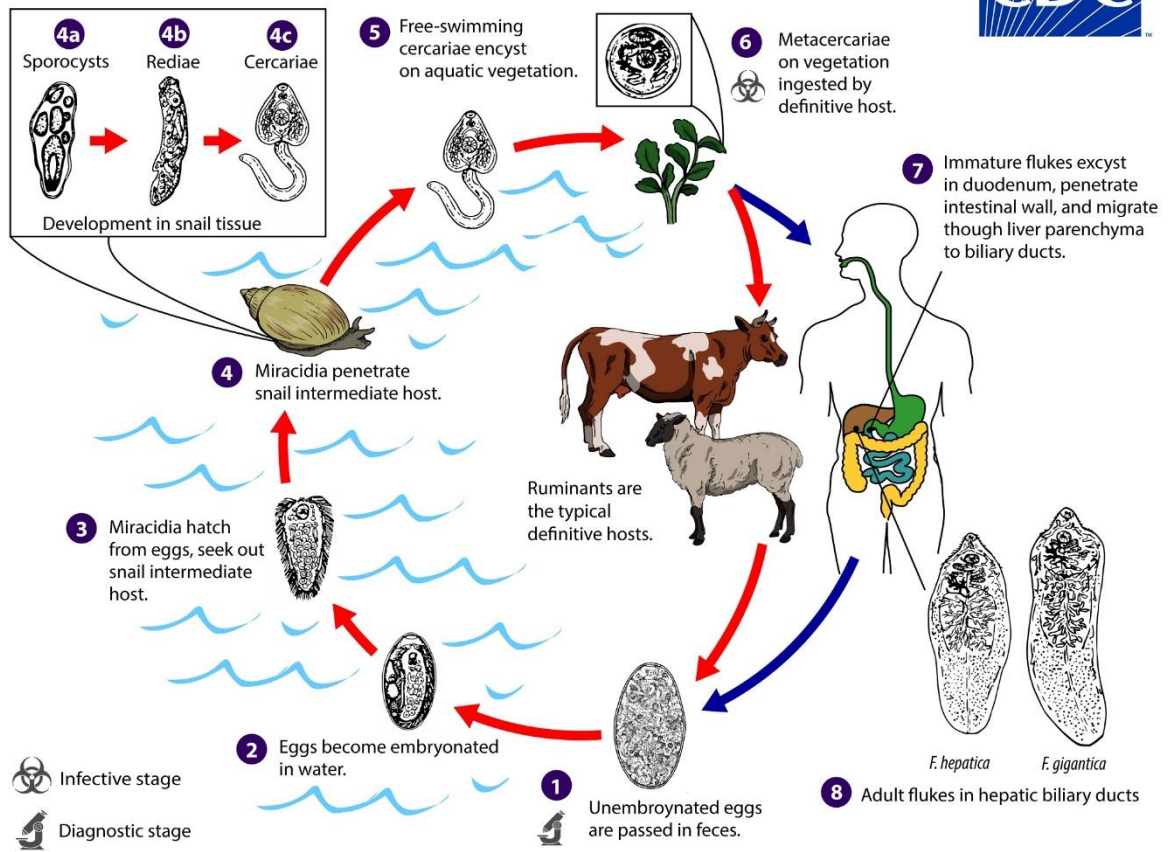


Figura 1. Ciclo biológico de *Fasciola* spp. Fuente: (CDC, 2020).

1.1.3. Distribución de *Fasciola* spp.

La fascioliasis se encuentra distribuida en todo el mundo, con diferentes porcentajes de prevalencia entre regiones y países, condicionada por su diversidad climática (altitud, zonas secas y húmedas, etc). Inicialmente, la dispersión de *Fasciola* spp. se dio por ovinos y caprinos salvajes aproximadamente 6000 años antes de Cristo, tras el periodo de la post domesticación en el continente europeo procedente del oriente medio. Posteriormente, la dispersión se dio al oeste, centro y norte de Europa, Turquía-Grecia y llegó al norte del continente africano en el siglo VIII a.C. (Mas-Coma et al., 2009); reportándose casos de fascioliasis en América en el siglo XIX (Mas-Coma et al., 2009).

1.1.4. Pérdidas económicas mediante decomiso de hígados

Las pérdidas económicas ocasionadas por la fascioliasis pueden ser evaluadas de forma directa, por la cantidad de decomisos de hígados infectados, y de forma indirecta, tras evaluar parámetros de productividad tales como ganancia de peso y producción de leche (Beesley et al., 2018; Khalid et al., 2017). En Latinoamérica, existen algunos estudios que reportan cifras de pérdidas económicas asociadas a fascioliasis en bovinos, como en Brasil, donde se reveló una potencial pérdida de US\$ 45 millones para la industria de carne y US\$ 90,3 millones de pérdida para el estado (Molento et al., 2020). Por su parte, Costa Rica también ha registrado pérdidas económicas estimadas en US \$67,438 por decomisos de hígados bovinos (Rojas y Cartín, 2016). En el Perú, reportes previos estiman que la pérdida económica anual ocasionada por la fascioliasis en bovinos es superior a US\$ 50 millones. Esta aproximación está basada en la información obtenida sobre los decomisos de hígados en mataderos y a reportes de la prevalencia de la enfermedad; teniendo en cuenta que más del 50% de incidencia por fascioliasis se da en rumiantes, entre ellos bovinos y ovinos (Espinoza et al., 2010; Valderrama, 2016). Sin embargo, estos resultados son controversiales porque los datos en que se basan son generalistas y no forman parte de ningún estudio controlado.

1.1.5. Caracterización molecular de *Fasciola* spp.

1.1.5.1. Marcadores moleculares

Los daños hepáticos ocasionados por fascioliasis son preocupantes tanto para la salud humana como para la veterinaria. La fascioliasis es originaria de Europa y Asia donde es producida por las especies de *F. hepatica*, *F. gigantica* y *F. partogenica*, su introducción en las américas es a través del ganado bovino y no se tiene la certeza de qué especie de *Fasciola* spp. es responsable de la enfermedad; por ello, es importante realizar un estudio molecular de esta parasitosis. Hoy en día, existen técnicas moleculares como la PCR (Reacción de la cadena de la polimerasa) y el secuenciamiento de ADN genómico que permiten caracterizar y realizar un diagnóstico a partir de pequeños fragmentos de ADN (Liu et al., 2014). Investigaciones recientes reportaron la utilización de marcadores moleculares para identificar la diversidad genética y la estructura poblacional (definida como desviación de panmixia) de *F. hepatica*. Los marcadores moleculares más utilizados para este tipo de estudios son: el espaciador de transcrito interno ribosómico (ITS), la citocromo c oxidasa I (*coxI*), el fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (*Pepck*) y la

subunidad 1 de la NADH deshidrogenasa mitocondrial (*nad1*) (Carnevale et al., 2017; Dolores et al., 2017; Hayashi et al., 2016; Hodgkinson et al., 2018; Ichikawa-Seki et al., 2016; Rouhani et al., 2017; Sarkari et al., 2017). Utilizando algunos de estos marcadores, se evaluó la diversidad genética de *F. hepatica* en todo el sur de Brasil para determinar su origen geográfico y estimar la ruta de colonización del parásito. El estudio encontró diez haplotipos de Citocromo Oxidasa subunidad I (*cox1*) de 75 parásitos aislados y la diversidad total de haplotipos y nucleótidos observada fue de 0,475 y 0,002, respectivamente. Al usar el gen *nad1*, se encontraron 24 haplotipos en 79 muestras, lo que resultó en valores de diversidad de haplotipos y nucleótidos de 0,756 y 0,004, respectivamente; el análisis de varianza molecular mostró que (57,4% y 77_{ST}), mientras que el 9,0 y el 36,8% de la variación fue entre grupos (F_{CT}) al considerar los genes *cox1* y *nad1*, respectivamente. Para *cox1*, se obtuvieron los valores del índice de fijación de 0,425 y 0,368 para F_{ST} y F_{CT}, respectivamente, mientras que el análisis de *nad1* 0,225 y 0,089 se obtuvieron valores de índice para F_{ST} y F_{CT}. Estos resultados podrían estar sujetos a un movimiento limitado de ganado en Brasil y a la falta de estudios para que se pueda construir una estructura geográfica de la parasitosis en el país (Schwantes et al., 2020).

Chikowore (2019), al secuenciar la región génica del *cox1*, empleando un análisis filogenético en 55 muestras de duelas hepáticas de *F. hepatica* y *F. gigantica*, obtenida de ganado en Sudáfrica, reportaron la identificación de 22 haplotipos de los cuales 18 eran nuevos haplotipos, indicando una alta diversidad genética. Otro estudio realizado en Tailandia empleó los siguientes marcadores genéticos: *nad1*, *cox1* y el espaciador transcrito interno ribosómico nuclear 2 (*ITS2*) para trabajar con muestras de *Fasciola* spp. extraídas de ganado bovino y de humanos, obteniendo resultados sorprendentes en la *ITS2*, debido a que las duelas hepáticas presentaron secuencias mixtas de *F. gigantica* y *F. hepatica* (Wannasan et al., 2014).

1.1.5.2. Haplotipos de *Fasciola* spp.

Para distinguir los diferentes haplotipos de los tremátodos, un grupo de investigadores estudió las secuencias de los genes mitocondriales *cox1* y *nad1* y se compararon con las cepas de referencia. Trabajaron con 31 muestras de duelas hepáticas extraídas de ganado bovino, donde encontraron 10 haplotipos para *cox1* y 5 haplotipos para *nad1*, coincidiendo con haplotipos reportados en Eslovaquia, la República Checa y Croacia. Los

31 individuos de *F. hepatica* podrían agruparse en dos grupos para *cox1* y en tres grupos diferentes para *nad1*, por lo que el haplotipo *cox1* y *nad1* más común fue encontrado en 21 individuos, seguido de 10 individuos para *cox1* y 9 individuos para *nad1* (Husch et al., 2020). El mismo estudio indica que la población austriaca de *F. magna* es bastante homogénea e incluso podría ser el resultado de una sola introducción en Austria, mientras que la población austriaca de *F. hepatica* es más diversa (Husch et al., 2020).

En Australia, (Elliott et al., 2014) estimaron la diversidad genética de las duelas *F. hepatica* mediante secuenciamiento de ADN mitocondrial (ADNmt), utilizando los genes *nad1* (530 pb) y *cox1* (420 pb) de 208 duelas recolectadas de bovinos y ovinos. El estudio indica que se establecieron dieciocho haplotipos distintos para el gen *nad1* y seis haplotipos para el gen *cox1*, lo que resultó en niveles de diversidad de haplotipos de 0,832 y 0,482, respectivamente (Elliott et al., 2014). Además, el análisis de las infrapoblaciones resistentes al triclabendazol (TCBZ) de 3 bovinos independientes que pastorearon en una propiedad reveló una considerable diversidad de secuencias en los parásitos entre bovinos. El análisis de las infrapoblaciones resistentes a TCBZ de parásitos de ovejas y ganado reveló haplotipos únicos para cada huésped, pero no hubo diferencias significativas entre las poblaciones de parásitos; el primer análisis de las poblaciones de duelas hepáticas reveló poca diferenciación entre las poblaciones resistentes y de campo (Elliott et al., 2014).

En Argentina, se encontraron un total de 6 haplotipos para *cox1*, 4 haplotipos para *nad4* y 3 haplotipos para *nad5* al caracterizar *F. hepatica* de 22 duelas adultas (Carnevale et al., 2017). De igual manera, Ichikawa-Seki et al. (2016) en Cajamarca, Perú, empleó ADN nuclear, mitocondrial de *F. hepatica* de diferentes hospedadores (bovino, ovino y porcino), donde reportaron ocho haplotipos de *nad1* sin que se evidencie una estructura genética específica entre hospedadores definitivos (Ichikawa-Seki et al., 2016).

1.1.6. Estrategias sostenibles para el control de fascioliasis

1.1.6.1. Aplicación de lectinas para controlar la fascioliasis

El control de la fascioliasis en países desarrollados se ha dado gracias a la inversión en educación, sanidad agropecuaria, buenas prácticas ganaderas, y control de los hospederos (Becerra, 2001). Sin embargo, en los países en vías de desarrollado es difícil implementar los métodos antes descritos por la limitación de la economía, dado que es inestable,

además las conductas sociales y condición de vida están asociadas a una complejidad de los parásitos, dificultando la eliminación de la enfermedad emergente (Ocampo et al., 1992). La Organización de las Naciones Unidas de la Alimentación y la Agricultura, Organización Panamericana de la Salud y la Organización Mundial de la Salud están sumando esfuerzos para controlar y/o eliminar este parásito, pero al día de hoy han resultado poco eficientes por diversos motivos (Becerra, 2001).

El uso de productos de origen vegetal, como la aplicación de extractos de plantas, es una alternativa amigable con el medio ambiente para combatir la fascioliasis. La aplicación de extractos de plantas como *Allium sativum*, *Lawsonia inermis* y *Opuntia ficus* en concentraciones de 2,5 y 5% ha mostrado tener efecto fasciolicida; sin embargo, es necesario realizar estudios de su potencial antihelmíntico a nivel de control de parasitosis en el campo (Jeyathilakan et al., 2012). Otra aproximación relevante es la utilización de componentes de las plantas, tales como las lectinas, dado que al ser glicoproteínas con capacidad de aglutinar otras proteínas, su interacción con la proteasa Catepsina de *F. hepatica* juvenil recién extinguida (NEJ), funciona como un mecanismo de barrera para la penetración en el intestino delgado (Becerra, 2001). Además, el uso de lectinas vegetales está involucrado en el combate de enfermedades inflamatorias como la hepatitis, inflamación del intestino, diabetes y la enfermedad celíaca (Wang et al., 2020) y otras actividades biológicas antivirales, antitumorales, nociceptivas e insecticidas (Wang et al., 2020).

1.1.6.2. Manejo de pastizales e instalaciones

La actividad ganadera se ha incrementado notablemente debido a su rentabilidad, a la demanda cada vez más creciente de alimentos de origen animal y a los avances en el bienestar animal (Estévez-Moreno et al., 2020; Thornton, 2010). Sin embargo, aún existen problemas que resolver, uno de ellos es la presencia de tremátodos de la familia fasciolidae, que afecta constantemente al ganado (Pinilla et al., 2020). Para el control se están implementando estrategias de pastoreo, tales como el pastoreo rotacional, que consiste en ingreso de bovinos al potrero en un determinado periodo y luego se traslada al bovino a otro potrero (Voinot et al., 2020). En un estudio aplicando la rotación de potreros (4 días de pastoreo por potrero), después de una tercera rotación, se redujo en un 50% la presencia de parásitos gastrointestinales y en 80% a partir de la novena rotación (Voinot et al., 2020).

1.1.6.3. Aplicación de hongos para combatir la fascioliasis

Frente a las múltiples estrategias para controlar la fascioliasis, se han descrito alternativas de control biológico. Un ejemplo exitoso es la aplicación de hongos hematófagos y ovicidas para el control de la fascioliasis (Braga y De Araújo, 2014). La aplicación de los hongos, tanto en la alimentación como su dispersión en el medio ambiente contaminado por huevos del parásito, es una alternativa promisorio. Dias et al. (2013), realizaron un ensayo donde trabajaron con dos grupos de bovinos (6 animales por grupo), el grupo 1 fue el control y el grupo 2 fueron animales tratados con hongos (y otro micelio de *Pochonia chlamydosporia*), donde reportaron que los hongos redujeron en un 67% la presencia de huevos en las heces, además se observó ganancia de peso de más de 17Kg comparado con el grupo control (Dias et al., 2013). Un segundo ejemplo es la aplicación *in vitro* e *in vivo* de micelio de *Pochonia chlamydosporia*, incluida en la dieta del equino y otro grupo de nuestra fue cultivada en placas Petri, donde ambos resultados mostraron una respuesta positiva como ovicidas para los huevos de *Oxyuris equi* (Braga et al., 2010), estos resultados son similares a lo reportado por Dias et al. (2012), quienes aplicaron *Pochonia chlamydosporia* sobre las heces infestados con huevos de *F. hepatica*. Además, se ha observado que la aplicación de 1 g de *P. chlamydosporia* por cada 10 kg de peso vivo (pv) del animal en la formulación de pellets, reduce la biodisponibilidad de los huevos de *F. hepatica* (Dias et al., 2013). También, se ha mostrado que otros hongos miceliales pueden ser buenos controladores de parásitos. La ingesta de alimento paletizado comercial y pellets fabricados con hongos parasiticidas en concentración de 3×10^5 de clamidosporas de *Mucor circinelloides* y *Duddingtonia flagrans* / kg pelet, previene la infección de helmintos en ganado al pastoreo (Voinot et al., 2020). Y la aplicación de esporas de hongo *Mucor circinelloides* directamente sobre las heces de terneros con antecedentes de fascioliasis logró reducir en 74% la cantidad de huevos (Cortiñas et al., 2015). Sin embargo, se debe tener en cuenta las diferencias anatómicas que presentan los huevos de diferentes spp. de tremátodos, por lo que se debe justificar la acción de la actividad ovicida del hongo.

En cuanto a la biología de la *Fasciola* spp., la eclosión de los huevos sucede después de dos semanas, siempre y cuando existan condiciones agroclimáticas favorables; en huevos de *Fasciola* spp., el efecto ovicida del hongo *P. chlamydosporia* ocurre después de 12 h, por lo que se muestra su eficacia en combatir dicha enfermedad, dejando clara su contribución en la reducción de la contaminación ambiental por la eliminación de los

huevos del parásito (Dias et al., 2012). Los extractos brutos que son derivados de hongos hematófagos de grupos depredadores y ovicidas reducen la cantidad de larvas de nemátodos gastrointestinales y previenen la eclosión de sus huevos, ya que se ha demostrado que actúan con proteasas extracelulares y otras enzimas (Braga y Araújo, 2014).

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Material de estudio: prevalencia de fascioliasis

Se colectaron muestras de heces de bovinos de las cuencas ganaderas de Leimebamba (n=364), Molinopampa (n=367) de la provincia de Chachapoyas; La Florida (n=366) de la provincia de Bongara y Omia (n=367) de la provincia de Rodríguez de Mendoza (Figura 3, Anexo 1). Sin embargo, se incrementó el número de muestras en 20 para Leimebamba, 17 para Molinopampa y 233 para La Florida. Se tomó en consideración las características fenotípicas del bovino, características geográficas del fundo y el sistema de alimentación (Anexo 2). La muestra se determinó en función a la población total de las cuencas ganaderas reportadas en el Censo Agropecuario del año 2012 (INEI,2012), empleando la fórmula de poblaciones finitas (Louangrath, 2014):

$$n = \frac{N * Z^2 * p * q}{d^2 * (N - 1) + Z^2 * p * q}$$

Donde:

N: Población total

Z: 1.96 al cuadrado (si la seguridad es del 95%)

p: Proporción esperada (en este caso 5% = 0.05)

q: 1 - p (en este caso 1 - 0.05 = 0.95)

d: precisión (5%).

Se colectaron 50 g de heces directamente del recto por cada animal y se colocaron en bolsas herméticas estériles con sus respectivos códigos de identificación. Las muestras luego fueron transportadas en cajas de refrigeración de 50 litros en gel refrigerante a una temperatura de 4°C al laboratorio de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias de Animales Domésticos de la UNTRM.

La evaluación microscópica se realizó por el método de sedimentación. Para ello, se colocaron 10 g de heces en 30 mL de agua destilada en un tubo falcon de 50mL. Se diluyó, homogenizó y filtró. El sedimento resultante fue pasado a un tubo de 15 mL. Se dejó reposar por 30 min y luego se descartó el sobrenadante. En una lámina porta objetos, se colocaron tres gotas del sedimento, luego se cubrió con un cubre objetos y se observó a

un aumento de 10X y 40X en microscopio (Rojas, 2004). Se consideró una muestra positiva cuando se observó un huevo típico de *Fasciola* de forma ovoide de color amarillo, con opérculo y de 70 a 120 μm (Figura 2).

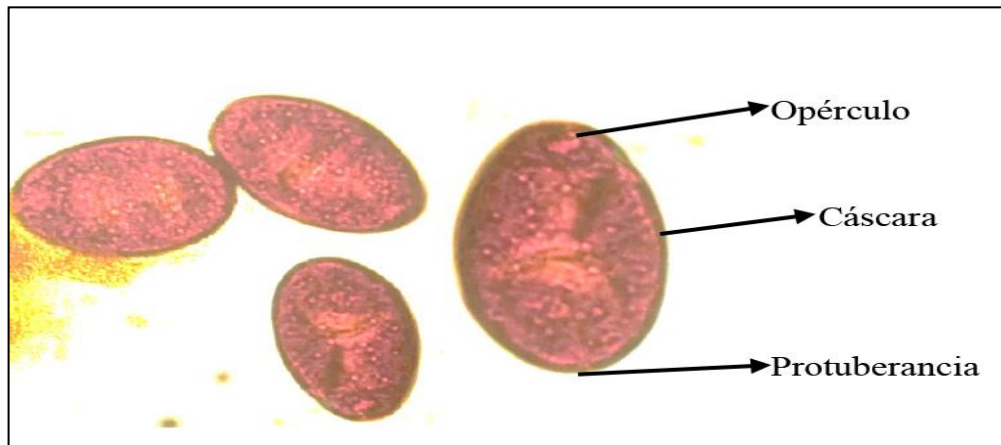


Figura 2. Fotografía microscópica del huevo de *Fasciola* spp. indicando sus partes

Ámbito de estudio

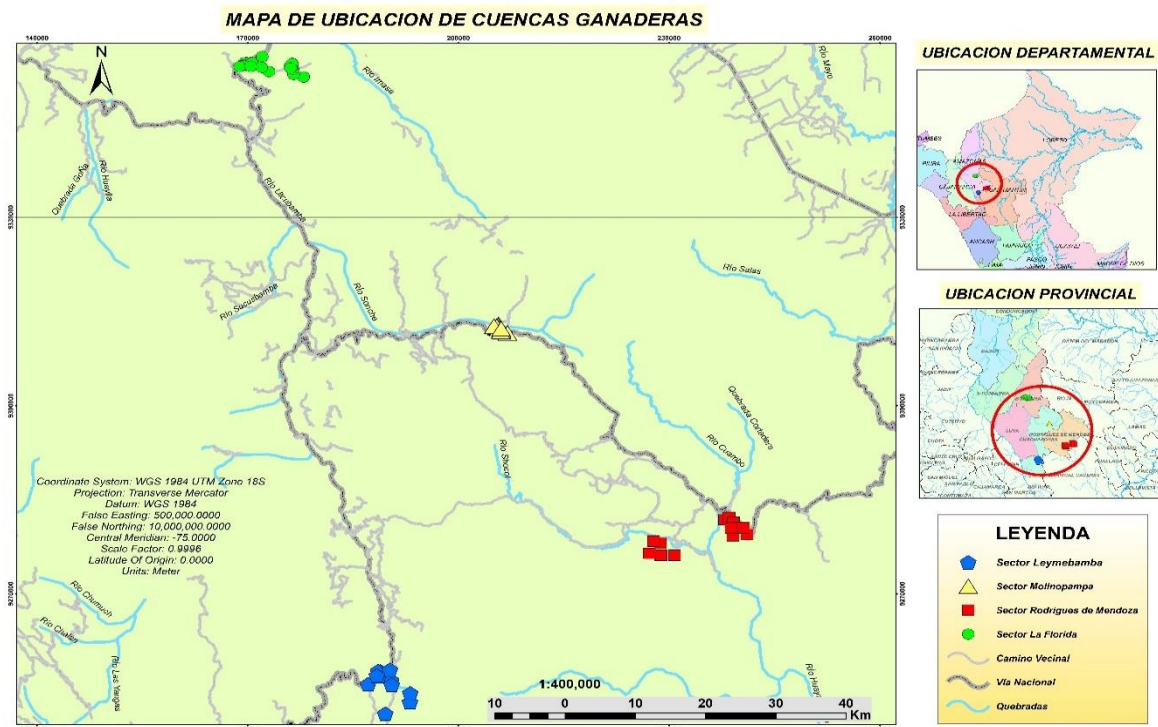


Figura 3. Mapa de Ubicación geográfica de las cuencas ganaderas donde se colectaron las muestras de heces bovinas. En la leyenda muestra el sector representado por un color específico.

2.2. Material de estudio: prevalencia de fascioliasis por decomiso de hígado

Para estimar la prevalencia total, mediante decomiso de hígado de ganado bovino en el matadero municipal de Chachapoyas, se realizó una inspección macroscópica *post mortem* de hígados en bovinos faenados en las instalaciones del matadero municipal de Chachapoyas. Se consideraron las características fenotípicas del bovino (Anexo III, Ítem 1). La muestra fue el total de la población de bovinos que ingresó a faena en los meses de estudio que comprendió de junio a diciembre de 2020 (Figura 4).

Fórmula:

$$\%P = \frac{\text{N}^\circ \text{ de bovinos beneficiados que presentaron duelas de } Fasciola \text{ spp.}}{\text{Total, de N}^\circ \text{ de bovinos beneficiados}} \times 100$$

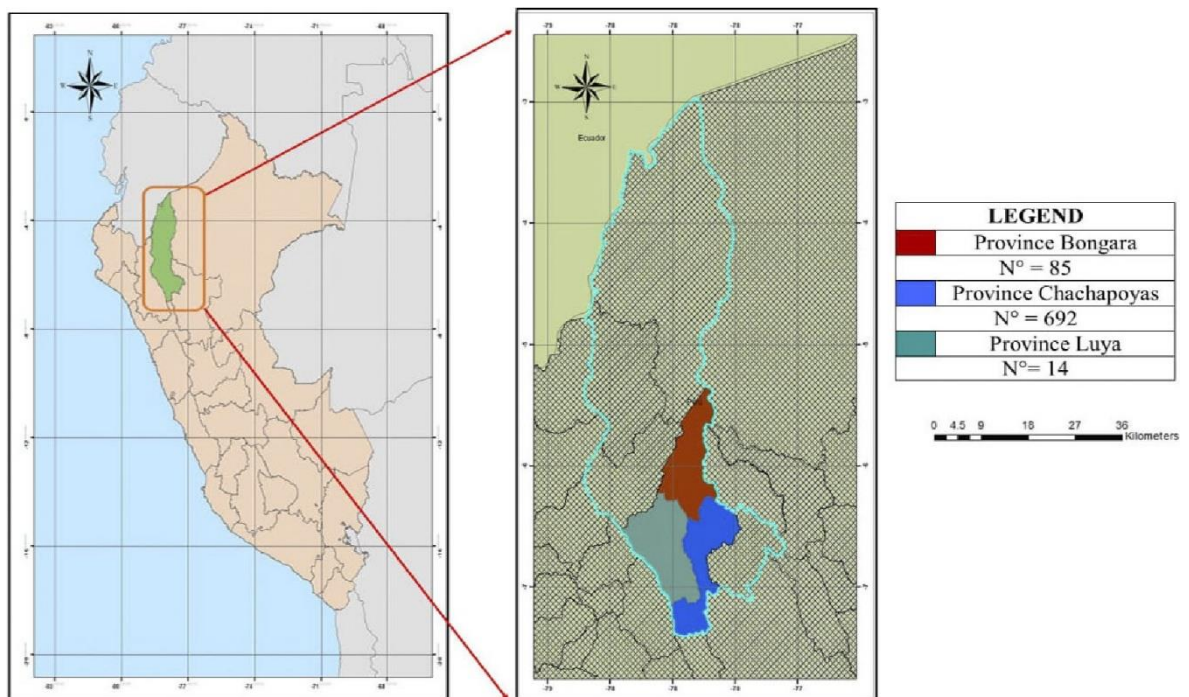


Figura 4. Mapa de Ubicación geográfica del lugar de procedencia de los bovinos que ingresaron al matadero municipal de Chachapoyas de junio a diciembre 2020. (Díaz-Quevedo et al., 2021).

2.3. Análisis de datos

Se determinó la prevalencia de fascioliasis en muestras coprológicas y en hígado decomiso de ganado bovino mediante estadística descriptiva. La prevalencia se determinó según cuenca ganadera, lugar de procedencia, características fenotípicas del bovino (raza, sexo, categoría animal), características geográficas del fundo (área total del fundo, número total de animales por fundo, fuente de agua) y sistema de crianza se determinó mediante pruebas de Chi-cuadrado ($p < 0,05$). Se usó la prueba V Cramer para determinar el índice con valor máximo (que indica la mayor asociación entre variables) igual a 1 (el valor mínimo es 0, que indica no asociación) índice con valor máximo (que indica la mayor asociación entre variables) igual a 1 (el valor mínimo es 0, que indica no asociación) y la prueba de Lambda se usó para determinar el grado de pronosticación de la variable dependiente (valor igual a 1, indica que la variable independiente pronostica perfectamente la variable dependiente. Un valor igual a 0 significa que la variable independiente no ayuda a pronosticar la variable dependiente) (Siegel y Castellan, 1972). Los factores de riesgo (Odds) para el parásito con las variables en estudio se realizaron mediante la prueba de regresión logística binaria y los intervalos de confianza del 95% en base al valor Exp (β), con un nivel de significancia del 5% (Pinilla et al., 2020a). Los odds ratios fueron determinados luego de aplicar la ficha de datos al productor de cada hato ganadero al momento del muestreo. Al término del muestreo, se obtuvieron 60 fichas y los datos se basaron en raza bovina, sexo, edad, área total del fundo, número total de animales por fundo fuente de agua para bebida y sistema de crianza. Los análisis se desarrollaron en SPSS vs27 y Stata.

2.4. Material de estudio: caracterización molecular de *Fasciola* spp.

Se colectaron 100 duelas de *Fasciola* spp. al azar a partir de hígados decomisados de ganado bovino: 50 del matadero municipal de Chachapoyas y 50 del matadero municipal de Rodríguez de Mendoza. Además, se colectaron 2 muestras de duelas a partir de hígados de ganado ovino. También se colectaron 8 muestras de heces de ganado bovino seleccionados intencionalmente de muestras procedentes del distrito de Omia (Figura 5). Las duelas hepáticas fueron lavadas, conservadas y envasadas en tubos de centrifuga de 15ml en suero fisiológico al 0,9% de NaCl. Las muestras se trasladaron a 5°C con gel refrigerante en un *cooler* de 20 l al Laboratorio de Fisiología Molecular de la Universidad

Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza para ser conservadas a -80°C en una ultracongeladora. Las muestras de heces se colectaron y transportaron al laboratorio de acuerdo a lo descrito en la sección 2.1.

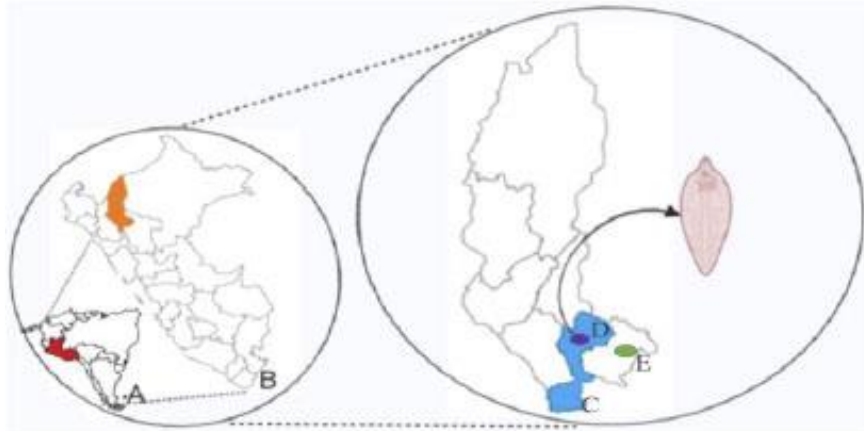


Figura 5. Mapa de Ubicación geográfica del lugar de procedencia de las muestras de *Fasciola spp.*, A. Ubicación del Perú en América del Sur; B. Ubicación de la región Amazonas; C. Provincia de Chachapoyas; D. Matadero municipal de Chachapoyas; E. Distrito de Omia.

2.5. Extracción de ADN de tejido de duelas

Las duelas fueron descongeladas a temperatura ambiente durante 2 h, cada duela fue vertida en una placa Petri y se lavó con agua ultrapura. Luego, con una pinza y una hoja de bisturí se extrajeron de 0,20 a 0,25 mg de tejido y se colocaron en tubos estériles de 2 mL. La extracción se realizó siguiendo las indicaciones del Kit comercial QIAamp® DNA Mini kit 250 (QIAGEN, Alemania). (Figura 6), que principalmente consiste en los siguientes pasos:

- a) Lisis de la muestra, se agregó 20 μL de proteinasa K y 180 μL de Buffer ATL, luego se agitó por 30s en vórtex (LABNET, Labnet International, EUROCORD, México) y se dejó incubar a 56°C por 12 h (overnight).
- b) Los tubos fueron centrifugados a 8000 rpm por 30s y se añadió 200 μL de buffer AL a la muestra; se centrifugaron nuevamente a 8000 rpm por 30s e incubaron a 70°C por 10 min.

- c) Después de este periodo de incubación, los tubos fueron centrifugados a 8000 rpm por 30s y se adicionaron 200 μ L de Etanol de grado analítico. Se agitó en vórtex por 30s. Seguidamente, se traspasó cuidadosamente la mezcla de cada tubo a una columna de separación con su respectivo tubo recolector y se centrifugó a 8000 rpm x 1min.
- d) Seguidamente, se trasladó la columna a otro tubo recolector y se añadió 500 μ L de solución de lavado AW1, luego se centrifugó (Hettich, mikro 200R, Alemania) a 8000 rpm por 1 min.
- e) Posterior a ello, se trasladó la columna a otro tubo recolector y se agregó 500 μ L de solución de lavado AW2, se centrifugó a 14000 rpm por 3 min.
- f) Luego, se trasladó la columna a un tubo de microcentrífuga y se centrifugó a 14000 por 1 min, sucesivamente se trasladó la columna al tubo de microcentrífuga de 1.5 mL, se añadió 200 μ L de buffer AE y se incubó por 5min a temperatura ambiente.
- g) Una vez terminada la incubación se centrifugó a 8000 rpm x 1min, se desechó la columna y se almacenó el eluido a -20°C , obteniendo un volumen final de 200 μ L.

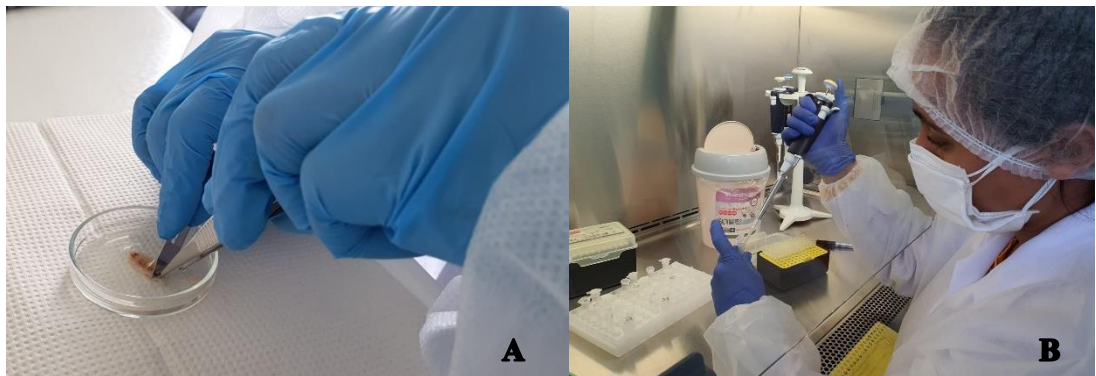


Figura 6. Extracción de ADN de tejido de *Fasciola* spp. A. Extracción de tejido; B. Traslado del volumen final de ADN a tubos estériles de 2mL previamente codificado.

2.6. Extracción de ADN de huevos de *Fasciola* spp.

Se trabajó con 8 muestras de heces ya sedimentadas de las muestras correspondientes al objetivo 1 de la investigación. Se procedió a realizar la extracción de ADN de huevos de

Fasciola spp., donde se estandarizó y modificó el protocolo del Kit comercial QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (50), empleando shock térmico por 15 min y sonicación para romper los huevos por un tiempo de 30min.

- a) Se agregó 200 μ L de muestra sedimentada en un tubo de microcentrífuga de 2 mL, luego se centrifugó a 13000 rpm por 5min y se eliminó el sobrenadante
- b) Se agregó 200 μ L de inhibitex buffer al 1% más 15 μ L de proteinasa K, se congeló a -20°C por 12 horas.
- c) Seguidamente se realizó shock térmico a 70°C en baño maría (BIBASE, Digital Ultrasonic Cleaner, UC-30^a, China) por 15min (agitando la muestra a los 5min por 30s) y sonicación por 30min a 70°C . (Figura 7).

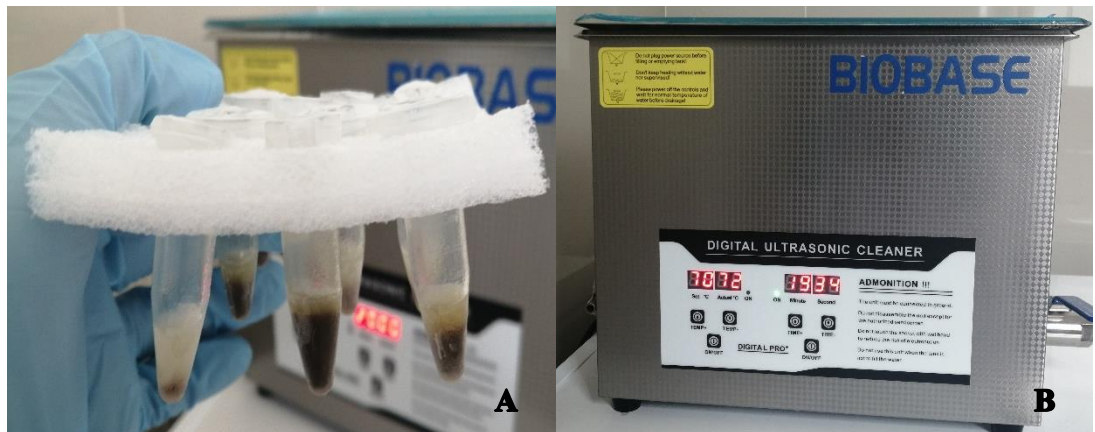


Figura 7. Procedimiento para el shock térmico. A: muestras congeladas de heces de ganado bovino infectados en huevos de *Fasciola* spp.; B. Baño maría con temperatura de 70°C para el shock térmico.

- d) Se agregó 200 μ L de Buffer AL más 15 μ L de proteinasa K y se incubó a 70°C por 10min, luego se agitó en vórtex y se centrifugó a 8000 por 30s.
- e) Se agregó 200 μ L de etanol puro y se agitó en vórtex, luego se trasladó todo el contenido a un tubo con columna y filtro y se centrifugó a 13000 rpm por 1min.
- f) Se trasladó la columna a un tubo recolector y se añadió 500 μ L de solución de lavado AW1 y se centrifugó a 13000 rpm por 1min.

- g) Luego se agregó 500 μL de solución de lavado de AW2 y se centrifugó a 13000 rpm por 3 min, luego se trasladó la columna a un tubo de microcentrífuga con tapa de 1.5 mL, se añadió 100 μL de buffer de ATE y se incubó por 5 min a temperatura ambiente.
- h) Se centrifugó a 13000 rpm por 1min, se desechó la columna y se guardó el eluido a -20°C .

2.7. Amplificación del ADN

2.7.1. PCR Convencional

El ADN extraído fue diluido, quedando una concentración de $28\text{ng}/\mu\text{L}$, para luego ser amplificado mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en un termociclador Applied biosystems by life technologies. (Figura 8).



Figura 8. Mix PCR y amplificación A. Mix PCR; B. Colocación de las muestras del mix PCR en el termociclador.

2.7.2. Amplificación de ADN de la región Ribosomal ITS1+ITS2 de *Fasciola* spp.

Se amplificó la región Ribosomal ITS 1+ITS2 de 2030 pares de bases para lo cual diseñamos primers forward 5'-CATTGTATGGCGGTGTTAG-3' y reverse (5'-CGTTACTAAGGGAATCCTGG-3'); esta región se empleó con la finalidad de confirmar la especie de *Fasciola* spp. que circula en la región Amazonas. El kit empleado para la PCR fue Invitrogen, Thermo Fisher Scientific (Life Technologies do Brasil) y se trabajó con un volumen de reacción de 30 μL por muestra, los volúmenes por reacción

fueron: 0,16 μL de Taq Polimerasa 5 U/ μL , 3 μL de Buffer PCR, 0,24 μL de dNTPs 25uM, 1,5 μl de cada primer 10 μM , 1,2 μL de MgCl_2 50mM, 1 μL de ADN y 21,26 μL de agua ultra pura. El perfil de temperatura en el termociclador comprende 3 fases: desnaturalización, hibridación y extensión (Figura 9). Se incluyeron, por cada corrida, controles de extracción de ADN y controles del mix PCR, estos controles no contienen ADN.

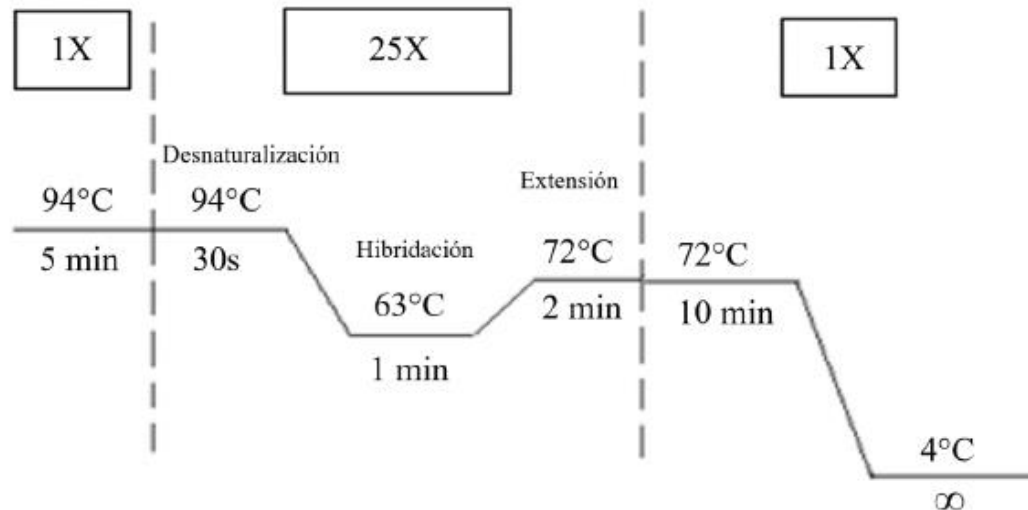


Figura 9. Perfil de temperatura en el termociclador para la región Ribosomal ITS1+ITS2 de 2030pb.

2.7.3. Amplificación de una región del gen mitocondrial *nad1*.

Se amplificó una región del gen mitocondrial NADH de 2930 pb, para la cual se diseñaron primers forward (5'-TGGAGTTGGCTACAAGGGTA-3') y reverse (5'-CCCCAGAAATACCGACGAAG-3'), generados en el Laboratorio de Enfermedades Tropicales-UNTRM. Para la PCR se empleó el kit de Invitrogen, Thermo Fisher Scientific (Life Technologies do Brasil); se trabajó con un volumen de reacción de 30 μL por muestra. Los volúmenes por reacción fueron: 0,16 μL de Taq Polimerasa 5 U/ μL , 3 μL de Buffer PCR, 0,24 μL de dNTPs 25uM, 1,5 μl de cada primer 10 μM , 1,2 μL de MgCl_2 50mM, 1 μL de ADN y 21,26 μL de agua ultrapura. El perfil de temperatura en el termociclador comprende 3 fases: desnaturalización, hibridación y extensión (Figura 10). Se incluyeron, por cada corrida, controles de extracción de ADN y controles del mix PCR, estos controles no contienen ADN.

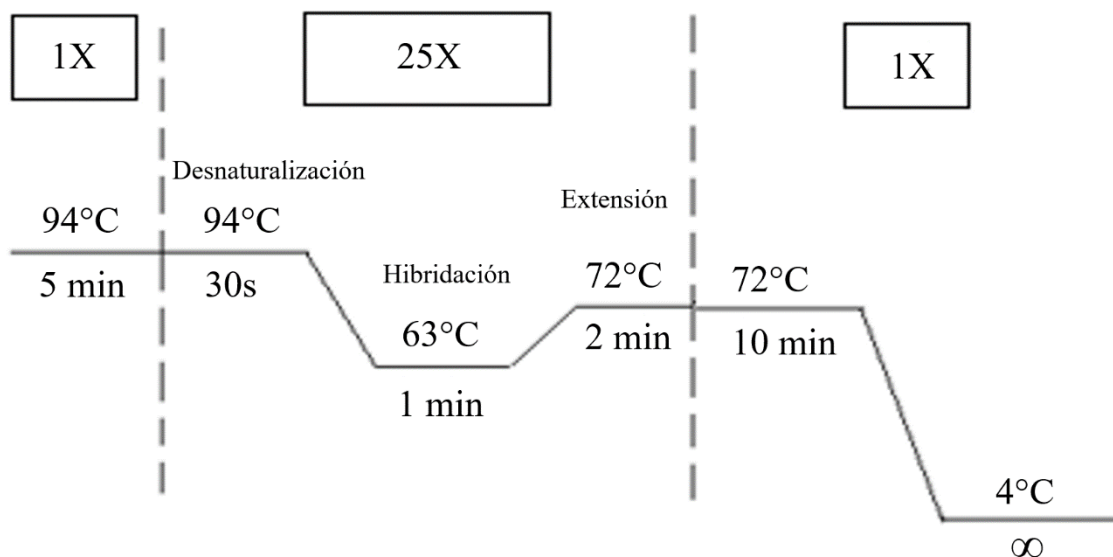


Figura 10. Perfil de temperatura en el termociclador para una región del gen mitocondrial nad1 de 2930 pb.

2.7.4. Amplificación del fragmento del gen citocromo oxidasa (*cox1*)

Se amplificó el fragmento del gen **citocromo oxidasa *cox1*** de 493 pb, utilizando los primers forward (5'-ACGTTGGATCATAAGCGTGT-3') y reverse (5'-AGAGCAGCCAAAAACACCT-3') según Ichikawa-Seki et al. (2016). Para la PCR se empleó el kit de Phusion® High – Fidelity DNA Polimerase (New England BioLabs® inc.), se trabajó con un volumen de reacción de 30 μ L por muestra. Los volúmenes por reacción fueron: 0,5 μ L de Taq Polimerasa 2U/ μ L, 6 μ L de Buffer 5X PCR, 0,48 μ L de dNTPs 25Mm, 1,2 μ L de cada primer 10 μ M, 1,2 μ L de MgCl₂ 50mM, 1 μ L de ADN diluido 1:10 y 21,26 μ L de agua ultrapura. El perfil de temperatura en el termociclador comprende 3 fases: desnaturalización, hibridación y extensión (Figura 11). Se incluyeron, por cada corrida, controles de extracción de ADN y controles del mix PCR, estos controles no contienen ADN.

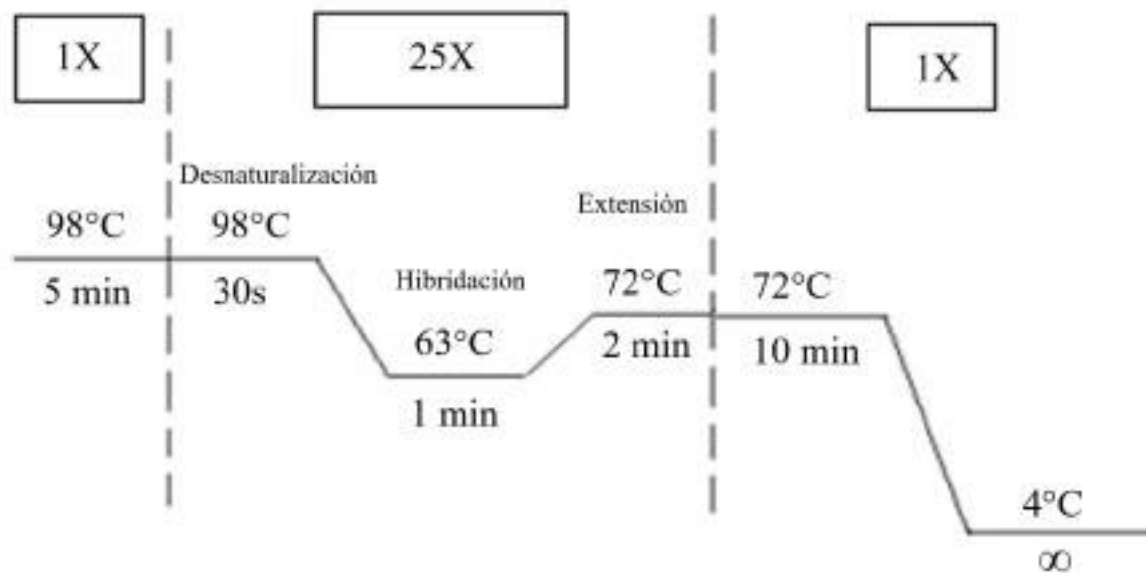


Figura 11. Perfil de temperatura en el termociclador para el fragmento del gen citocromo oxidasa cox1 493pb.

2.8. Electroforesis

2.8.1. Preparación del gel de agarosa

La corrida de los productos amplificados se realizó en geles de agarosa; se prepararon con solución de agarosa al 2% en buffer TAE 1X. 1,5 g de agarosa en 75 mL de TAE 1X, cantidad que va regido según tamaño de cubeta empleado; se homogenizó la solución en un frasco de 250 mL. Luego se llevó al microondas por 1 min y 50seg. Dejamos reposar por 50seg a temperatura ambiente y se añadió 8 μ L de Safe view plus, luego se vertió en la cubeta para la gelificación.

2.8.2. Carga en gel de agarosa de los productos generados por PCR

La amplificación (30 μ L) se obtuvo en cada uno de los productos generados por PCR, se separaron (10 μ L) para la electroforesis en gel de agarosa teñida con Safe ViewTM Plus Nucleoic AcidStain (abmTM, Applied Biological Materials inc, Canada); se trabajó con buffer de carga DNA Loadig Dye (abmTM, Applied Biological Materials inc, Canada) como colorante de corrida del producto amplificado. El voltaje usado fue de 75 v durante 60 min (Figura 12).



Figura 12. Carga de productos amplificados en gel de agarosa. A. Mezcla con 2mL de Buffer de carga de DNA (Loadig Dye); B. Carga del producto PCR en el gel de agarosa.

2.8.3. Revelado

Se realizó empleando el transiluminador UV de luz azul (Safe Imager, Invitrogen). El cual permite visualizar bandas que dan un aproximado al peso molecular del producto.

2.9. Secuenciación y análisis

Las amplificaciones obtenidas mediante la PCR fueron purificadas con ExoSAP-IT™, luego fueron secuenciadas utilizando el kit de secuenciación BigDye terminator v3.1 cycle (Applied Biosystem, Foster City, CA), se emplearon primers adicionales para el fragmento del gen (NADH) - *nad1*-Ita10 forward (5'-AAGGATGTTGCTTTGTCGTGG-3') y *nad1*-Ita10 reverse (5'-GGAGTACGGTTACATTCACA-3') y para el fragmento del gen *cox1* se emplearon los mismos primers empleados en las reacciones de la PCR según Ichikawa-Seki et al. (2016). Cada región fue secuenciada en el secuenciador automático Analizador genético 3500 (Applied Biosystems) empleando ambos brazos de primers. Las secuencias fueron analizadas y alineadas usando el programa Clustal Omega (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/>) y luego cada secuencia se envió a GenBank, donde nos proporcionarían códigos de accesos para su identificación. Seguidamente fueron comparados con otros estudios reportados en la base de datos del NCBI. (Figura 13).

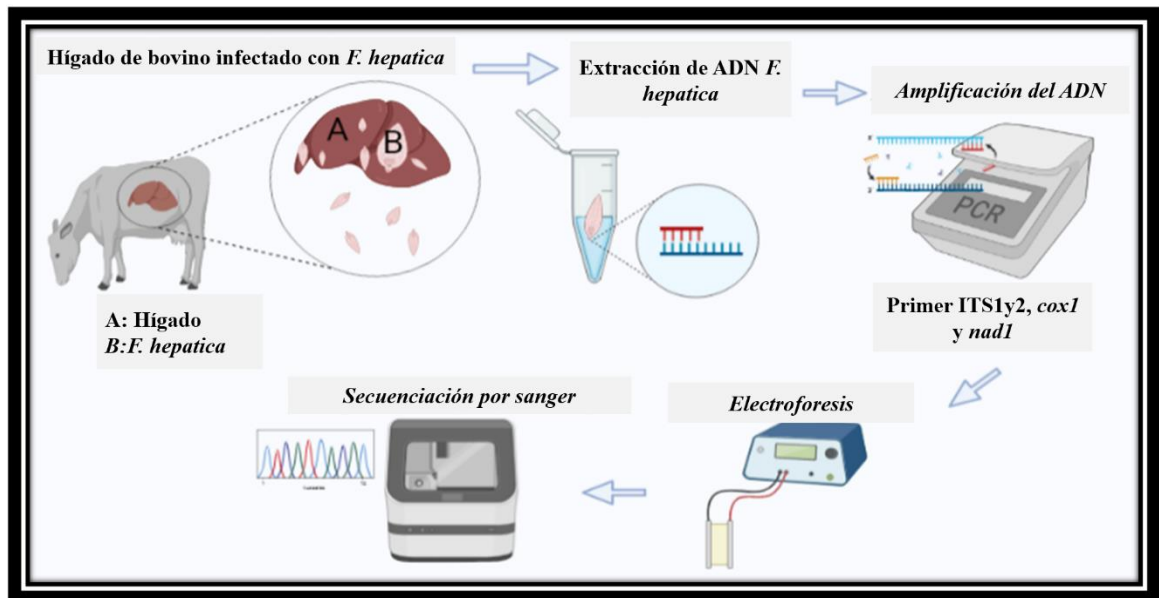


Figura 13. Figura modificada de la fase experimental caracterización molecular (Díaz-Quevedo et al., 2021).

2.10. Análisis de datos

Para la identificación de sitios polimórficos y haplotipos, se empleó el número total de posiciones por cada secuencia y diversidad nucleotídica (π). Todas estas evaluaciones se realizaron utilizando el software DNAsp v5. Asimismo, se incluyeron secuencias de *F. hepatica* reportadas anteriormente en la base de datos del GenBank procedentes de América del Sur como Brasil (MK838698; MK838765.1; MK838764.1; MK838763.1; MK838762.1; MK838761.1; MK838760.1; MK838757.1; MK838755.1; MK838749.1; MK838744.1; MK838742.1; MK838741.1; MK838739.1; MK838737.1; MK838736.1; MK838735.1; MK838734.1; MK838733.1; MK838732.1; MK838731.1), Uruguay (AB207154), Ecuador (LC273117.1; LC273132.1; LC273130.1; LC273129.1; LC273126.1; LC273124.1; LC273120.1; LC273118.1) y Perú (LC070668; LC070672; LC070666; LC070667), América del Norte como USA (NC_002546); Europa como España (LC469054; LC469078; LC469053; MW867319.1; MW867321.1), Italia (JF824675; JF824678), Australia (AB207155) y Asia como Japón (AB207169), Irán (GQ175362), China (AB477360), (AB477364: China: *F. gigantica*) referente al gen parcial de *nad1* y para el gen parcial de *cox1* países de América del Sur como Uruguay (AB207170), países de Europa como España (MW867312.1; MW867313.1; MW867310.1), Poland (KR422385.1), países de Asia como Japón (AP017707.1;

AP017707.1) e Irán (KR422380.1), adicionalmente se incluyó el código de referencia de *F. gigantica* procedente de Irán (MG987190.1).

2.11. Población, muestra y muestreo de pérdidas productivas mediante decomiso de hígado

Se trabajó con todos los hígados de la población bovina beneficiada en el matadero municipal de Chachapoyas en el periodo de junio a diciembre de 2020. La inspección sanitaria del hígado se realizó con la ayuda del Médico Veterinario de acuerdo al Reglamento de Faenado de Animales de Abasto N° 015-2012-AG del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA, 2012). Se observó de forma directa la presencia del parásito, grado de infestación parasitaria y daños del parénquima hepático. El grado de infestación se clasificó en cuatro niveles (Figura 14).

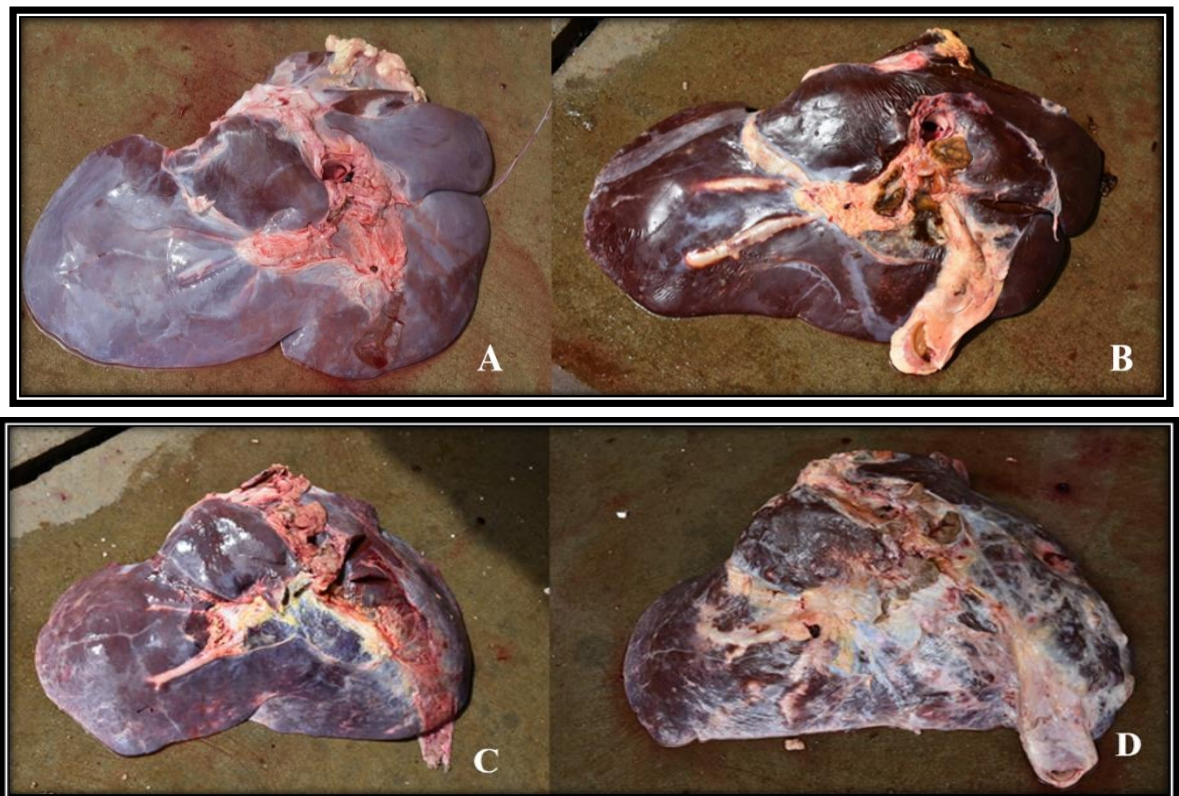


Figura 14. Hígado de ganado bovino según grado de infestación por fascioliasis.

A.- Sano. Hígado sin presencia de fasciola. **B.- Leve.** Al determinar la infección por *Fasciola* spp. en el hígado del bovino, se puede describir en base a lesiones anatómicas e histopatológicas desarrolladas en los lóbulos hepáticos, que presentan un aumento de consistencia, engrosamiento de los ductos hepáticos y leve daño del tejido hepático; la

presencia de unos pocos tremátodos exclusivamente en los conductos biliares, no provoca una manifestación importante; en esta etapa presenta una afectación del área portal con cercanía a lesiones generadas a partir del parásito, pero el parénquima se encuentra intacto. **C.- Medio.** Se puede evidenciar presencia de calcificación leve de canalículos biliares, material mucoso; las lesiones generadas a partir del parásito en esta etapa son marcadas con daños moderados del parénquima y **D.- Alto.** Se puede evidenciar la presencia de tejido fibroso nuevo, con distorsión del órgano por las múltiples cicatrices; existe la marcada separación entre los septos que conforman el tejido conectivo con una distribución a lo largo del parénquima hepático y la presencia de nódulos de regeneración (Marcos et al. 2007).

Además, se registró el peso total de hígado de bovinos faenados según raza, provincia, altitud y época del año. Se pesó el hígado en una balanza digital (báscula CRS carnicera-TORREY). Se estimaron las pérdidas económicas por decomiso de hígado total (ecuación 1) y pérdidas productivas de carne mediante el valor estándar de decomiso de hígado, parcial=8% y total=20% (ecuación 2 y 3), según (González et al., 2007; León-Gallardo y Benítez, 2018). La obtención total de hígados comisados de forma parcial fueron todos aquellos hígados con grado de infestación leve y medio, y para el decomiso total del hígado se contemplaron todos los hígados con grado de infestación alto.

Ecuación 1: Pérdidas productivas por decomiso de hígado (PPDH)

PPDH= Σ del total del Peso individual de hígados comisados en kg.

Ecuación 2. Pérdidas productivas de carne mediante decomiso de hígado total.

(N° bovinos * peso canal * rendimiento carcasa * valor estándar de decomiso de hígado total=20%).

Ecuación 3. Pérdidas productivas de carne mediante decomiso de hígado parcial.

(N° bovinos * peso canal * rendimiento carcasa * valor estándar de decomiso de hígado parcial=8%).

2.12. Análisis de datos

Se analizó normalidad (Levene) y homogeneidad (Kruskal Wallis) de los datos de las pérdidas productivas mediante decomiso de hígados. Se realizó un análisis de varianza

($p < 0,05$) y se usó la prueba de tukey para las comparaciones múltiples de las pérdidas productivas de carne y kilogramos de hígado según raza. Se utilizó la prueba t student para comparar las pérdidas productivas según época del año. Además, se calculó las pérdidas económicas según decomiso total y parcial de hígado infestado por fascioliasis. en SPSS Vs 27. Todos los análisis se realizaron con el software estadístico SPSS Vs 27.

III. RESULTADOS

3.1. Prevalencia de fascioliasis en ganado bovino en las cuencas de Leimebamba, Molinopampa, La Florida y Omia.

La prevalencia de fascioliasis en bovinos de las cuatro cuencas ganaderas fue del 52% (Tabla 1). Se encontró asociación significativa ($X^2 = 149,68$, $p < 0,05$) entre los valores de prevalencia en las cuatro cuencas ganaderas: 75,30% en Molinopampa, 59,4%, en Leimebamba, 40,10% en Omia y en La Florida- Pomacochas fue 39,6% (Tabla 1). Según el lugar de origen, la mayor prevalencia encontrada fue en Pumahermana con 81%, seguida de Molinopampa con 79,10% y El Tingo con 73%. Se encontró asociación significativa según el lugar de origen ($X^2 = 187,63$, $p < 0,05$) (Tabla 1).

Tabla 1. Prevalencia y asociación de fascioliasis en bovinos de las Cuencas ganaderas en la región Amazonas.

Cuencas ganaderas	<i>Fasciola</i> spp. N (%)	
	Positivo	Negativo
Omia	147 (40,1%)	220 (59,9%)
Molinopampa	289 (75,3%)	95 (24,7%)
Leimebamba	228 (59,4%)	156 (40,6%)
Pomacochas	237 (39,6%)	362 (60,4%)
Total	901 (52,0%)	833 (48,0%)
<i>P-valor</i>	0,000	
<i>V de Cramer</i>	0,294	
<i>Lambda</i>	0,046	
Lugar de procedencia		
Pumamarca	22 (48,9%)	23 (51,1%)
Abralajas	18 (33,3%)	36 (66,7%)
Mashuyacu	20 (35,1%)	37 (64,9%)
Lejia	35 (42,7%)	47 (57,3%)
Los Olivos	42 (53,2%)	37 (46,8%)
La Union	26 (38,2%)	42 (61,8%)
Tingo	173 (73,0%)	64 (27,0%)
Puma Hermana	17 (81,0%)	4 (19,0%)

Molinopampa	68 (79,1%)	18 (20,9%)
Espadilla	15 (68,2%)	7 (31,8%)
Ipaña	75 (66,4%)	38 (33,6%)
Pomacochas	47 (68,1%)	22 (31,9%)
Shalcapata	13 (59,1%)	9 (40,9%)
San Miguel	12 (46,2%)	14 (53,8%)
Leimebamba	8 (40%)	12 (60%)
San Juan	23 (48,9%)	24 (51,1%)
Atuen	50 (57,5%)	37 (42,5%)
Deshaguadero	9 (45%)	11 (55%)
Vista Hermosa	8 (29,6%)	19 (70,4%)
San Lorenzo	43 (30,7%)	97 (69,3%)
Vista Florida	40 (48,8%)	42 (51,2%)
La Florida Pomacochas	49 (41,5%)	69 (58,5%)
Gualulo	24 (49,0%)	25 (51,0%)
Alto Gualulo	25 (37,3%)	42 (62,7%)
Industrial	4 (12,9%)	27 (87,1%)
M. Levanto	17 (48,6%)	18 (51,4%)
Gocma	9 (52,9%)	8 (47,1%)
Zeta	9 (69,2%)	4 (30,8%)
Total	901 (52,0%)	833 (48,0%)
<i>P-valor</i>	0,000	
<i>V de Cramer</i>	0,324	
<i>Lambda</i>	0,022	

La prevalencia de fascioliasis se asoció con las razas bovina en estudio ($X^2 = 36,17$, $p < 0,05$) pero la asociación fue baja según la prueba V de Cramer, así como el nivel de predicción de cero por la prueba de Lambda. En el ganado cruzado, se encontró mayor prevalencia (58,6%) seguido de la raza Brown Swiss (55,5%). Se encontró asociación significativa para la prevalencia con la categoría bovina ($X^2 = 59,58$, $p > 0,05$) pero la asociación fue baja según la prueba V de Cramer, así como el nivel de predicción de cero por la prueba de Lambda. Las vaquillas, vaquillonas, toretes y vacas son los que presentan mayor prevalencia en comparación con las demás categorías. (Tabla 2). La prevalencia

de fascioliasis con respecto al sexo del bovino mostró una asociación significativa de ($X^2 = 8,34$, $p > 0,05$). Pero la asociación fue baja según la prueba V de Cramer, así como el nivel de predicción de cero por la prueba de Lambda. La mayor prevalencia se encontró en bovinos hembras, con una prevalencia del 53,9%. (Tabla 2).

Tabla 2. Prevalencia y asociación de fascioliasis con las características fenotípicas del ganado bovino procedentes de las cuencas ganaderas de la región Amazonas.

Raza	<i>Fasciola</i> spp. N (%)	
	Positivo	Negativo
Brow Swiss	610 (55,5%)	489 (44,5%)
Holstein	48 (52,7%)	43 (47,3%)
Simmental	116 (37,3%)	195 (62,7%)
Criollo	35 (46,1%)	41 (53,9%)
Cruce	92 (58,6%)	65 (41,4%)
Total	901 (52,0%)	833 (48,0%)
<i>P-valor</i>	0,000	
<i>V de Cramer</i>	0,144	
<i>Lambda</i>	0,000	
Categoría		
Ternero	72 (39,3%)	111 (60,7%)
Torete	64 (53,8%)	55 (46,2%)
Toro	53 (47,7%)	58 (52,3%)
Tenera	145 (44,3%)	182 (55,7%)
Vaquilla	134 (72,0%)	52 (28,0%)
Vaquillona	86 (65,2%)	46 (34,8%)
Vaca	347 (51,3%)	329 (48,7%)
Total	901 (52,0%)	833 (48,0%)
<i>P-valor</i>	0,000	
<i>V de Cramer</i>	0,85	
<i>Lambda</i>	0,000	
Sexo	Positivo	Negativo
Hembra	712 (53,9%)	609 (46,1%)

Macho	189 (45,8%)	224 (54,2%)
Total	901 (52,0%)	833 (48,0%)
<i>P-valor</i>	0,000	
<i>V de Cramer</i>	0,069	
<i>Lambda</i>	0,000	

La prevalencia de fascioliasis según el área del fundo fue mayor de 1 a 50 ha (55,3%) y la prevalencia más baja se registró cuando el fundo era mayor de 100 ha (37,4%). Hubo asociación significativa entre la prevalencia de fascioliasis y el área del fundo ($X^2 = 22,04$, $p < 0,05$) y con un bajo nivel de asociación y predicción (Tabla 3). Caso similar se obtuvo con el número total de animales por productor donde se encontró asociación significativa de ($X^2 = 13,94$, $p < 0,05$) pero su nivel de asociación es bajo (Cramer's $V = 0,09$) y la predicción fue de cero según la prueba Lambda. La prevalencia fue mayor (54,40%) cuando el productor tiene menos de 50 bovinos en el fundo y menor cuando tiene más de 100 bovinos en el fundo (37,4%) (Tabla 3).

La mayor prevalencia (62,50%) ocurre cuando los animales beben agua de quebradas, seguido de pozo-bebederos (61,20%) y acequias (54,7%). Se encontró una asociación significativa ($X^2 = 32,83$, $p < 0,05$) entre la prevalencia de fascioliasis y la fuente de agua de bebida que consumen los bovinos con un bajo nivel de asociación y un nivel de predicción de cero. La mayor prevalencia fue cuando los animales se crían en sistemas mixtos (56,6%) en comparación con el sistema extensivo (51,2%), no existe asociación significativa entre fascioliasis y el sistema de crianza. (Tabla 3).

Tabla 3. Prevalencia y asociación de fascioliasis referente a los datos geográficos del predio y sistema de alimentación bovina en las cuencas ganaderas de la región Amazonas.

Área total del fundo	<i>Fasciola</i> spp. N (%)	
	Positivo	Negativo
Pequeño (1-50)	625 (55,3%)	506 (44,7%)
Mediano (51-100)	205 (49,6%)	208 (50,4%)
Grande (101 a más)	71 (37,4%)	119 (62,6%)
Total	901 (52,0%)	833 (48,0%)
<i>P-valor</i>	0,000	

<i>V de Cramer</i>	0,113	
<i>Lambda</i>	0,000	
Total, de animales del fundo		
1 a 50	620 (54,4%)	520 (45,6%)
51 a 100	235 (49,9%)	236 (50,1%)
>101	46 (37,4%)	77 (62,6%)
Total	901 (52,0%)	833 (48,0%)
<i>P-valor</i>		0,001
<i>V de Cramer</i>		0,09
<i>Lambda</i>		0
Fuente de agua		
Puquio	120 (40,1%)	179 (59,9%)
Río	221 (48,8%)	232 (51,2%)
Quebrada	45 (62,5%)	27 (37,5%)
Acequias	351 (54,7%)	291 (45,3%)
Pozo-bebederos	164 (61,2%)	104 (38,8%)
Total	901 (52,0%)	833 (48,0%)
<i>P-valor</i>		0
<i>V de Cramer</i>		0,138
<i>Lambda</i>		0
Sistema de crianza	Positivo	Negativo
Sistema extensivo	768 (51,2%)	731 (48,8%)
Sistema mixto	133 (56,6%)	102 (43,4%)
Total	901 (52,0%)	833 (48,0%)
<i>P-valor</i>		0,126
<i>V de Cramer</i>		0,037
<i>Lambda</i>		0

La regresión logística binaria y las razones de probabilidad para fascioliasis en bovinos se muestran en las Tablas 5-7. Donde se encontraron valores significativos para cuenca ganadera, lugar de procedencia de la muestra, raza, categoría animal, sexo, área total del fundo, total de animales por fundo y fuente de bebida.

Se encontró un factor de riesgo de fascioliasis de 4,157 y 1,997, en la cuenca ganadera de Molinopampa y Leymebamba en comparación con la cuenca ganadera La Florida-Pomacochas. Sin embargo, la cuenca ganadera de Omia mostró un factor protector frente a esta parasitosis. Las muestras procedentes de San Lorenzo e Industrial mostraron un riesgo de 1,039, mientras que el Tingo, Pumahermana, Molinopampa, Ipaña y Pomacochas presentaron un factor protector para fascioliasis (Tabla 4). Estos resultados podrían estar sugestionados a las características medioambientales de cada lugar como la humedad, altitud, precipitación pluvial; estos son factores principales que contribuyen con el desarrollo de fasciola. La Florida- Pomacochas es una cuenca ganadera que está ubicada a más de 2200 m.s.n.m, con precipitación pluvial frecuente y humedad promedio de 93%, mientras Molinopampa a 2407msnm, humedad 75% y Leymebamba 2158msnm, humedad 80%; siendo condiciones que ayudan con el desarrollo de esta parasitosis y para la reproducción del huésped.

Tabla 4. Regresión logística binaria para la infección por fascioliasis en bovinos de las Cuencas ganaderas en la región Amazonas.

Cuenca ganadera	B	SE	Sig.	Exp(β)	CI 95%	
					Lower	Upper
Omia	-2,01	0,103	0,045	0,760	0,582	0,993
Molinopampa	9,86	0,600	0,000	4,157	3,131	5,518
Leymebamba	5,20	0,265	0,000	1,997	1,538	2,592
Pomacochas (cons)	-3,76	0,060	0,000	0,731	0,621	0,861
Lugar de procedencia						
Pumarca	0,002	0,417	0,996	1,002	0,442	2,270
Abralajas	0,325	0,205	0,113	1,384	0,926	2,070
Mashayacu	0,191	0,134	0,155	1,210	0,930	1,575
Legia	0,063	0,092	0,492	1,065	0,890	1,275
Los Olivos	-0,034	0,074	0,646	0,967	0,837	1,117
La Unión	0,073	0,064	0,255	1,076	0,949	1,219
Tingo	-0,148	0,047	0,001	0,862	0,787	0,945
Pumahermana	-0,186	0,078	0,018	0,830	0,712	0,968
Molinopampa	-0,152	0,044	0,001	0,859	0,788	0,936

Espadilla	-0,080	0,054	0,138	0,923	0,830	1,026
Ipaña	-0,066	0,032	0,041	0,936	0,879	0,997
Pomacochas	-0,067	0,032	0,040	0,935	0,878	0,997
Shalcapata	-0,032	0,040	0,432	0,969	0,896	1,048
San Miguel	0,008	0,035	0,820	1,008	0,941	1,080
Leymebamba	0,024	0,036	0,503	1,024	0,954	1,100
Atuen	-0,020	0,021	0,345	0,980	0,940	1,022
Dashaguadero	0,009	0,030	0,768	1,009	0,952	1,069
Vistahermosa	0,043	0,027	0,109	1,044	0,990	1,101
San Lorenzo	0,039	0,017	0,025	1,039	1,005	1,075
Vista Florida	0,000	0,017	0,986	1,000	0,967	1,035
La Florida- Pomacochas	0,013	0,016	0,411	1,013	0,982	1,045
Gualulo	0,000	0,018	0,997	1,000	0,966	1,035
Alto Gualulo	0,020	0,016	0,217	1,020	0,988	1,053
Industrial	0,075	0,024	0,002	1,078	1,027	1,130
M. Levanto	0,001	0,017	0,974	1,001	0,967	1,035
Gocma	-0,006	0,021	0,777	0,994	0,954	1,036
Zeta	-0,030	0,024	0,201	0,970	0,926	1,016
San Juan	0,008	0,018	0,671	1,008	0,972	1,045

B: Valor estimado B., SE: Error estándar., Sig: Estadísticamente significativo ($p < 0,05$), Exp (β): Odd ratio., IC 95%: intervalo de confianza del 95%.

Según la raza, el bovino Cruce, Brown Swiss y Holstein mostraron un factor de riesgo por fascioliasis de 2,37, 2,09 y 1,87 veces en comparación con las otras razas que muestran ser indiferentes a la enfermedad. En la categoría bovina, las vaquillas, vaquillonas, toretes y vacas presentaron un factor de riesgo de infección por fascioliasis de 4,05, 2,88, 1,79 y 1,62 veces y las demás categorías mostraron ser indiferentes a esta enfermedad. Los bovinos hembras muestran ser más susceptibles a fascioliasis con un riesgo de 1,38 veces mayor respecto a bovinos machos (Tabla 5).

Tabla 5. Regresión logística binaria para la infección por fascioliasis con las características fenotípicas del ganado bovino procedentes de las cuencas ganaderas de la región Amazonas.

Raza	B	SE	Sig.	Exp(β)	CI 95%	
					Lower	Upper
Brown Swiss	5,71	0,276	0,000	2,096	1,618	2,716
Holstein	2,62	0,451	0,000	1,876	1,171	3,006
Criollo	1,40	0,370	0,162	1,435	0,864	2,380
Cruce	4,33	0,475	0,000	2,379	1,607	3,521
Simmental(cons-)	-4,43	0,069	0,000	0,594	0,472	0,748
Categoría						
Torete	2,42	0,427	0,014	1,793	1,124	2,860
Toro	1,41	0,342	0,158	1,408	0,875	2,267
Ternera	1,09	0,230	0,274	1,228	0,849	1,774
Vaquilla	6,26	0,905	0,000	4,050	2,613	6,277
Vaquillona	4,46	0,683	0,000	2,882	1,810	4,588
Vaca	2,86	0,276	0,004	1,626	1,165	2,267
Ternero (cons-)						
Sexo						
Hembra	2,88	0,156	0,004	1,385	1,110	1,729
Macho(cons-)	-1,72	0,083	0,085	0,843	0,695	1,023

B: Valor estimado B., SE: Error estándar., Sig: Estadísticamente significativo ($p < 0,05$)., Exp (β): Odd ratio., IC 95%: intervalo de confianza del 95%.

Según el área total del fundo, se observó que los fundos (hato ganadero) que cuentan con menor área de 1 a 50 ha y 51 a 100 ha mostraron un factor de riesgo de 2,07 y 1,65, en comparación con áreas superiores a 101ha. En cuanto al número de animales por fundo, el grupo de animales conformado de 1 a 50 animales y de 51 a 100 animales mostraron factor de 3,44 y 2,37 veces de contraer la enfermedad, en comparación con el grupo de animales mayor a 101 (Tabla 6). Para la fuente de agua de bebida bovina, beber agua de quebrada, pozo-bebedero, acequia y río muestran un factor de riesgo de infección a esta parasitosis de 2,5, 2,36, 1,81 y 1,42 veces más que usar Puquio como fuente de bebida (Tabla 6).

Tabla 6. Regresión logística binaria para la infección por fascioliasis referente a los datos geográficos del predio y sistema de alimentación bovina en las cuencas ganaderas de la región Amazonas.

Área total del fundo	B	SE	Sig.	Exp(β)	CI 95%	
					Lower	Upper
Pequeño	4,52	0,334	0,000	2,070	1,508	2,840
Mediano	2,80	0,296	0,005	1,651	1,162	2,347
Grande(cons-)	-3,44	0,089	0,001	0,596	0,444	0,800
Total animales						
1 a 50	3,44	0,379	0,001	1,950	1,332	2,854
51 a 100	2,37	0,337	0,018	1,631	1,087	2,446
>101(cons-)	-2,67	0,112	0,008	0, 610	0,424	0,877
Fuente de bebida						
Río	2,37	0,215	0,018	1,428	1,063	1,920
Quebrada	3,39	0,676	0,001	2,5	1,471	4,247
Acequia	4,20	0,257	0,000	1,815	1,374	2,398
Pozo- Bebedero	5,00	0,406	0,000	2,365	1,688	3,314
Puquio (cons-)	-3,44	0,078	0,001	0,666	0,529	0,839

B: Valor estimado B., SE: Error estándar., Sig: estadísticamente significativo ($p < 0,05$),.

Exp (β): Odd ratio., IC 95%: intervalo de confianza del 95%.

La prevalencia global de fascioliasis encontrada en el matadero municipal de Chachapoyas fue del 90,3% (Tabla 7), no se encontró asociación significativa ($X^2 = 1,486$, $p < 0,05$). En cuanto a la prevalencia de fascioliasis por época del año, se encontró una prevalencia del 90,6% para la época lluviosa y una prevalencia del 89,5% para la época seca, no se encontró asociación significativa ($X^2 = 0,476$, $p < 0,05$) (Tabla 7).

Tabla 7. Prevalencia y asociación de fascioliasis en hígados de ganado bovino beneficiados en el matadero municipal de Chachapoyas según procedencia y época del año.

Provincia	Hígados decomisados N (%)	
	Sí	No
Chachapoyas	622 (89,9%)	70 (10,1%)
Luya	14 (87,5%)	2 (12,5%)
Bongará	77 (93,9%)	5 (6,1%)
Total	713 (90,3%)	77 (9,7%)
<i>P-valor</i>		0,476
<i>V de Cramer</i>		0,043
<i>Lambda</i>		0
Época del año		
Lluvioso	491 (90,6%)	51 (9,4%)
Seco	222 (89,5%)	26 (10,5%)
Total	713 (90,3%)	77 (9,7%)
<i>P-valor</i>		0,637
<i>V de Cramer</i>		0,017
<i>Lambda</i>		0

La prevalencia de fascioliasis se asoció con cada raza bovina en estudio ($X^2 = 44,443$, $p < 0,05$) pero la asociación fue baja según la prueba V de Cramer (0,237), al igual que el nivel de predicción de la prueba de Lambda (0,018). El ganado Brown Swiss es el de mayor prevalencia (94,18%), seguido de la raza Simmental (94,29%) (Figura 15).

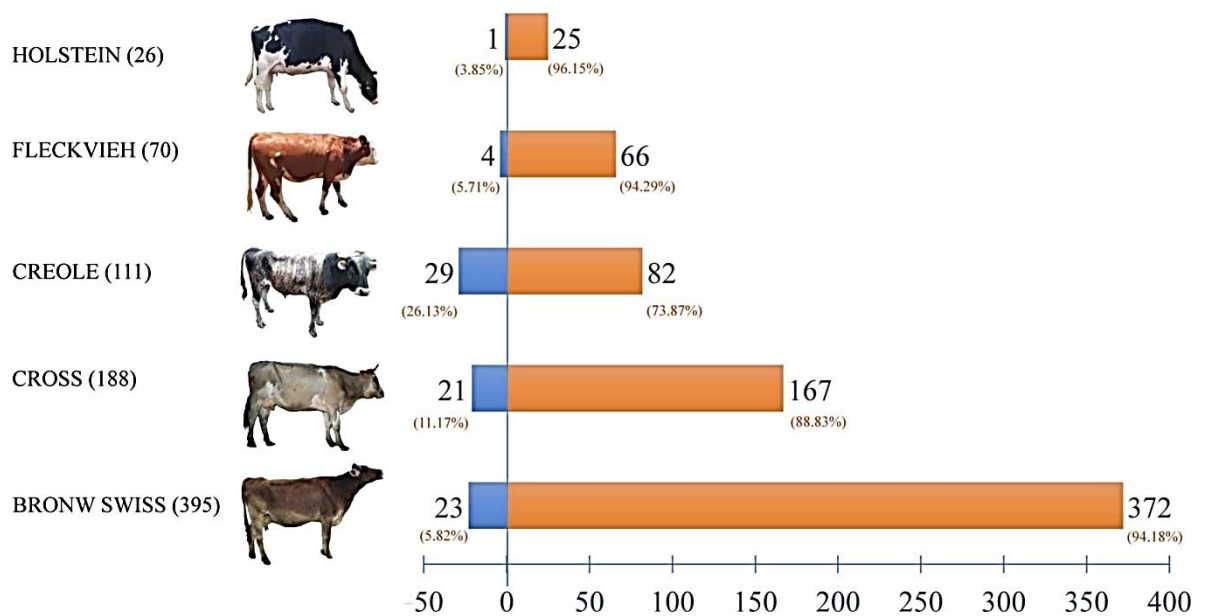


Figura 15. Prevalencia de fascioliasis por raza. Las barras naranjas indican el número de bovinos infectados y las barras azules indican el número de bovinos no infectados. Los números rojos indican el porcentaje total de la raza. (Díaz-Quevedo et al., 2021).

Se encontró asociación significativa para la prevalencia con la categoría bovina ($\chi^2 = 9,363$, $p > 0,05$), pero la asociación fue baja según la prueba V de Cramer, así como el nivel de predicción de cero por la prueba de Lambda. Las vaquillas y vacas mostraron mayor prevalencia. (Tabla 8). En cuanto a la prevalencia por sexo de fascioliasis, las hembras mostraron mayor prevalencia (90,5%) en comparación con los machos, no se mostró asociación significativa.

Tabla 8. Prevalencia y asociación de fascioliasis en hígados de ganado bovino beneficiados en el matadero municipal de Chachapoyas según características fenotípicas.

Raza	Hígados decomisados N (%)		
	Sí	No	
Sexo			
Hembra	515 (90,5%)	54 (9,5%)	
Macho	198 (89,6%)	23 (10,4%)	
Total	713 (90,3%)	77 (9,7%)	
<i>P-valor</i>		0,697	
<i>V de Cramer</i>		0,014	
<i>Lambda</i>		0	
Categoría			
Vaquilla	19 (95,0%)	1 (5,0%)	0,36–1,05
Torete	72 (88,9%)	9 (11,1%)	0,36–1,05
Vaquillona	72 (81,8%)	16 (18,2%)	0,32–1,44
Vaca	424 (92,0%)	37 (8,0%)	1,05-2,79
Toro	126 (90,0%)	14 (10,0%)	0,70–1,93
Total	713 (90,3%)	77 (9,7%)	
<i>P-valor</i>		0,053	
<i>V de Cramer</i>		0,109	
<i>Lambda</i>		0	

3.2. Caracterización molecular de muestras de duelas hepáticas de ganado bovino obtenidas a partir de hígados decomisados en mataderos municipales

Se obtuvieron productos de PCR de 2030, 2930 y 493 pb para ITS1+ITS2, *nad1* y *cox1* de las 110 muestras amplificadas con el primer ITS1+ITS2, dieron 100% positivos a *Fasciola hepatica*. Después de secuenciar las regiones del gen *cox1* y *nad1*, se reafirmó una identidad de *F. hepatica* del 100% con las secuencias de cada individuo, para *cox1* y *nad1* el análisis de sus secuencias se realizaron en fragmentos de 481pb para *cox1* y 519 pb para *nad1*.

Se identificaron 33 haplotipos de *F. hepatica* en las 110 muestras recolectadas, de los cuales 11 haplotipos fueron encontrados en la región *nadI* con 16 sitios de variables polimórficas. La diversidad haplotípica (Hd): 0,648, desviación estándar: 0,038 y diversidad nucleotídica Pi: 0,00201 con desviación estándar 0.00030. Tajima's D: -1,87448, significancia estadística: *, P < 0,05 (Tabla 11) y 21 haplotipos diferentes para la región *coxI* con 28 sitios de variables polimórficas. La diversidad nucleotídica de 0,00297, desviación estándar 0,00040, diversidad haplotípica Hd: 0,675 y desviación haplotípica de 0,00175. Tajima's D: -2,18298, significancia estadística: **, P < 0,01 (Tabla 9).

Tabla 9. Haplotipos de *nadI* presentes en las muestras

Posición	13	29	101	246	294	296	360	380	491	493	496	497	501	502	504	505
Hap_1	C	A	G	C	T	T	A	G	G	G	A	T	G	T	T	C
Hap_2	T	G	G	T	T	C	A	G	G	G	A	T	G	T	T	C
Hap_3	C	G	G	T	T	T	A	G	G	G	A	T	G	T	T	C
Hap_4	C	G	G	T	T	T	G	G	G	G	A	T	G	T	T	C
Hap_5	C	A	G	T	T	T	A	G	G	G	A	T	G	T	T	C
Hap_6	C	A	A	T	T	T	A	G	G	G	A	T	G	T	T	C
Hap_7	C	A	G	C	T	T	A	A	G	G	A	T	G	T	T	C
Hap_8	C	A	G	T	T	T	A	G	A	G	G	G	T	A	G	G
Hap_9	C	G	G	T	T	T	G	G	G	C	A	T	G	T	T	C
Hap_10	C	G	G	T	C	T	A	G	G	G	A	T	G	T	T	C
Hap_11	C	A	G	T	T	C	A	G	G	G	A	T	G	T	T	C

El fragmento secuenciado corresponde a 519pb.

Tabla 10. Haplotipos de *coxI* presentes en las muestras

POSICIÓN	55	101	104	107	127	140	146	147	161	185	202	205	211	221	226	238	292	295	312	340	341	343	358	381	412	414	416	432
Hap_1	G	G	C	T	T	T	G	T	A	A	G	T	T	T	C	G	G	T	C	T	G	T	G	C	T	T	C	C
Hap_2	G	G	C	T	T	T	G	T	A	A	G	T	T	T	T	T	T	T	C	T	G	T	A	C	T	T	C	C
Hap_3	G	G	C	T	T	T	G	T	A	A	T	T	T	T	C	G	G	T	C	T	G	T	G	C	T	T	C	C
Hap_4	G	G	C	T	T	T	G	T	A	A	G	G	T	T	C	G	G	T	C	T	G	T	G	C	T	T	C	C
Hap_5	G	G	C	T	T	T	G	T	G	A	T	T	T	T	C	G	G	T	C	T	G	T	G	C	C	T	C	C
Hap_6	G	G	C	T	T	T	G	T	A	A	G	T	T	T	C	G	G	T	C	T	G	T	G	C	T	C	T	C
Hap_7	G	G	C	T	T	T	G	T	A	A	G	T	T	T	C	G	G	T	C	T	G	T	G	A	T	T	C	C
Hap_8	G	C	T	A	T	T	G	C	A	A	G	T	T	T	C	G	G	T	C	T	G	T	G	C	T	T	C	C
Hap_9	G	G	C	T	T	T	G	T	A	A	G	T	T	T	C	G	G	T	C	T	G	T	G	C	T	T	C	T
Hap_10	T	G	C	T	T	T	G	T	A	A	G	T	T	T	C	G	G	C	C	T	G	T	G	C	T	T	T	C
Hap_11	G	G	C	T	T	T	G	T	A	A	T	T	T	T	C	G	G	T	C	T	G	A	G	C	T	T	C	C
Hap_12	G	G	C	T	T	T	G	T	A	A	T	T	T	T	C	G	G	T	C	T	G	T	G	C	C	T	C	C
Hap_13	G	G	C	T	T	T	G	T	A	A	G	T	T	T	C	G	G	T	C	T	G	T	G	C	T	T	T	C
Hap_14	G	G	C	T	T	T	G	T	A	A	G	T	T	T	C	G	G	T	C	G	G	T	G	C	T	T	C	C
Hap_15	G	G	C	T	T	C	C	T	A	A	G	T	C	C	C	G	G	T	C	T	G	T	G	C	T	T	C	C
Hap_16	G	G	C	T	T	T	G	T	A	A	T	T	T	T	C	G	G	T	T	T	G	T	G	C	T	T	C	C
Hap_17	G	G	C	T	C	T	G	T	A	A	G	T	T	T	C	G	G	T	C	T	G	T	G	C	T	T	C	C
Hap_18	G	G	C	T	T	T	G	T	A	A	G	T	T	T	C	G	G	T	C	T	A	T	G	C	T	T	C	C
Hap_19	G	G	C	T	T	T	G	T	A	A	T	T	T	T	C	G	G	T	C	T	A	T	G	C	T	T	C	C
Hap_20	G	G	C	T	T	T	G	T	A	G	G	T	T	T	C	G	G	T	C	T	A	T	G	C	T	T	C	C
Hap_21	G	G	C	T	T	T	G	T	A	G	T	T	T	T	C	G	G	T	C	T	G	T	G	C	T	T	C	C

El fragmento secuenciado corresponde a 481pb.

Para la región parcial del gen *nadI*, el haplotipo con mayor frecuencia fue Hap_5, que se encontró en 59 muestras, seguido del Hap_3 en 24 muestras, Hap_1 en 16 muestras, Hap_2 en 3 muestras, Hap_6 en 2 muestras, mientras que Hap_4, Hap7 y Hap_11 solo se encontraron en una muestra. (Tabla 11).

Los haplotipos de la región parcial del gen *nadI* se encontraron tanto en muestras procedentes de matadero municipal de Chachapoyas, como en las procedentes del matadero municipal de Rodríguez de Mendoza. En las muestras del matadero municipal de Chachapoyas, se encontró la frecuencia absoluta de 31 (60%) para el Hap_5, seguido de la frecuencia absoluta de 10 (19%) para el Hap_3. (Figura 16). En las muestras del matadero municipal de Rodríguez de Mendoza, se encontró la frecuencia absoluta de 23 (46%) para el Hap_5, seguido de la frecuencia absoluta de 12 (24%) para el Hap_3 (Figura 16).

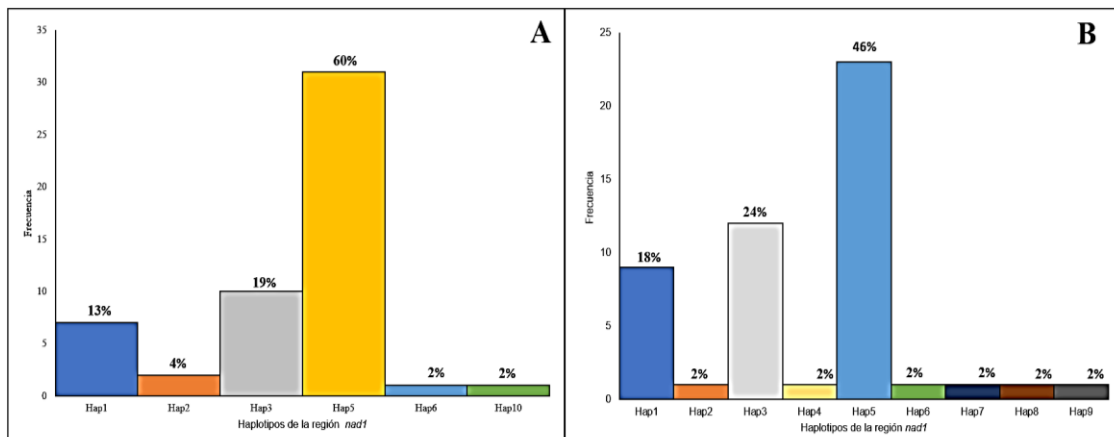


Figura 16. Frecuencia y porcentaje de haplotipos correspondientes al fragmento del gen *nad1*, en muestras obtenidas de los mataderos municipales A) Matadero municipal de Chachapoyas; frecuencia absoluta de haplotipos y porcentaje de haplotipos según frecuencia absoluta. B) Matadero municipal de Rodríguez de Mendoza; frecuencia absoluta de haplotipos y porcentaje de haplotipos según frecuencia absoluta.

La muestra colectada del ovino 2 forma parte del grupo del Hap_1 que es uno de los haplotipos con mayor frecuencia, en cuanto a la muestra de *Fasciola* spp. obtenida del “ovino 1” forma parte del grupo de Hap_2, el cual solo se encontró en 3 de nuestras muestras. En cuanto a las ocho muestras de huevos procedentes de heces de bovinos, en uno de ellos se encontró un haplotipo nuevo identificado como Hap_11, las otras siete muestras se agruparon con los Hap_5 y Hap_3 que son los de mayor frecuencia.

Para el fragmento del *cox1* el haplotipo con mayor frecuencia fue el Hap_1, el cual se encontró en 58 de nuestras, seguido del Hap_3 en 24 muestras, Hap_2 en 5 muestras, Hap_6 en 4 muestras, Hap_13 en 2 muestras, Hap_20 en 2 muestras y Hap_4,5,7-12,14-19,21 en una muestra (Tabla 11). Las dos muestras de ovinos presentaron Hap_1 y 2 que son los haplotipos que se reportó con mayor frecuencia en las ocho muestras procedentes de huevos de heces de bovinos, en cinco de ellos se encontraron nuevos haplotipos identificado como Hap_11,19,20 y 21, las otras tres muestras se agruparon con los Hap_1 y Hap_3 que son los de mayor frecuencia.

La mayor frecuencia del Hap_1, Hap_3 y otros haplotipos correspondientes a la región parcial del gen *cox1*, se encontraron en las muestras de duelas obtenidas en el matadero municipal de Chachapoyas; se encontró la frecuencia absoluta de 30 (60%) para el Hap_1,

seguido de la frecuencia absoluta de 13 (26%) para el Hap_3. (Figura 17). Las muestras de duelas procedentes del matadero municipal de Rodríguez de Mendoza presentaron una frecuencia absoluta de 26 (52%) para el Hap_1 seguido de la frecuencia absoluta de 10 (20%) para el Hap_3 (Figura 17).

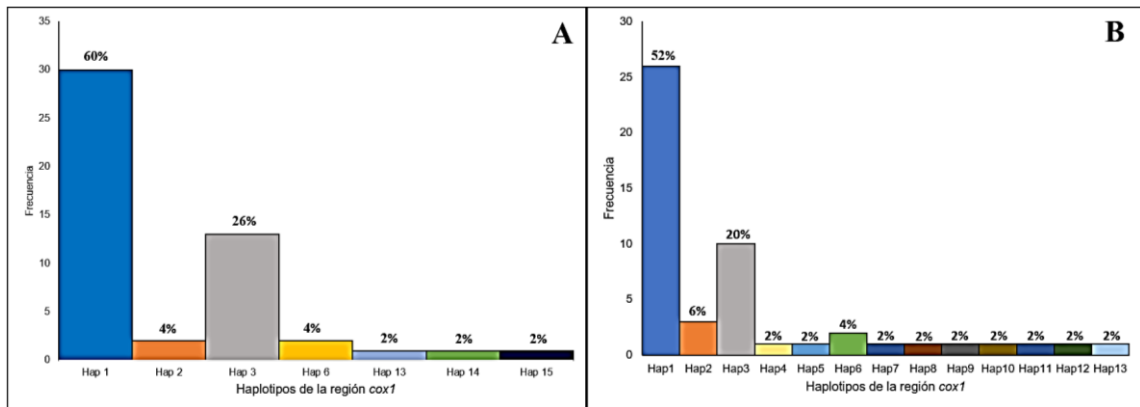


Figura 17. Frecuencia y porcentaje de haplotipos correspondientes al fragmento del gen *coxI*, en muestras obtenidas de los mataderos municipales A) Matadero municipal de Chachapoyas; frecuencia absoluta de haplotipos y porcentaje de haplotipos según frecuencia absoluta. B) Matadero municipal de Rodríguez de Mendoza; frecuencia absoluta de haplotipos y porcentaje de haplotipos según frecuencia absoluta.

Tabla 11. Data de muestra total de *F.hapatica* colectadas en el Matadero municipal de Chachapoyas, R. Mendoza y muestras de heces procedentes del distrito de Omia.

MUESTRAS	MATADEROMUNICIPAL	LOCALIDAD	PROVINCIA	RAZA	SEXO	EDAD	Hap_ <i>nad1</i>	Hap_ <i>cox1</i>
OVINO2	Chachapoyas						Hap_1	Hap_1
47CMRM	R.Mendoza	Limobamba	R.M.	Cruce	Hembra	5	Hap_1	Hap_1
46CMRM	R.Mendoza	Omia	R.M.	Cruce	Hembra	4	Hap_4	Hap_1
44CMRM	R.Mendoza	Huamanpata	R.M.	Cruce	Hembra	3	Hap_5	Hap_1
41CMRM	R.Mendoza	Omia	R.M.	Cruce	Hembra	8	Hap_5	Hap_1
40CMRM	R.Mendoza	Huamanpata	R.M.	Simmental	Macho	4	Hap_5	Hap_1
39CMRM	R.Mendoza	Omia	R.M.	Cruce	Macho	2	Hap_5	Hap_1
35CMRM	R.Mendoza	Santa Rosa	R.M.	Cruce	Hembra	6	Hap_5	Hap_1
36CMRM	R.Mendoza	Omia	R.M.	Simmental	Hembra	5	Hap_5	Hap_1
33CMRM	R.Mendoza	Nueva Esperanza	R.M	Cruce	Hembra	6	Hap_5	Hap_1

31CMRM	R.Mendoza	Nueva Esperanza	R.M.	Cruce	Hembra	5	Hap_5	Hap_1
21CMRM	R.Mendoza	Huambo	R.M.	Cruce	Macho	2	Hap_1	Hap_1
27CMRM	R.Mendoza	Limobamba	R.M.	Cruce	Macho	1.6	Hap_1	Hap_1
26CMRM	R.Mendoza	San Nicolas	R.M.	Cruce	Hembra	6	Hap_1	Hap_1
25CMRM	R.Mendoza	San Nicolas	R.M.	Cruce	Macho	1.6	Hap_5	Hap_1
19CMRM	R.Mendoza	Limobamba	R.M.	Cruce	Hembra	2	Hap_5	Hap_1
18CMRM	R.Mendoza	Santa Rosa	R.M.	Cruce	Hembra	6	Hap_1	Hap_1
15CMRM	R.Mendoza	Huambo	R.M.	Cruce	Hembra	7	Hap_5	Hap_1
14CMRM	R.Mendoza	Chirimoto	R.M.	Cruce	Hembra	2.5	Hap_1	Hap_1
11CMRM	R.Mendoza	Chirimoto	R.M.	Cruce	Hembra	4	Hap_5	Hap_1
16CMRM	R.Mendoza	San Nicolas	R.M.	Cruce	Hembra	8	Hap_1	Hap_1
10CMRM	R.Mendoza	Chaupimonte	R.M.	Cruce	Hembra	4	Hap_5	Hap_1
9CMRM	R.Mendoza	Huamanpata	R.M.	Cruce	Hembra	6	Hap_5	Hap_1
8CMRM	R.Mendoza	Chaupimonte	R.M.	Cruce	Hembra	8	Hap_1	Hap_1

7CMRM	R.Mendoza	Omia	R.M.	Cruce	Hembra	6	Hap_5	Hap_1
6CMRM	R.Mendoza	Huambo	R.M.	Cruce	Hembra	8	Hap_8	Hap_1
5CMRM	R.Mendoza	Huambo	R.M.	Cruce	Hembra	4	Hap_5	Hap_1
4PIG7	Chachapoyas	Yerbabuena	Ch.	Cruce	Hembra	4	Hap_1	Hap_1
8PIG1	Chachapoyas	Pipus	Ch.	Criollo	Macho	4	Hap_5	Hap_1
12PIG1	Chachapoyas	Pipus	Ch.	Criollo	Hembra	2	Hap_5	Hap_1
3MOG8	Chachapoyas	Molinopampa	Ch.	B.S.	Hembra	3.5	Hap_1	Hap_1
15MOG8	Chachapoyas	Molinopampa	Ch.	B.S.	Hembra	1	Hap_1	Hap_1
5MOG9	Chachapoyas	Molinopampa	Ch.	B.S.	Hembra	6	Hap_5	Hap_1
8MOG9	Chachapoyas	Molinopampa	Ch.	B.S.	Hembra	3	Hap_5	Hap_1
6MOG7	Chachapoyas	Molinopampa	Ch.	Cruce	Hembra	10	Hap_5	Hap_1
7MOG8	Chachapoyas	Molinopampa	Ch.	Cruce	Macho	1.5	Hap_3	Hap_1
3MOG9	Chachapoyas	Molinopampa	Ch.	Cruce	Hembra	4	Hap_5	Hap_1
19MOG6	Chachapoyas	Molinopampa	Ch.	Holstein	Macho	3	Hap_5	Hap_1

2MOG8	Chachapoyas	Molinopampa	Ch.	Cruce	Hembra	5	Hap_3	Hap_1
13MOG9	Chachapoyas	Molinopampa	Ch.	Simmental	Hembra	3	Hap_5	Hap_1
9YEG8	Chachapoyas	Yerbabuena	Ch.	B.S.	Hembra	5	Hap_5	Hap_1
2YEG9	Chachapoyas	Yerbabuena	Ch.	Criollo	Hembra	2	Hap_5	Hap_1
5PUG7	Chachapoyas	Pucara	Ch.	Simmental	Hembra	1	Hap_5	Hap_1
14POGI	Chachapoyas	Pomacochas	La Florida	Criollo	Macho	2	Hap_5	Hap_1
11YEG3	Chachapoyas	Yerbabuena	Ch.	Criollo	Hembra	8	Hap_5	Hap_1
16YEG3	Chachapoyas	Yerbabuena	Ch.	Criollo	Hembra	4	Hap_5	Hap_1
20YEG6	Chachapoyas	Yerbabuena	Ch.	Brown Swiss	Hembra	4	Hap_5	Hap_1
15POGX	Chachapoyas	Pomacochas	La Florida	Cruce	Hembra	3.5	Hap_5	Hap_1
14MOG5	Chachapoyas	Molinopampa	Ch.	B.S.	Hembra	2.5	Hap_5	Hap_1
13YEG3	Chachapoyas	Yerbabuena	Ch.	B.S.	Hembra	3	Hap_5	Hap_1
10POGX	Chachapoyas	Pomacochas	La Florida	Simmental	Macho	3	Hap_5	Hap_1
10POG5	Chachapoyas	Pomacochas	La Florida	Cruce	Hembra	4	Hap_5	Hap_1

11LUG7	Chachapoyas	Luya	Luya	Cruce	Hembra	2	Hap_5	Hap_1
8POG5	Chachapoyas	Pomacochas	La Florida	Simmental	Hembra	6	Hap_5	Hap_1
5POGX	Chachapoyas	Pomacochas	La Florida	Cruce	Hembra	3.5	Hap_1	Hap_1
5POG4	Chachapoyas	Pomacochas	La Florida	Cruce	Macho	4	Hap_5	Hap_1
5RM	R. Mendoza	Los Olivos	R.M.	B.S.	Hembra	4	Hap_5	Hap_1
4RM	R. Mendoza	Lejia	R.M.	B.S.	Hembra	5	Hap_3	Hap_1
OVINO1	Chachapoyas		Ch.				Hap_2	Hap_2
48CMRM	R.Mendoza	Santa Rosa	R.M.	Cruce	Hembra	3	Hap_3	Hap_2
34CMRM	R.Mendoza	Huamanpata	R.M.	Simmental	Hembra	3	Hap_5	Hap_2
29CMRM	R.Mendoza	Chaupimonte	R.M.	Cruce	Hembra	4	Hap_2	Hap_2
14YEG7	Chachapoyas	Yerbabuena	Ch.	Cruce	Hembra	3	Hap_2	Hap_2
50CMRM	R.Mendoza	Limobamba	R.M.	Simmental	Macho	4	Hap_3	Hap_3
9POG7	Chachapoyas	Pomacochas	La Florida	Simmental	Hembra	8	Hap_3	Hap_3
49CMRM	R.Mendoza	Limobamba	R.M.	Cruce	Macho	3	Hap_3	Hap_3

45CMRM	R.Mendoza	Limobamba	R.M.	Cruce	Hembra	4	Hap_3	Hap_3
38CMRM	R.Mendoza	Santa Rosa	R.M.	Cruce	Hembra	6	Hap_3	Hap_3
32CMRM	R.Mendoza	Santa Rosa	R.M.	Cruce	Hembra	5	Hap_3	Hap_3
23CMRM	R.Mendoza	Huambo	R.M.	Cruce	Macho	4	Hap_5	Hap_3
22CMRM	R.Mendoza	San Nicolas	R.M.	Cruce	Hembra	6	Hap_3	Hap_3
13CMRM	R.Mendoza	San Nicolas	R.M.	Cruce	Hembra	3	Hap_3	Hap_3
3CMRM	R.Mendoza	Nueva Esperanza	R.M.	Cruce	Macho	2	Hap_3	Hap_3
1CMRM	R.Mendoza	Huambo	R.M.	Simmental	Hembra	4	Hap_3	Hap_3
3PIG1	Chachapoyas	Pipus	Ch.	B.S.	Hembra	7	Hap_1	Hap_3
10PIG7	Chachapoyas	Pipus	Ch.	Cruce	Hembra	2.5	Hap_5	Hap_3
15MOG7	Chachapoyas	Molinopampa	Ch.	Holstein	Hembra	10	Hap_3	Hap_3
17MOG7	Chachapoyas	Molinopampa	Ch.	B.S.	Macho	5	Hap_10	Hap_3
11MOG8	Chachapoyas	Molinopampa	Ch.	Cruce	Hembra	6	Hap_5	Hap_3
12MOG9	Chachapoyas	Molinopampa	Ch.	Criollo	Macho	4	Hap_5	Hap_3

1MOG9	Chachapoyas	Molinopampa	Ch.	Criollo	Hembra	6	Hap_5	Hap_3
1MO-G8	Chachapoyas	Molinopampa	Ch.	Criollo	Hembra	8	Hap_5	Hap_3
7Y3G7	Chachapoyas	Yerbabuena	Ch.	B.S.	Hembra	6	Hap_3	Hap_3
4POG2	Chachapoyas	Pomacochas	La Florida	Cruce	Macho	5.5	Hap_3	Hap_3
7POG9	Chachapoyas	Pomacochas	La Florida	Cruce	Macho	3	Hap_3	Hap_3
8RM	R. Mendoza	Lejia	R.M.	B.S.	Hembra	5	Hap_3	Hap_3
8LUG7	Chachapoyas	Luya	Luya	B.S.	Hembra	8	Hap_3	Hap_3
43CMRM	R.Mendoza	Chaupimonte	R.M.	Simmental	Hembra	6	Hap_1	Hap_4
42CMRM	R.Mendoza	Nueva Esperanza	R.M.	Criollo	Hembra	4	Hap_6	Hap_5
37CMRM	R.Mendoza	Huamanpata	R.M.	Cruce	Hembra	4	Hap_5	Hap_6
24CMRM	R.Mendoza	Chirimoto	R.M.	Cruce	Hembra	1.6	Hap_7	Hap_6
19MOGI	Chachapoyas	Molinopampa	Ch.	B.S.	Macho	2	Hap_6	Hap_6
9MOG9	Chachapoyas	Molinopampa	Ch.	B.S.	Hembra	3	Hap_5	Hap_6
30CMRM	R.Mendoza	Chirimoto	R.M.	Cruce	Hembra	2	Hap_5	Hap_7

28CMRM	R.Mendoza	San Nicolas	R.M.	Cruce	Hembra	2	Hap_3	Hap_8
20CMRM	R.Mendoza	Huambo	R.M.	Cruce	Hembra	5	Hap_5	Hap_9
17CMRM	R.Mendoza	Huamanpata	R.M.	Cruce	Macho	2	Hap_5	Hap_10
12CMRM	R.Mendoza	San Nicolas	R.M.	Cruce	Hembra	8	Hap_3	Hap_11
4CMRM	R.Mendoza	Huambo	R.M.	Cruce	Hembra	6	Hap_9	Hap_12
2CMRM	R.Mendoza	Huambo	R.M.	Cruce	Macho	3	Hap_5	Hap_13
14MOG9	Chachapoyas	Molinopampa	Ch.	Cruce	Macho	5	Hap_5	Hap_13
4MOG9	Chachapoyas	Molinopampa	Ch.	Holstein	Macho	3	Hap_5	Hap_14
5LEG6	Chachapoyas	Levanto	Ch.	B.S.	Hembra	3	Hap_3	Hap_15
7POG4	Chachapoyas	Pomacochas	La Florida	Simmental	Hembra	9	Hap_3	Hap_16
6POGX	Chachapoyas	Pomacochas	La Florida	B.S.	Hembra	4	Hap_1	Hap_17
361RM	R. Mendoza	Los Olivos	R.M.	B.S.	Hembra	6	Hap_5	Hap_18
17RM	R. Mendoza	Lejia	R.M.	B.S.	Hembra	5	Hap_5	Hap_19
12RM	R. Mendoza	Lejia	R.M.	B.S.	Macho	5	Hap_5	Hap_20

7RM	R. Mendoza	Los Olivos	R.M.	B.S.	Hembra	4	Hap_5	Hap_20
10RM	R. Mendoza	Los Olivos	R.M.	Simmental	Hembra	3	Hap_11	Hap_21

*R.M. Rodríguez de Mendoza; Ch. Chachapoyas; B.S. Brown Swiss

3.3. Pérdidas productivas mediante el decomiso de hígados de ganado bovino en el matadero municipal de Chachapoyas.

En este estudio, se estimó una pérdida productiva en carne y decomiso de hígado de 6,800 kg. y 53,281.08 kg., según tipo de decomiso de hígado, se multiplicó por el precio local de mercado 20 (carne) y 23 (hígado) soles por kg. representando una pérdida económica de S/.104,122,84 y 136,000 respectivamente. (Tabla 12).

Tabla 12. Pérdidas productivas y económicas mediante decomiso de hígado bovino

Tipo de decomiso de hígado	Pérdida de hígado en (Kg)	Pérdidas económicas en S/. (kg)*	Pérdidas de carne en (kg)	Pérdidas económicas en S/. (Kg)*
Decomiso Parcial (n=503)	3,285.84	75,574.32	3,256	65,120
Decomiso Total (n=210)	1,241.24	28,548.52	3,544	70,880
Total (n=713)	53,281.08	104,122.84	6,800	136,000

Se encontró diferencia significativa ($p < 0,01$) en pérdidas productivas de carne mediante decomiso total y parcial de hígado según raza; las pérdidas productivas de carne mediante decomiso de hígado total en la raza Simmental es superior a la raza Holstein seguida de Brown Swiss, Cruce y criollo; sin embargo, la raza criolla mostró menor pérdida productiva de carne respecto a las otras razas. Por ejemplo, el criollo presentó 17,26 kg menos que la raza Simmental y 16,1 kg respecto de la raza Holstein. Las pérdidas productivas de carne mediante decomiso de hígado parcial en la raza Simmental es superior a la raza Holstein, Brown Swiss, cruce y criollo; sin embargo, la raza criolla mostró menor pérdida productiva de carne respecto a las otras razas. Por ejemplo, el criollo presentó 7,88 kg menos que la raza Simmental, 3,6 y 3,9 kg correspondiente a la raza Holstein y Brown Swiss, respectivamente (Tabla 13).

Tabla 13. Pérdida productiva de carne (kg)¹ mediante decomiso de hígado según raza.

Raza	Brown Swiss	Criollo	Cruce	Simmental	Holstein	Total	Sig.
N	105	24	44	27	10	210	
PPCCTH	34,73±1,07bc	25,52±1,92d	31,85±1,25cd	42,78±1,93a	41,62±2,88ba	34,44±0,76	0,00*
N	268	58	123	39	15	503	
PPCCPH	16,22±0,30b	12,19±0,49c	14,91±0,38cb	20,07±0,84a	16,49±1,07b	15,74±0,22	0,00*

¹ los valores presentados son: la media± desviación estándar; abc: letras diferentes en fila indican diferencias significativas en pérdidas productivas de carne por raza. *diferencias significativas a nivel de p<0,05.

PPCCTH=Pérdida productiva en carne mediante decomiso total

PPCCPH=Pérdida productiva en carne mediante decomiso parcial

Se encontraron diferencias significativas (p<0,01) en pérdidas productivas de carne mediante decomiso total y parcial de hígado según época del año. Las pérdidas productivas de carne mediante decomiso de hígado total en época de lluvia fueron mayores respecto a pérdidas productivas de carne en época seca. Las pérdidas productivas de carne mediante decomiso de hígado parcial en época seca fueron mayores respecto a pérdidas productivas de carne en época de lluvia (Tabla 14).

Tabla 14. Pérdida productiva de carne (kg)¹ mediante decomiso de hígado según época del año.

Época del año	Seco	Lluvia	Total	Sig.
N	379	124	503	
PPCCHP	15,74±0,25a	13,88±0,44b	15,21±0,22	0,01*
N	112	98	210	
PPCCTH	30,63±0,94b	34,20±1,14a	32,12±0,75	0,00*

¹ los valores presentados son: la media± desviación estándar; ab: letras diferentes en fila indican diferencias significativas en pérdidas productivas de carne mediante decomiso de hígado. *diferencias significativas a nivel de p<0,05.

PPCCTH=Pérdida productiva en carne mediante decomiso total

PPCCHP=Pérdida productiva en carne mediante decomiso parcial

Se encontraron diferencias significativas (p<0,01) en pérdidas productivas por kilogramo de hígado mediante decomiso total y parcial de hígado según raza; se observó mayor decomiso de hígado total en la raza Holstein, siendo superior a la raza Brown Swiss, seguida de la raza Simmental y Cruce. Sin embargo, la raza criolla mostró menor pérdida productiva de kg. de hígado respecto a las otras razas. Por ejemplo, el criollo perdió 1,95 kg de hígado menos que la raza Holstein y 1,61 kg respecto a la raza Brown Swiss. Las pérdidas productivas de kilogramos de hígado mediante decomiso de hígado parcial en la

raza Brown Swiss es superior a la raza Cruzada, Holstein, Simmental y Criollo. Sin embargo, la raza Criollo mostró menor pérdida productiva de kg. hígado respecto a las otras razas. Por ejemplo, el Criollo presentó 1,62 kg menos que la raza Brown Swiss y 1,15 kg correspondiente a la raza Cruzada (Tabla 15).

Tabla 15. Pérdidas productivas de hígado (kg)¹ mediante decomiso total y parcial según raza.

Raza	Brown Swiss	Criollo	Cruce	Simmental	Holstein	Total	Sig.
N	105	24	44	27	10	210	
PPCCTH	5,97±0,19	4,36±0,37	5,06±0,33	5,83±0,32	6,31±0,40	5,71±0,14	0,01*
N	268	58	123	39	15	503	
PPCCPH	6,17±0,13a	4,55±0,20b	5,70±0,19ab	5,20±0,36ab	5,30±0,60a	5,75±0,90	0,00*

¹ los valores presentados son: la media± desviación estándar; ab: letras diferentes en fila indican diferencias significativas en pérdidas productivas de hígado mediante decomiso total y parcial según raza. *diferencias significativas a nivel de p<0,05.

PPCCHT=Pérdida productiva en carne mediante decomiso total

PPCCHP=Pérdida productiva en carne mediante decomiso parcial

Se encontraron diferencias significativas (p<0,01) en pérdidas productivas de kilogramos de hígado mediante decomiso parcial según época del año; se observó mayor decomiso de hígado en la época de lluvia con respecto a la época seca, pero no se encontró diferencias significativas (p>0,05) en pérdidas productivas de kilogramos de hígados mediante decomiso total (Tabla 16).

Tabla 16. Pérdidas productivas (kg)¹ de hígado mediante decomiso total y parcial según época del año.

Época	Seco	Lluvia	Total	Sig.
N	112	98	210	
PPCCTH	5,33±0,19	5,86±0,20	5,71±0,14	0,13
N	379	124	503	
PPCCPH	6,12±0,11a	4,87±0,15b	5,75±0,09	0,00*

¹ los valores presentados son: la media± desviación estándar; ab: letras diferentes en fila indican diferencias significativas en pérdidas productivas de hígado mediante decomiso total y parcial según época del año. *diferencias significativas a nivel de p<0,05.

PPCCHT=Pérdida productiva en carne mediante decomiso total

PPCCHP=Pérdida productiva en carne mediante decomiso parcial

IV. DISCUSIÓN

4.1. Prevalencia de fascioliasis en ganado bovino en las cuencas de Leimebamba, Molinopampa, La Florida y Omia

El análisis de la presencia de huevos en heces de ganado bovino, realizado en esta tesis, muestra que la prevalencia promedio de las cuatro cuencas de estudio fue de 52% (Tabla 2). Estos resultados fueron mayores al 24,6% de prevalencia que fue reportado en Apurímac por Valderrama y Merino (2015); al 38,2 % reportado en la provincia de Jauja en Huancayo (Chávez et al., 2012) y al 47,6% de prevalencia que fue reportado en el distrito de Vilcashuamán en la región Ayacucho (Ticona et al 2010). Otras regiones de Perú presentan prevalencias mayores, es el caso del 63,20% encontrado en el departamento de Cajamarca (Raunelli y González, 2009), el 64, 91% registrado en la provincia de Huancabamba en Piura (Alva et al., 2020). Los diferentes reportes de prevalencia entre departamentos podrían deberse al tipo de método de evaluación, a una baja intensidad de infección o cuando el parásito se encuentra en la fase migratoria en estado juvenil dado que las condiciones agroclimáticas entre departamentos son variables y podría afectar el desarrollo del parásito (Pinilla et al., 2020a).

La mayor prevalencia de fascioliasis se encontró en la cuenca ganadera de Molinopampa con 75,30%, seguida de la cuenca de Leimebamba con 59,4%, la cuenca ganadera de Omia con 40,1% y Pomacochas con 39,6% (Tabla 2). Esto puede estar en relación directa con la ubicación geográfica de dichas cuencas. Por ejemplo, la cuenca ganadera de Leimebamba y Molinopampa se encuentran a una altitud que sobrepasa los 2200 m.s.n.m; caso contrario sucede en las cuencas de Omia y Pomacochas que no sobrepasan de los 2000 m.s.n.m., esta diferencia de pisos altitudinales sería uno de los factores que ayuda en el desarrollo de fascioliasis ya que cada cuenca presenta su microclima que involucra altitud, lluvia y temperatura que facilitan el desarrollo del huésped intermediario; a esto podemos añadir otros aspectos fundamentales como el tipo de crianza, fuentes de bebidas y concentración de minerales en el suelo (Novobilsky et al., 2015). Las cuencas ganaderas de Molinopampa y Leimebamba que presentan las prevalencias más altas se caracterizan por la presencia cercana de riachuelos, acequias y arroyos que brindan un ecosistema de humedad a los pastizales y coinciden con los lugares que presentan condiciones favorables para el desarrollo del miracidio y el huésped intermediario de esta enfermedad (Chávez et al., 2012). Así mismo, en estas zonas, las lluvias son frecuentes lo que genera la acumulación de agua en los potreros y brindan condiciones adecuadas para el desarrollo

del parásito y su hospedador y, en consecuencia, a ello, una mayor proliferación de fascioliasis, que ya ha sido ampliamente descrito por diversos autores (Chávez et al., 2012).

El análisis de los datos muestra que hay asociación significativa entre la fascioliasis y la raza de ganado bovino. La mayor prevalencia de fascioliasis se encontró en ganado cruzado (58,6%), seguido de ganado Brown Swiss (55,5 %), ganado Holstein (52,7 %) y la menor en el ganado Simmental (37,3%). Estos resultados difieren de los resultados publicados por Julon et al. (2020), que indica una mayor prevalencia de fascioliasis en la raza Simmental (71,1%) y menor en ganado Holstein (51,5%), este último resultado muy similar a nuestros resultados. En otras razas, se han reportado prevalencias muy altas y bajas. En ganado de la raza Angus, que no forman parte de nuestro estudio, la prevalencia reportada fue de 88%; y en la raza Frizóna fue de 43% (Sanchís et al., 2011). La diferencia de la prevalencia encontrada dentro de cada raza podría deberse a la selección de animales en función a ciertos indicadores productivos sin considerar la susceptibilidad a enfermedades y perdiendo su rusticidad en cada generación (Sanchís et al., 2011).

Según categoría animal, se encontró asociación significativa con fascioliasis. Las vaquillas y vaquillonas son las más susceptibles a la infección por esta parasitosis, este estudio reportó mayor prevalencia en vaquillas (72,0%) y vaquillonas (65,2%) en comparación con las demás categorías. Estos resultados están de acuerdo con resultados previamente publicados. En Colombia, se encontró que los animales jóvenes de 12 a 24 meses tienen mayor prevalencia (7,7%) (Pinilla et al., 2019); y en Sudáfrica, se encontró mayor prevalencia en animales jóvenes, 18,2% y 14,1% en animales viejos (Jaja et al., 2017). La alta prevalencia de fascioliasis en estas categorías puede deberse al sistema de alimentación tradicional (pastoreo), donde los animales se encuentran directamente expuestos a pastos infestados con metacercarias (Sánchez-Andrade et al., 2002), o a la baja inmunidad que presentan los animales jóvenes frente a esta parasitosis (Khan et al., 2010).

Respecto a la prevalencia en animales adultos, nuestro estudio muestra que la prevalencia en vacas y toros fue de 51,3% y 47,7%, respectivamente. Estos resultados difieren de lo publicado por Chaparro et al. (2016), quienes reportaron menor prevalencia de fascioliasis en animales adultos. Sin embargo, son menores que el 64,7% de prevalencia encontrados en animales mayores de 5 años de un estudio realizado en Nigeria

(Mohammed, 2019), al igual que Livia et al. (2021). La diversidad de estudios sobre este tema ha generado algunos resultados controversiales. En Zambia, un estudio ha reportado baja prevalencia de *F. gigantica* en ganado bovino y no se observaron diferencias significativas entre la prevalencia de animales mayores a 36 meses y animales jóvenes (Phiri et al., 2005). La baja prevalencia en los animales adultos podría deberse a que el ganado bovino adulto ha ido adquiriendo inmunidad contra esta enfermedad (Khan et al., 2010).

Otro aspecto relevante es la relación entre la prevalencia de la fascioliasis y el sexo del ganado bovino. Nuestros resultados mostraron asociación significativa ($p > 0.05$) entre sexo y fascioliasis. Las hembras presentaron mayor prevalencia respecto a los machos; la prevalencia encontrada fue del 53,9% en hembras y 45,8% en machos. Estos resultados tienen la misma tendencia a los encontrados por Giraldo et al (2016), quienes reportaron una prevalencia de 45% en hembras y 35% en machos. Otros estudios: uno realizado en el departamento de Ayacucho reportó una prevalencia de 36,70% en hembras y 34,0% en machos (Ticoma et al., 2010) y otro realizado en el departamento de Piura encontró que la prevalencia en bovinos hembra fue 63,3% y 36,7% en machos (Livia et al., 2021). Esto puede estar relacionado al número mayoritario de hembras que se presenta por rebaño en comparación con machos que por lo general cuentan con un toro para un grupo de 15 hembras.

El área del fundo, número de animales, fuente de agua y sistema de crianza bovino son factores importantes para el desarrollo y bienestar de esta parasitosis. Nuestros resultados muestran que la prevalencia es mayor cuando el fundo es más pequeño (55,3%) que cuando existe menor cantidad de ganado bovino en el fundo (54,4%); la prevalencia es mayor cuando los animales consumen agua de quebrada (62,5%) y que la prevalencia es mayor cuando son criados bajo un sistema mixto (Tabla 5). Numerosos estudios han mostrado que los animales criados bajo pastoreo con presencia de fuentes naturales de agua como ríos y quebradas, están expuestos a un alto riesgo de infección por fascioliasis (Jean-Richard et al., 2014), ya que las características de estos hábitats son propicias para el desarrollo y dispersión de las metacercarias, debido a que ellas se enquistan en la vegetación y se dispersan a través de las corrientes de las quebradas, ríos y arroyos. Además, esta enfermedad es de fácil infección, ya sea por bebida o al consumir alimento contaminado con metacercaria generando mayor prevalencia (Qureshi et al., 2012). Las cuencas estudiadas en esta tesis utilizan el sistema de alimentación extensivo (al pastoreo)

para la producción de carne y leche (Murga et al., 2019). Este tipo de crianza presenta mayor exposición a fascioliasis ya que la actividad ganadera se desarrolla en áreas pequeñas, donde el ganado bovino permanece por un periodo mayor en los potreros (Selemetas y Waal 2015), esto podría estar relacionado con el alto porcentaje de prevalencia encontrado. Un aspecto complementario es considerar el drenaje de los suelos en los fundos ganaderos, cuanto mayor sea el drenaje en los suelos menor será la exposición del ganado bovino a *F. hepatica* (Selemetas et al. 2014), lo que indica la importancia de contar con suelos que tengan un buen drenaje para la aminoración de la fascioliasis. Nuestros resultados muestran que el factor de riesgo frente a la parasitosis para las cuencas ganaderas de Molinopampa, Leimebamba San Lorenzo e Industrial fue de 4,15; 1,99 y 1,039 respectivamente, mientras que para las cuencas ganaderas de Omia, Tingo, Pumahermana, Molinopampa, Ipañá y Pomacochas se encontró un factor protector (Tabla 6). Estos resultados podrían estar relacionados con las características medioambientales de cada lugar; por ejemplo, la humedad, altitud, precipitación pluvial son factores principales que contribuyen con el desarrollo de fasciola. La cuenca de Omia está ubicada a 1395 m.s.n.m., con humedad de 75% y temperatura en un rango de 14 - 21°C, mientras que la cuenca de Molinopampa a 2407msnm, humedad 75% y temperatura en un rango de 7-20°C. El factor protector que presenta Omia, podría explicarse por la diferencia de temperatura y por la dificultad del huésped intermediario y del parásito para desarrollarse en altitudes menores a 2000 m.s.n.m.

La raza Brown Swiss y la raza cruzada presentaron un factor de riesgo de 2,09 y 2,37 veces mayor que las otras razas, estos resultados son similares a los encontrados por Giraldo et al. (2016), quienes indicaron que la raza con mayor susceptibilidad son las razas puras (Normanda). De igual manera Pinilla et al. (2020a), reportaron un riesgo de 2,5 (OR = 2,5, IC95% = 0,7-5,5) veces mayor probabilidad de infección en razas puras versus razas cruzadas. Los hallazgos de este estudio difieren de lo reportado en razas como Holstein, Jersey y otras razas, donde, según un análisis univariado de los factores de riesgo, no registraron influencia significativa (Chaparro et al., 2016). Estas diferencias pueden deberse a factores como las condiciones agroclimáticas y aspectos raciales. Existen zonas donde cada raza bovina se comporta de manera diferente y la susceptibilidad a parásitos puede ser diferente, así como el comportamiento del parásito (Gajadhar et al., 2006; Martínez-Pérez et al., 2012; Sánchez-Andrade et al., 2002), debido

a sus diferentes constituciones genéticas, fisiológicas e inmunológicas (Yatswako y Alhaji, 2017).

La vaquillas, vaquillonas y vacas presentaron un factor de riesgo de infección por fascioliasis de 4,05; 2,88 y 1,62, mientras que las terneras y terneros no mostraron factor de riesgo a esta enfermedad. Los reportes de nuestro estudio coincidieron con los de Pinilla et al. (2020b), quienes encontraron un factor de riesgo para los animales menores a 18 meses de edad de 2,5 veces mayor a infectarse con fascioliasis. La prevalencia del tremátodo suele ser mayor en animales adultos (Valderrama et al., 2016) ya que el ciclo biológico del parásito tiene una duración de 6 a 8 meses; por lo tanto, es poco probable encontrar valores de prevalencia elevados en animales jóvenes; además, los mecanismos de inmunidad celular y humoral protegen contra helmintos parásitos en los primeros meses de vida en terneros (Cordero del Campillo et al., 1999; Moazeni y Ahmadi. 2016). El ganado bovino hembra mostró un riesgo de 1,38 veces más de que el ganado bovino macho, pero no se encontró asociación significativa. Coincidiendo con los reportes de Pinilla et al. (2020a), quienes indicaron no encontrar diferencia significativa entre el sexo y la enfermedad.

En nuestro estudio encontramos un riesgo de 2,07 y 1,65 veces de infección por fascioliasis en fundos con áreas de 1 a 50 ha (pequeño) y 51 a 100 ha (mediano) respectivamente. Lo que coincide con los reportes de Olsen et al. (2015), quienes informaron mayor factor de riesgo en áreas pequeñas en Dinamarca. Esto se puede deber al sistema de crianza en las cuencas de estudio, donde crían a sus animales al pastoreo, ya que disponen de toda el área para pastorear y se ven con mayor exposición a fuentes de alimento y bebidas contaminadas con metacercarias.

Los resultados de prevalencia *post mortem* en hígados de bovinos infectados con fascioliasis reportados en este estudio fue del 90%, estos resultados coinciden con otros estudios realizados en zonas Andinas del Perú como Apurímac, Cajamarca, Cusco y Arequipa (Valderrama, 2016). Esto podría estar relacionado con el sistema de crianza bovina de manera extensiva (pastoreo) que se aplica en las cuencas ganaderas de estudio; sistema de crianza que brinda las condiciones para facilitar el desarrollo de *F. hepatica* y huésped intermediario caracol del género *Lymnaea*. (CDC, 2020; Perea et al., 2018). En un sistema de crianza extensivo no hay un correcto manejo de potreros, control de agua de bebida, control del insuficiente aporte nutricional del pasto con el cual son alimentados

los bovinos Novobilský et al. (2015). Además, el clima es un factor importante que contribuye para el desarrollo e incremento de la carga parasitaria en la zona (Howell et al., 2012).

Nuestro estudio muestra una asociación significativa entre la infección por *Fasciola* spp. raza y categoría bovina como vaca y vaquilla, similar el encontrado anteriormente por (Moriena et al., 2004; Sanchís et al., 2011). Este resultado podría estar relacionado con el tipo de manejo de pastos, proceso de adaptabilidad en caso del ganado Brown Swiss ya que es una raza recientemente introducida en la región a diferencia de otras razas que no mostraron asociación frente a esta parasitosis como el ganado criollo (Stear y Murray, 1994). La alta prevalencia de fascioliasis en hembras podría estar relacionada al mayor número de hembras existentes en un rebaño de crianza bovina, periodo de gestación y lactancia, ya que el sistema inmunológico y hormonal están en constante cambio (León-Gallardo., et al 2018). Sin embargo, en un estudio realizado a nivel de matadero en Nigeria, la prevalencia reportada fue mayor en machos con 55,3% y 41,3% en hembras, lo cual indica que estos valores reportados a nivel de matadero no se pueden generalizar y llevar a nivel y condición de los predios de crianza bovina (Mohammed, 2019).

4.2. Caracterización molecular de muestras de duelas hepáticas de ganado bovino obtenidas a partir de hígados decomisados en mataderos municipales

Mediante el secuenciamiento de regiones de los genes *nad1*, de los 11 haplotipos encontrados, Hap_1, Hap_2, Hap_3, Hap_4, Hap_5, Hap_6, Hap_7, Hap_8, Hap_9, Hap_10 y Hap_11, seis de estos haplotipos Hap_4, Hap_6, Hap_7, Hap_8, Hap_9 y Hap_10 se reportaron por primera vez en este estudio. Mientras que los haplotipos, Hap_1, Hap_2, Hap_3, Hap_5 y Hap_11 ya fueron reportados en otros estudios realizados en Perú y otros países (Itagaki et al., 2005; Ichikawa-Seki et al., 2016; Aghayan et al., 2019; Schwantes et al., 2020; Thang et al., 2020). Ichikawa-Seki et al. (2016). Tras un estudio de caracterización molecular se reportaron 8 haplotipos de 78 muestras de duelas hepáticas adultas obtenidas de diferentes hospedadores definitivos, realizado en Cajamarca Perú (Ichikawa-Seki et al., 2016); nuestros resultados son similares a 4 de estos haplotipos (LC070668, Hap_1; LC070672, Hap_2; LC070666, Hap_3 y LC070667, Hap_5). De igual manera, Schwantes et al. (2020), reportó 24 haplotipos encontrados en 79 muestras de duelas hepáticas procedentes de rumiantes y humanos, realizado en el Sur de Brasil (Schwantes et al., 2020); nuestro resultado fue similar a uno de estos haplotipos

(MK838698, Hap_1). De igual manera, se encontró un haplotipo similar a nuestros resultados en la base de datos del NCBI, proveniente de España, (LC469054, Hap_1). Además, nuestros resultados coinciden con reportes de Le et al. (2000). Con uno de sus haplotipos, USA (NC_002546, Hap_2) (Le et al., 2000). En España se identificaron 26 haplotipos a partir de 196 muestras obtenidas de ovinos y bovinos (Thang et al., 2020), de los cuales dos haplotipos fueron similares a los reportados (LC469078, Hap_2; LC469053, Hap_5). Así mismo, reportes encontrados en Italia (JF824675, Hap_2; JF824678, Hap_11) por (Farjallah et al., 2013); Australia, Japón, (AB207155, AB207169, Hap_2) por (ITAGAKI et al., 2005); Irán (GQ175362, Hap_2) por (Sharifiyazdi et al., 2012). Peng et al. (2009) reportaron 12 haplotipos en 48 muestras de duelas hepáticas adultas extraídas de ganado bovino, coincidiendo con uno de sus haplotipos, China (AB477360, Hap_2) (Peng et al., 2009). Además, Schwantes et al. (2020), reportó en la base de datos del (NCBI), código de 20 haplotipos encontrados en Brasil que coinciden con uno de los haplotipos encontrados en nuestro estudio (MK838765.1, MK838764.1, MK838763.1, MK838762.1, MK838761.1, MK838760.1, MK838757.1, MK838755.1, MK838749.1, MK838744.1, MK838742.1, MK838741.1, MK838739.1, MK838737.1, MK838736.1, MK838735.1, MK838734.1, MK838733.1, MK838732.1, MK838731.1, Hap_5) (Schwantes et al 2020). Uruguay, (AB207154, H_5) (ITAGAKI et al., 2005); Ecuador reportó 7 haplotipos en la base de datos del (NCBI) que coinciden con uno de nuestros haplotipos encontrados (LC273132.1, LC273130.1, LC273129.1, LC273126.1, LC273124.1, LC273120.1, LC273118.1, Hap_5) (Bargues et al., 2021).

Tras un estudio morfológico y molecular se reportaron 6 haplotipos de 42 duelas hepáticas adultas, España, concordando con uno de los haplotipos encontrados en este estudio (MW867319.1, MW867321.1, Hap_5), (Bargues et al., 2021). Con respecto al gen *cox1* de los 21 haplotipos encontrados, Hap_1, Hap_2, Hap_3, Hap_4, Hap_5, Hap_6, Hap_7, Hap_8, Hap_9, Hap_10, Hap_11, Hap_12, Hap_13, Hap_14, Hap_15, Hap_16, Hap_17, Hap_18, Hap_19, Hap_20 y Hap_21. Dieciocho de estos haplotipos Hap_4 al Hap_21, se confirmaron por primera vez en este reporte. Sin embargo, los haplotipos Hap_1, Hap_2 y Hap_3 ya fueron reportados en otros estudios en Uruguay y Japón (AB207170, AP017707.1, Hap_1) (ITAGAKI et al., 2005); España e Irán (MW867312.1, MW867313.1, KR422380.1, Hap_1) (Bargues et al., 2021). Poland (KR422385.1, Hap_2) envió directo al (NCBI). España (MW867310.1, Hap_3) (Bargues et al., 2021).

Toda la búsqueda realizada se efectuó exhaustivamente empleando el programa BLAST del sitio web del Centro Nacional de Información Biotecnológica (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>).

Algunos autores mencionan que la propagación en el mundo de esta parasitosis y diversidad haplotípica para estos dos genes, está estrechamente relacionado con la trashumancia, la cual es una actividad antigua adoptada por el hombre, actividad que se adoptó para la domesticación animal hace más de 12000 años (Mas-Coma et al., 2009). La fascioliasis fue reportada por primera vez en el continente americano después de la introducción del ganado desde Europa, cuando se dio la conquista por parte de los españoles y posterior a ello el esparcimiento en países americanos no hace más de 500 años (Bargues et al., 2017).

Según los resultados obtenidos, se puede inferir que la propagación de fascioliasis se dio desde el continente europeo, asiático y finalmente en las américas, ya que los haplotipos reportados en este estudio son similares a los reportes encontrados en los continentes en mención. Entre los haplotipos encontrados en el gen *nad1*, el Hap_5 fue el de mayor frecuencia en este estudio, el mismo haplotipo que fue reportado en América del Sur como Uruguay, Ecuador Brasil y Perú, en el continente de Europa en España. Caso contrario se reportó con el Hap_2 el cual fue reportado con mayor frecuencia en Europa (España, Italia y Australia), Asia (Japón Irán y China) y en las Américas como (Estados Unidos y Perú); a diferencia de los haplotipos encontrados en el gen *cox1*, el Hap_1 es similar a los reportes encontrados en Asia (Japón e Irán), Europa (España) y América del Sur (Uruguay); caso contrario sucedió con el Hap_2 y Hap_3 que se reportó solo en España, Polonia y Japón; no figuran reportes en otros países de América del Sur más que Uruguay.

La detección de la diversidad haplotípica en los genes *cox1* y *nad1* indica que la infección de esta parasitosis proviene de la misma fuente; por ejemplo, el ganado bovino puede adquirir esta infección mediante el pastoreo al ingerir pasto contaminado utilizado por animales que están infectados, al beber agua de ríos, quebradas y acequias (Sanchis J et al., 2015).

4.3. Pérdidas productivas mediante el decomiso de hígados de ganado bovino en el matadero municipal de Chachapoyas

La estimación de las pérdidas económicas por fascioliasis, mediante la cuantificación de decomiso de hígado en los mataderos de las dos provincias estudiadas, es común; ya que las pérdidas directas son más sencillas de medir. Estudios previos en mataderos de ganado bovino indican que, en el Perú, las pérdidas económicas por esta parasitosis son aproximadamente de 50 millones de dólares al año (Arias-Pacheco et al., 2020; Espinoza et al., 2010). Nuestros resultados muestran una pérdida económica, por decomiso de hígado infectado con fascioliasis, de **S/.104,122,84** (US\$ 27,213,14), que representó el 90% del total de pérdidas económicas. Cabe destacar que aparte de que el hígado presentó fascioliasis también presentó otras enfermedades hepáticas (abscesos, hígados ictericos y otras causas extrañas). Nuestros resultados tienen gran relevancia, ya que muestra la realidad de esta parasitosis y cuantifica el impacto que genera esta pérdida. Este impacto pone en riesgo la seguridad alimentaria de las zonas dedicadas a la ganadería bovina donde la prevalencia de la fascioliasis es alta, ya que esta actividad es de gran aporte para la economía autosustentable al proveer carne, leche, estiércol al productor ganadero y personas que se dedican a la compra y venta de estos productos. Además, el hígado es una fuente muy rica en proteínas, nutrientes y vitaminas (A, D, E y K) y minerales, por lo que su decomiso tiene un impacto negativo en lugares donde hay carencia de fuentes de alimentación (Arias-Pacheco et al., 2020).

Las pérdidas económicas que encontramos son superiores a los S/. 27 533.80 calculadas por Ramos et al. (2020), por decomiso de hígado en Chiclayo, Perú y a los S/. 3342 en carne mediante decomiso de hígado bovino calculados por León-Gallardo y Benítez. (2018) en Otuzco-La Libertad, Perú.

Las pérdidas indirectas son de considerable preocupación en el sector ganadero. Estas pérdidas están directamente relacionadas con la reducción de ganancia de peso del ganado bovino, lo cual tiene gran impacto en la oferta de proteína animal y reducción del ingreso económico del productor ganadero. Esta situación es un tema que invita a pensar seriamente qué acción estratégica tomar para contrarrestar la desnutrición en zonas rurales y urbanas que se ven perjudicadas mediante esta zoonosis parasitaria. (Castro y Chirinos, 2015; Arce et al., 2016). Adicionalmente, varios estudios muestran que existe una fuerte asociación entre la infección por fascioliasis y la condición corporal del ganado bovino, ya que los animales escuálidos presentan mayor frecuencia de infección que los

animales de mejor condición corporal (Belay et al., 2012; Ahmad et al., 2017; Mohammed et al., 2018). Cabe resaltar el importante papel que cumple el hígado en el metabolismo en general, dado que el estrés metabólico podría estar involucrado directamente con la baja ganancia de peso del ganado bovino infectado (Abunna et al., 2010; Jaja et al., 2017).

Nuestros resultados muestran que 210 animales presentan un promedio de 3,544 kg de pérdida productiva de carne por animal mediante decomiso de hígado total y un promedio de 3,256 kg pérdida productiva de carne por animal mediante decomiso de hígado parcial. El cálculo de la pérdida económica total fue de S/. 136,000 correspondiente a 503 animales. Considerando los datos utilizados por El-Tahawy et al. (2017) donde el costo de 1 kg de pérdida productiva de carne equivale a 4,07 dólares estadounidenses. Podemos relativizar nuestros resultados a dólares americanos, así podemos calcular las pérdidas directas e indirectas. Nuestros resultados muestran una pérdida total de US\$ 401,041 (IC 95%: US\$ 442,092– US\$ 359,882). Estos resultados tienen relevancia cuando se extrapolan los cálculos a mayor escala, por ejemplo, en Brasil, Molento et al. (2018) estimaron una pérdida de aproximadamente US\$ 210 millones/ año con las mismas consideraciones (reducción del peso en canal y condena del hígado). Se estima una pérdida económica anual a nivel mundial de US\$ 3,2 mil millones, a causa de fascioliasis (Yokananth et al., 2005).

Nuestros resultados muestran que las pérdidas calculadas mediante decomiso total de hígados están relacionadas con las estaciones secas y lluviosas, donde se reportó que existe mayor pérdida en época lluviosa, coincidiendo con resultados de diversos estudios (Swai y Ulicky, 2009; Khan et al., 2009; Dutra et al., 2010; Ouchene-Khelifi et al., 2018). Estos resultados podrían estar relacionados a factores no controlados como la desparasitación no específica, sumando a ello el factor clima y relieves de terrenos, que permite el encharcamiento (acumulación de agua en un determinado lugar) y mucha humedad que hacen un microambiente favorable para el desarrollo biológico de fascioliasis.

Respecto a la pérdida productiva mediante decomiso de hígado y la raza del ganado bovino, nuestros resultados muestran que la raza Holstein presenta una mayor pérdida. Esta raza, en comparación con otras razas, es la más afectada; por ejemplo, la raza criolla fue la raza con menor pérdida por decomiso de hígado. Una explicación de este fenómeno es que la raza Holstein es una raza mejorada e introducida recientemente a la región, es una raza que tiene una genética muy susceptible a factores ambientales y parásitos

internos y externos. En cambio, el ganado criollo es una raza que se ha adaptado a diferentes microclimas del Perú, esto hace que con el paso del tiempo haya creado resistencia a enfermedades, sea más longevo y con menos exigencias nutricionales para su supervivencia (Núñez-Domínguez et al., 2016; Vallejo et al., 2014a).

4.4. Propuesta de desarrollo sustentable para la reducción de incidencia de *Fasciola* spp. de ganado bovino de la región Amazonas.

Existen muchos aspectos que son relevantes para la producción ganadera, dentro de ellos, la sanidad pecuaria cumpliendo un rol muy importante; son muchos los factores que conducen a la aparición de enfermedades como por ejemplo la fascioliasis, que es una enfermedad que representa un alto riesgo para el bienestar animal y se considera una enfermedad zoonótica desatendida. Esta infección parasitaria provoca graves pérdidas productivas y económicas en el ganado. En Perú, *F. hepatica* ha sido reportada en las tierras altas; sin embargo, no existían datos actuales sobre la prevalencia, caracterización molecular en la región Amazonas, así como el impacto negativo que genera esta parasitosis sobre la producción. En esta región, la ganadería se desarrolla bajo el sistema de crianza extensiva (con suministro de agua ad libitum y un deficiente manejo de pastos), uso indiscriminado de fármaco. Por ello, es de gran importancia conocer las diferentes dimensiones e interrelaciones de sustentabilidad técnica, económica, social y ambiental como herramientas relevantes para el productor (Rangel-Quintos et al., 2014).

Es muy sabido que la sustentabilidad en un sistema productivo busca lograr la viabilidad económica, al mismo tiempo que contribuya a la solidez del sistema ecológico y aceptación de la sociedad, para contar con sistemas autónomos, equitativos y capaces de mejorar la calidad de vida de los productores pecuarios (Yunlong y Smith, 1994). En general, las estrategias para la búsqueda de esta sustentabilidad para este estudio se basan en 5 aspectos: salud y bienestar (3), agua limpia y saneamiento (6), producción y consumo responsable (12), acción por el clima (13), vida de ecosistemas terrestres (15).

4.4.1. Ganadería sustentable

Si bien es cierto, en ganadería bovina se ha ido implementando mucha tecnología con respecto al manejo, sistema de alimentación, genética, bienestar y sanidad, gestión y clasificación de residuos sólidos; sin embargo, aún no se han controlado, en algunos casos, las enfermedades zoonóticas, lo que lleva a uno de los mayores desafíos de

sustentabilidad ganadera (Bernabucci, 2019). Es sabido que, para tener una ganadería sustentable, se debe mantener en equilibrio los cuatro pilares de la ganadería: infraestructura, sanidad, alimentación y manejo ganadero (Nallar et al., 2017). Pero no solo depende de ello, el medio ambiente juega un papel muy importante, puesto que se depende de diversos factores naturales que contribuyen al cambio climático. De acuerdo a lo mencionado, es importante realizar las buenas prácticas ganaderas incorporando el uso de controladores biológicos y manejo de pasturas, con la finalidad de reducir la infección por fascioliasis en bovinos y distomatosis en humanos en la región Amazonas. Contribuyendo de esta manera con la seguridad alimentaria, salud humana y bienestar animal.

La propuesta de sustentabilidad nace a raíz de los resultados relevantes obtenidos en este estudio, como, por ejemplo, la prevalencia estimada en el matadero municipal de Chachapoyas que supera el 90%, lo que ocasiona pérdidas económicas directas e indirectas (decomiso de hígado y pérdida en carcasa) de S/. 240,122.00. Este alto resultado obtenido en prevalencia de fascioliasis implica el riesgo de contagio en humanos por el consumo de alimentos, ya que se trata de una enfermedad zoonótica.

Los resultados obtenidos en el estudio de genómica muestran claramente que la especie que circula en la región Amazonas es *F. hepatica*, y la alta diversidad haplotípica encontrada tanto para el fragmento del gen *nad1* (11 haplotipos) y *cox1* (21 haplotipos) indica que estos parásitos están mutando cada vez más, adaptándose a otras condiciones climáticas (temperatura, humedad) y diferentes relieves geográficos. Así mismo, la frecuencia haplotípica es muy variable, la cual crea incertidumbre debido a los nuevos haplotipos reportados en este estudio, por lo que puede estar relacionado con el uso indiscriminado de medicamentos veterinarios.

Además, se reportó una prevalencia del 52% (901) en las cuatro cuencas de estudio; encontrando que los factores y/o variables que contribuyen para el incremento de esta parasitosis depende mucho del sistema de crianza, alimentación, raza, sexo, fuente de agua y número de animales por área; además, los productores no cuentan con calendario sanitario, poseen bajo conocimiento sobre el uso adecuado de fármacos referido al principio activo, tiempo de retiro, dosis y rotación de fármacos; sumado a ello el desconocimiento de la fisiopatología del parásito, teniendo como consecuencia el uso indiscriminado de fármacos; por ejemplo, los fasciolicidas son muy usado a nivel local,

regional, nacional y mundial. Además, existen reportes que la *Fasciola* spp. está creando resistencia a estos fármacos.

Las malas prácticas ganaderas se evidencian al no realizar una adecuada rotación de potreros, uso de fuentes de aguas contaminadas como quebradas, pozos, puquios y riachuelos con reinfestación permanente de metacercarias bajo un sistema de crianza extensiva.

Para contrarrestar y aminorar la prevalencia de esta parasitosis, se propone el uso de controladores biológicos que sean amigables y no contaminen el medio ambiente, no comprometan el bienestar animal (periodo de residualidad de los fármacos tanto en carne y leche) y no repercuta negativamente en la salud humana; bajar el costo de producción en la compra de fármacos, los cuales vienen siendo usados con un limitado asesoramiento técnico, lo que lleva a crear resistencia antiparasitaria en animales y humanos. Si no controlamos el incremento de la prevalencia de fascioliasis, no solo tendremos pérdidas económicas directas e indirectas, también exponemos la salud y bienestar del animal y por ende ponemos en riesgo la salud humana. Esto es una situación de mucha preocupación, por ello se proponen algunas alternativas de sustentabilidad.

4.4.2. Uso de controladores biológicos para fascioliasis

4.4.2.1. Lectinas como controlador de fascioliasis

El uso de un fasciolicida de origen vegetal que no genere impacto negativo con el medio ambiente es una de las estrategias en la actualidad para la práctica de un desarrollo sostenible. Es por ello el interés del uso de lectinas.

Las lectinas son glicoproteínas que actúan como fijadoras de carbohidratos con origen no inmunológico. Es por ello que tienen la capacidad de actuar como un agente inhibidor sobre la catepsina B de *Fasciola* spp., poseen una facilidad de aglutinación de los eritrocitos, grupos sanguíneos A, B, O y MN y los subgrupos A1 y A2 (Becerra, 2001).

La relación entre lectina de origen vegetal con la proteasa Cathepsina B de *F. hepatica*, en su etapa juvenil recién enquistada (NEJ) y la posibilidad de unión e inhibición de la enzima, podría ocasionar el bloqueo del parásito evitando que atraviese el intestino delgado y penetre en la cápsula hepática. La proteasa catepsina B es la más importante en *F. hepatica* NEJ (Beckham et al., 2009), ya que esta etapa es clave para la invasión y

migración de esta parasitosis; el uso de Lectinas es prometedor para la sustentabilidad de ganadería bovina y control de fascioliasis.

Las lectinas se encuentran en las semillas de las plantas leguminosas y estas plantas podemos encontrarlas a lo largo del territorio peruano, esto nos facilitaría el uso; además, las lectinas no solamente se pueden encontrar en el mundo vegetal, sino también se encuentran en el mundo marítimo como anélidos, crustáceos, moluscos, anfibios y peces.

Estas prácticas se vienen realizando en los países desarrollados, en los países en desarrollo aún no se aplica. Es por ello que se cree conveniente la aplicación y uso de lectinas en la región Amazonas, ya que su aplicación en estudios bioquímicos demostró potencialidades diagnósticas y terapéuticas, particularmente en terapia de tumores malignos. Lectinas acopladas a enzimas o drogas se han utilizado terapéuticamente para lograr efectos concentrados y duraderos en el tejido diana (Bencomo et al.,1985).

4.4.2.2. Hongos como controlador de fascioliasis

La aplicación de ciertos controladores biológicos como alternativa para contrarrestar la fascioliasis a nivel mundial y controlar la *Fasciola* spp., empleando controladores biológicos, es de carácter prometedor en el siglo 21, ya que es armonioso con el medio ambiente y la economía del productor ganadero.

El uso de hongos hematófagos, especialmente los hongos de *Pochonia chlamydosporia*, de *Mucor circinelloides* y *Duddingtonia flagrans*, tiene un efecto positivo para el control de *Fasciola* spp., ya que se alimenta de los huevos de esta (Braga y Araújo, 2014; Voinot et al., 2020).

Anderson S. Dias et al. y Voinot et al. mencionan cómo hacer uso de la *P. chlamydosporia*, *Mucor circinelloides* y *Duddingtonia flagrans*.

- En forma de pellets administrar 1g de *P. chlamydosporia* por cada 10kg. de peso vivo, dos veces por semana.
- Aplicación de esporas de hongos *Mucor circinelloides* directa sobre las heces de ganado bovino infectados con fascioliasis.

El incluir esta actividad en lugares que son considerados endémicos para fascioliasis o hay sospechas de ello sería de mucho aporte y soporte en el control de esta parasitosis.

Debido a que en la zona de estudio el sistema de alimentación es al pastoreo, se puede eliminar los huevos de *Fasciola* spp. antes de su eclosión con el uso de estos hongos. Con ello, se estaría contribuyendo con la eliminación de este parásito y, por ende, con una ganadería sustentable.

4.4.2.3. Manejo de pastizales e instalaciones

La ganadería es una de las actividades principales en el Perú y en la zona de estudio. El sistema de alimentación bovina se basa principalmente en alimentación al pastoreo. Este sistema, si no es manejado correctamente, realmente contribuye con la infección y propagación de fascioliasis. Para controlar y contrarrestar la prevalencia de fascioliasis debemos hacer adopción de buenas prácticas de manejo de pasturas que son:

- Implementar un pastoreo rotacional, consiste en sectorizar áreas grandes en áreas parceladas, donde se hará una evaluación previa del pasto como aporte proteico, producción de materia verde y carga animal por día.
- Con esta práctica evitas el sobrepastoreo, pisoteo de los pastos, pérdida de alimento por pisoteo (orina y heces), de esta manera se puede llevar un manejo adecuado del pastoreo animal y disminuir la contaminación e infección de los pastos y/o bovinos, por consiguiente, humanos con esta parasitosis.

Con el uso de controladores biológicos mencionados se pretende generar un impacto positivo en sanidad animal, medio ambiente, social y económico.

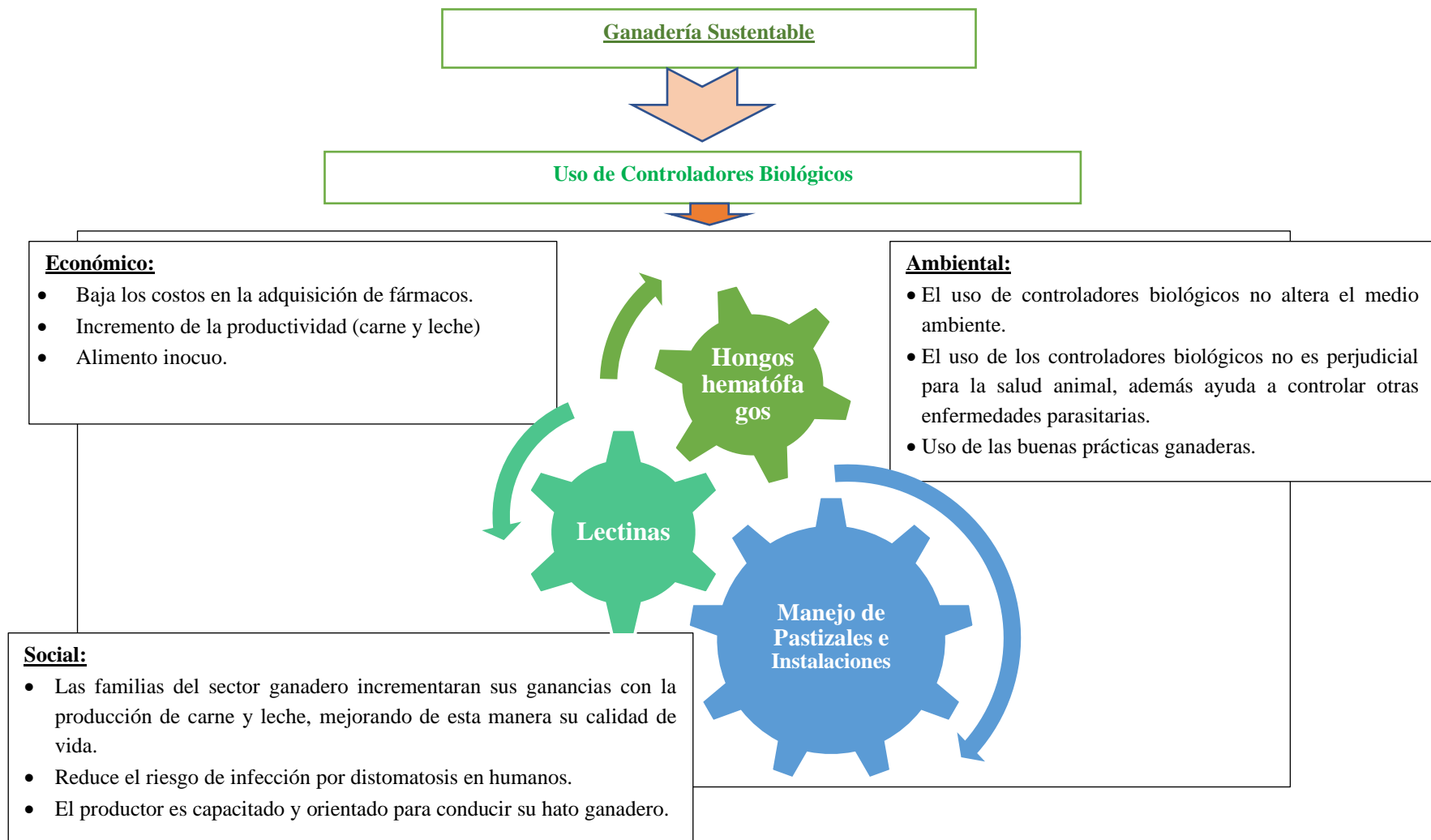


Figura 18. Flujograma de la propuesta de Desarrollo Sustentable para la reducción de la incidencia de fascioliasis en ganado bovino de la región Amazonas.

V. CONCLUSIONES

En este estudio se describe el estado actual de fascioliasis en la región Amazonas, obteniendo una prevalencia de más del 90% en hígados comisados en el matadero municipal de Chachapoyas y un 52% de prevalencia encontrados en muestras de heces en cuencas ganaderas.

Los factores ambientales tales como la humedad, altitud y temperatura favorecen a una mayor presencia de fascioliasis en la región Amazonas.

Las características fenotípicas tales como edad, raza y sexo presentan asociación significativa con fascioliasis. Por ello, el ganado bovino adulto, las razas puras y las hembras son las más afectadas por esta infección.

Existe una relación directa entre el manejo de ganado (sistema de crianza, fuente de bebida y número de animales por ha) y la infección por fascioliasis.

Las malas prácticas ganaderas se expresan al no realizar una adecuada rotación de potreros, uso de fuentes de aguas contaminadas como quebradas, pozos, puquios y riachuelos con reinfestación permanente de metacercarias bajo un sistema de crianza extensiva.

Los productores no cuentan con calendario sanitario y tienen un bajo conocimiento sobre el uso adecuado de fármacos referido al principio activo, tiempo de retiro, dosis y rotación de fármacos; a ello, se suma el desconocimiento de la fisiopatología del parásito.

Los resultados obtenidos en este estudio, correspondiente a genómica, indican que el empleo de regiones de ITS1 e ITS2 es un buen marcador molecular idóneo para la distinción de especies de *Fasciola* spp.

En este estudio, se muestra que es *F. hepatica* la especie que circula en la región Amazonas. En un n=110, se identificaron 33 haplotipos para los genes *nad1* y *cox1*, de los cuales 25 se reportan por primera vez.

Las pérdidas productivas y económicas, calculadas mediante decomiso de hígado, fueron de 53,281.08kg (**S/. 104,122.84**); en cuanto a las pérdidas productivas indirectas (carne), mediante decomiso de hígado, el cálculo fue de 6,800 kg. (**S/.136,000**).

Este estudio muestra la necesidad de concientizar e instruir a los ganaderos sobre la importancia del tratamiento antihelmíntico, de forma rápida y segura, para impedir más pérdidas productivas directas e indirectas.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abunna F., Asfaw L., Megersa B., Regassa A., 2010. Bovine fasciolosis: coprological, abattoir survey and its economic impact due to liver condemnation at Soddo municipal abattoir, Southern Ethiopia. *Tropical Animal Health and Production*, 42, 2, 289–292. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11250-009-9419-3>
- Aghayan, S., Gevorgian, H., Ebi, D., Atoyán, H. A., Addy, F., Mackenstedt, U., ... & Wassermann, M. (2019). *Fasciola* spp. in Armenia: genetic diversity in a global context. *Veterinary parasitology*, 268, 21-31.
- Ahmad, M., Khan, M. N., Sajid, M. S., Muhammad, G., Qudoos, A., & Rizwan, H. M. (2017). Prevalence, economic analysis and chemotherapeutic control of small ruminant fasciolosis in the Sargodha district of Punjab, Pakistan. *Veterinaria Italiana*, 53(1), 47-53.
- Alva, R. M., Leiva, J. C., & Acuña, G. Y. (2020). Prevalencia y factores relacionados a la presentación de *Fasciola hepatica* en bovinos de Huancabamba, Piura, Perú. *Peruvian Agricultural Research*, 2(2).
- Araújo, J. V. de, & Guimarães, M. P. (2002a). Ação do fungo predador de nematóides *Arthrobotrys conoides* sobre larvas infectantes de *Cooperia punctata*. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 9(1), 5–7. <https://doi.org/10.4322/rbcv.2015.339>
- Araújo, J. V., & Guimarães, M. P. (2002b). *ACÇÃO DO FUNGO PREDADOR DE NEMATÓIDES Monacrosporium thaumasium SOBRE Rhabditis spp.* 12(2), 129–132.
- Arce A., Creed-Kanashiro H., Scurrah M., Ccanto R., Olivera E., Burra D., De Haan S., 2016. The challenge of achieving basal energy, iron and zinc provision for home consumption through family farming in the Andes: a comparison of coverage through contemporary production systems and selected agricultural interventions. *Agriculture & Food Security*, 5, Article number: 23. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40066-016-0071-7>
- Arias-Pacheco, C., Lucas, J. R., Rodríguez, A., Córdoba, D., & Lux-Hoppe, E. G. (2020). Economic impact of the liver condemnation of cattle infected with *Fasciola hepatica* in the Peruvian Andes. *Tropical animal health and production*, 52(4), 1927–1932.

<https://doi.org/10.1007/s11250-020-02211-y>

- Bahrami, S., Esmailzadeh, S., & Oryan, A. (2014). Role of oxidative stress in concomitant occurrence of *Fasciola gigantica* and leiomyoma in cattle. *Veterinary Parasitology*, 203(1–2), 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.02.047>
- Bahrami, S., Esmailzadeh, S., & Oryan, A. (2014). Role of oxidative stress in concomitant occurrence of *Fasciola gigantica* and leiomyoma in cattle. *Veterinary Parasitology*, 203(1–2), 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.02.047>
- Barger, I. (1997). Control by management. *Veterinary Parasitology*, 72(3–4), 493–506. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00113-1](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00113-1)
- Barger, I. (1997). Control by management. *Veterinary Parasitology*, 72(3–4), 493–506. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00113-1](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00113-1)
- Bargues, M. D., Artigas, P., Mera Y Sierra, R. L., Pointier, J. P., & Mas-Coma, S. (2007). Characterisation of *Lymnaea cubensis*, *L. viatrix* and *L. neotropica* n. sp., the main vectors of *Fasciola hepatica* in Latin America, by analysis of their ribosomal and mitochondrial DNA. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 101(7), 621–641. <https://doi.org/10.1179/136485907X229077>
- Bargues, M. D., Artigas, P., Mera Y Sierra, R. L., Pointier, J. P., & Mas-Coma, S. (2007). Characterisation of *Lymnaea cubensis*, *L. viatrix* and *L. neotropica* n. sp., the main vectors of *Fasciola hepatica* in Latin America, by analysis of their ribosomal and mitochondrial DNA. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 101(7), 621–641. <https://doi.org/10.1179/136485907X229077>
- Bargues, M. D., Gayo, V., Sanchis, J., Artigas, P., Khoubbane, M., Birriel, S., & Mas-Coma, S. (2017). DNA multigene characterization of *Fasciola hepatica* and *Lymnaea neotropica* and its fascioliasis transmission capacity in Uruguay, with historical correlation, human report review and infection risk analysis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(2), e0005352.
- Bargues, M. D., Gayo, V., Sanchis, J., Artigas, P., Khoubbane, M., Birriel, S., & Mas-Coma, S. (2017). DNA multigene characterization of *Fasciola hepatica* and *Lymnaea neotropica* and its fascioliasis transmission capacity in Uruguay, with historical correlation, human report review and infection risk analysis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(2), e0005352.

- Bargues, M. D., Valero, M. A., Trueba, G. A., Fornasini, M., Villavicencio, A. F., Guamán, R., ... & Mas-Coma, S. (2021). DNA Multi-Marker Genotyping and CIAS Morphometric Phenotyping of *Fasciola gigantica*-Sized Flukes from Ecuador, with an Analysis of the Radix Absence in the New World and the Evolutionary Lymnaeid Snail Vector Filter. *Animals*, *11*(09), 2495.
- Bargues, M. D., Valero, M. A., Trueba, G. A., Fornasini, M., Villavicencio, A. F., Guamán, R., ... & Mas-Coma, S. (2021). DNA Multi-Marker Genotyping and CIAS Morphometric Phenotyping of *Fasciola gigantica*-Sized Flukes from Ecuador, with an Analysis of the Radix Absence in the New World and the Evolutionary Lymnaeid Snail Vector Filter. *Animals*, *11*(09), 2495.
- Becerra Rozo, M. (2001). Consideraciones sobre estrategias sostenibles para el control de *Fasciola hepática* en Latinoamérica. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, *14*(1), 28–35.
- Becerra Rozo, M. (2001). Consideraciones sobre estrategias sostenibles para el control de *Fasciola hepática* en Latinoamérica. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, *14*(1), 28–35.
- Beckham, S. A., Piedrafita, D., Phillips, C. I., Samarawickrema, N., Law, R. H., Smooker, P. M., & Pike, R. N. (2009). A major cathepsin B protease from the liver fluke *Fasciola hepatica* has atypical active site features and a potential role in the digestive tract of newly excysted juvenile parasites. *The international journal of biochemistry & cell biology*, *41*(7), 1601-1612.
- Beckham, S. A., Piedrafita, D., Phillips, C. I., Samarawickrema, N., Law, R. H., Smooker, P. M., & Pike, R. N. (2009). A major cathepsin B protease from the liver fluke *Fasciola hepatica* has atypical active site features and a potential role in the digestive tract of newly excysted juvenile parasites. *The international journal of biochemistry & cell biology*, *41*(7), 1601-1612.
- Beesley, N. J., Caminade, C., Charlier, J., Flynn, R. J., Hodgkinson, J. E., Martinez-Moreno, A., ... & Williams, D. J. L. (2018). *Fasciola* and fasciolosis in ruminants in Europe: Identifying research needs. *Transboundary and emerging diseases*, *65*, 199-216.
- Beesley, N. J., Caminade, C., Charlier, J., Flynn, R. J., Hodgkinson, J. E., Martinez-

- Moreno, A., ... & Williams, D. J. L. (2018). Fasciola and fasciolosis in ruminants in Europe: Identifying research needs. *Transboundary and emerging diseases*, 65, 199-216.
- Belay, E., Molla, W. and Amare, A., 2012. Prevalence and Economic Losses of Bovine Fasciolosis in Dessie Municipal Abattoir, South Wollo Zone, Ethiopia. *European Journal of Biological Sciences*, 4, 2, 53–59. DOI: <https://doi.org/10.5829/idosi.ejbs.2012.4.2.63172>
- Belay, E., Molla, W. and Amare, A., 2012. Prevalence and Economic Losses of Bovine Fasciolosis in Dessie Municipal Abattoir, South Wollo Zone, Ethiopia. *European Journal of Biological Sciences*, 4, 2, 53–59. DOI: <https://doi.org/10.5829/idosi.ejbs.2012.4.2.63172>
- Bencomo, A., Gómez, P., & Basanta, P. L. (1985). Propiedades biológicas, aplicaciones y perspectivas. *Revista Cubana de Hematología e Inmunología*, 1(2), 130-141.
- Bencomo, A., Gómez, P., & Basanta, P. L. (1985). Propiedades biológicas, aplicaciones y perspectivas. *Revista Cubana de Hematología e Inmunología*, 1(2), 130-141.
- Bernabucci, U. (2019). Climate change: impact on livestock and how can we adapt. *Animal frontiers: the review magazine of animal agriculture*, 9(1), 3.
- Bernabucci, U. (2019). Climate change: impact on livestock and how can we adapt. *Animal frontiers: the review magazine of animal agriculture*, 9(1), 3.
- Braga, F. R., & De Araújo, J. V. (2014). Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(1), 71–82. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5366-z>
- Braga, F. R., & De Araújo, J. V. (2014). Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(1), 71–82. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5366-z>
- Braga, F. R., Araújo, J. V., Silva, A. R., Carvalho, R. O., Araujo, J. M., Ferreira, S. R., & Carvalho, G. R. (2010). Viability of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* after passage through the gastrointestinal tract of horses. *Veterinary Parasitology*, 168(3–4), 264–268. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.11.020>
- Braga, F. R., Araújo, J. V., Silva, A. R., Carvalho, R. O., Araujo, J. M., Ferreira, S. R., &

- Carvalho, G. R. (2010). Viability of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* after passage through the gastrointestinal tract of horses. *Veterinary Parasitology*, 168(3–4), 264–268. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.11.020>
- Cabada, M. M., Morales, M. L., Webb, C. M., Yang, L., Bravenec, C. A., Lopez, M., ... & Gotuzzo, E. (2018). Socioeconomic factors associated with *Fasciola hepatica* infection among children from 26 communities of the Cusco Region of Peru. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 99(5), 1180.
- Carnevale, S., Malandrini, J. B., Pantano, M. L., Soria, C. C., Rodrigues-Silva, R., Machado-Silva, J. R., Velásquez, J. N., & Kamenetzky, L. (2017). First genetic characterization of *Fasciola hepatica* in Argentina by nuclear and mitochondrial gene markers. *Veterinary Parasitology*, 245, 34–38. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.08.006>
- Castro J., Chirinos D., 2015. Impact of a comprehensive intervention on food security in poor families of central highlands of Peru. *Food and Public Health*, 5, 213–219. DOI: <https://doi.org/10.5923/j.fph.20150506.02>
- CDC. (2020). *CDC - Fasciola - Biology*.
- Chaparro, J. J., Ramírez, N. F., Villar, D., Fernandez, J. A., Londoño, J., Arbeláez, C., ... & Olivera, M. (2016). Survey of gastrointestinal parasites, liver flukes and lungworm in feces from dairy cattle in the high tropics of Antioquia, Colombia. *Parasite epidemiology and control*, 1(2), 124-130.
- Chávez, A., Sánchez, L., Arana, C., & Suárez, F. (2012). Resistencia a antihelmínticos y prevalencia de fasciolosis bovina en la ganadería lechera de Jauja, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 23(1), 90-97.
- Chávez, A., Sánchez, L., Arana, C., & Suárez, F. (2012). Resistencia a antihelmínticos y prevalencia de fasciolosis bovina en la ganadería lechera de Jauja, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 23 (1), 90-97.
- Chikowore, T. J., Zishiri, O. T., & Mukaratirwa, S. (2019). Phylogenetic analysis of *Fasciola* spp. isolated from slaughtered cattle in KwaZulu-Natal and Mpumalanga provinces of South Africa based on the cytochrome c oxidase subunit I mitochondrial marker. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 86(1), 1–11. <https://doi.org/10.4102/ojvr.v86i1.1706>

- Cordero-del-Campillo, M. (1999). On the Roman god Verminus. *Historia medicinae veterinariae*, 24(1), 11-19.
- Correa, A. C., Escobar, J. S., Durand, P., Renaud, F., David, P., Jarne, P., Pointier, J.-P., & Hurtrez-Boussès, S. (2010). Bridging gaps in the molecular phylogeny of the Lymnaeidae (Gastropoda: Pulmonata), vectors of Fascioliasis. In *BMC Evolutionary Biology* (Vol. 10). <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-381>
- Cortiñas, F. J., Cazapal-Monteiro, C. F., Hernández, J. A., Arroyo, F. L., Miguélez, S., Suárez, J., López de Arellano, M. E., Sánchez-Andrade, R., Mendoza de Gives, P., Paz-Silva, A., & Arias, M. S. (2015). Potential use of *Mucor circinelloides* for the biological control of certain helminths affecting livestock reared in a care farm. *Biocontrol Science and Technology*, 25(12), 1443–1452. <https://doi.org/10.1080/09583157.2015.1062843>
- Dar, J. S., Ganai, B. A., Shahardar, R. A., & Zargar, U. R. (2019). Molecular characterization and Immunodiagnostic potential of various antigenic proteins of species isolated from sheep of North West Himalayan Region. *Helminthologia*, 56(2), 93-107.
- Dias, A. S., Araújo, J. V., Braga, F. R., Puppim, A. C., & Perboni, W. R. (2013). *Pochonia chlamydosporia* in the biological control of *Fasciola hepatica* in cattle in Southeastern Brazil. *Parasitology Research*, 112(6), 2131–2136. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3372-9>
- Dias, Anderson S., Araújo, J. V., Braga, F. R., Araujo, J. M., Puppim, A. C., Fernandes, F. M., Ramos, R. F., Bertonceli, R. M., Da Silva, R. G., & Perboni, W. R. (2012). Biological control of *Fasciola hepatica* eggs with the *Pochonia chlamydosporia* fungus after passing through the cattle gastrointestinal tract. *Parasitology Research*, 110(2), 663–667. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2538-6>
- Diaz-Quevedo et al. (2021). 70^a Reunión Anual de la Sociedad Estadounidense de Medicina Tropical e Higiene-ASTHM. Disponible en: <http://app.core-apps.com/tristar-astmh21/abstract/296b8185-3e4e-43a0-a3f8-6a15956ec8d4>
- Diaz-Quevedo, C., Frias, H., Cahuana, G. M., Tapia-Limonchi, R., Chenet, S. M., & Tejedó, J. R. (2021). High prevalence and risk factors of fascioliasis in cattle in Amazonas, Peru. *Parasitology International*, 85, 102428.

- Dolores Bargues, M., Gayo, V., Sanchis, J., Artigas, P., Khoubbane, M., Birriel, S., & Mas-Coma, S. (2017). *DNA multigene characterization of Fasciola hepatica and Lymnaea neotropica and its fascioliasis transmission capacity in Uruguay, with historical correlation, human report review and infection risk analysis*. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005352>
- Dutra, L. H., Molento, M. B., Naumann, C. R. C., Biondo, A. W., Fortes, F. S., Savio, D., & Malone, J. B. (2010). Mapping risk of bovine fasciolosis in the south of Brazil using Geographic Information Systems. *Veterinary parasitology*, *169*(1-2), 76-81.
- Elliott, T., Muller, A., Brockwell, Y., Murphy, N., Grillo, V., Toet, H. M., Anderson, G., Sangster, N., & Spithill, T. W. (2014). Evidence for high genetic diversity of NAD1 and COX1 mitochondrial haplotypes among triclabendazole resistant and susceptible populations and field isolates of *Fasciola hepatica* (liver fluke) in Australia. *Veterinary Parasitology*, *200*(1–2), 90–96. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.11.019>
- El-Tahawy A.S., Bazh E.K., Khalafalla R.E., 2017. Epidemiology of bovine fascioliasis in the Nile Delta region of Egypt: Its prevalence, evaluation of risk factors, and its economic significance. *Veterinary World*, *10*, 10, 1241–1249. DOI: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.1241-1249>
- Espinoza, J. R., Terashima, A., Herrera-Velit, P., & Marcos, L. A. (2010). HUMAN AND ANIMAL FASCIOLIASIS IN PERU: IMPACT IN THE ECONOMY OF ENDEMIC ZONES. In *Rev Peru Med Exp Salud Publica* (Vol. 27, Issue 4).
- Estévez-Moreno, L. X., María, G. A., Sepulveda, W. S., Villarroel, M., & Miranda-de la Lama, G. C. (2020). Attitudes of meat consumers in Mexico and Spain about farm animal welfare: A cross-cultural study. *Meat Science*, 108377. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108377>
- Farjallah, S., Ben Slimane, B., Piras, C. M., Amor, N., Garippa, G., & Merella, P. (2013). Molecular characterization of *Fasciola hepatica* from Sardinia based on sequence analysis of genomic and mitochondrial gene markers. *Experimental Parasitology*, *135*(3), 471–478. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.08.006>
- Gajadhar, A. A., Scandrett, W. B., & Forbes, L. B. (2006). Overview of food-and water-borne zoonotic parasites at the farm level. *Rev Sci Tech*, *25*(2), 595-606.

- Giraldo Forero, J. C., Díaz Anaya, A. M., & Pulido Medellín, M. O. (2016). Prevalencia de fasciola hepatica en bovinos sacrificados en la planta de beneficio del Municipio de Une, Cundinamarca, Colombia. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 27(4), 751-757.
- Giraldo Forero, J. C., Díaz Anaya, A. M., & Pulido Medellín, M. O. (2016). Prevalencia de fasciola hepatica en bovinos sacrificados en la planta de beneficio del Municipio de Une, Cundinamarca, Colombia. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 27(4), 751-757.
- González, R., Pérez Ruano, M., & Brito, S. (2007). Bovine Fasciolosis. Evaluation of the Main Losses in a Cattle Enterprise. *Revista de Salud Animal*, 29(3), 167–175.
- Hamed, N., Hammami, H., Khaled, S., Rondelaud, D., & Ayadi, A. (2009). Natural infection of *Fasciola hepatica* (Trematoda: Fasciolidae) in *Bulinus truncatus* (Gastropoda: Planorbidae) in northern Tunisia. *Journal of Helminthology*, 83(3), 271–273. <https://doi.org/10.1017/S0022149X08207947>
- Hayashi, K., Ichikawa-Seki, M., Allamanda, P., Wibowo, P. E., Mohanta, U. K., Sodirun, Guswanto, A., & Nishikawa, Y. (2016). Molecular characterization and phylogenetic analysis of *Fasciola gigantica* from western Java, Indonesia. *Parasitology International*, 65(5), 424–427. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2016.06.004>
- Hodgkinson, J. E., Cwiklinski, K., Beesley, N., Hartley, C., Allen, K., & Williams, D. J. L. (2018). Clonal amplification of *Fasciola hepatica* in *Galba truncatula*: Within and between isolate variation of triclabendazole-susceptible and -resistant clones. *Parasites and Vectors*, 11(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2952-z>
- Howell, A., Mugisha, L., Davies, J., LaCourse, E. J., Claridge, J., Williams, D. J., ... & Stothard, J. R. (2012). Bovine fasciolosis at increasing altitudes: Parasitological and malacological sampling on the slopes of Mount Elgon, Uganda. *Parasites & Vectors*, 5(1), 1-10.
- Husch, C., Sattmann, H., Haefeli, I., Prosl, H., & Walochnik, J. (2020). Genetic diversity of *Fasciola hepatica* in Austria. *Parasitology Research*, 119(5), 1697–1701. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06633-3>
- Ichikawa-Seki, M., Ortiz, P., Cabrera, M., Hobán, C., & Itagaki, T. (2016). Molecular

- characterization and phylogenetic analysis of *Fasciola hepatica* from Peru. *Parasitology International*, 65(3), 171–174. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2015.11.010>
- INEI. (2012). *IV Censo Nacional Agropecuario 2012 / Sistema Integrado de Estadísticas Agrarias*. <http://siea.minagri.gob.pe/siea/?q=iv-censo-nacional-agropecuario-2012>
- Itagaki, T., Kikawa, M., Terasaki, K., Shibahara, T., & Fukuda, K. (2005). Molecular characterization of parthenogenic *Fasciola* sp. in Korea on the basis of DNA sequences of ribosomal ITS1 and mitochondrial NDI gene. *Journal of Veterinary Medical Science*, 67(11), 1115-1118.
- Jaja, I. F., Mushonga, B., Green, E., & Muchenje, V. (2017). Seasonal prevalence, body condition score and risk factors of bovine fasciolosis in South Africa. *Veterinary and Animal Science*, 4, 1-7.
- Jean-Richard, V., Crump, L., Abicho, A. A., Naré, N. B., Greter, H., Hattendorf, J., ... & Zinsstag, J. (2014). Prevalence of *Fasciola gigantica* infection in slaughtered animals in south-eastern Lake Chad area in relation to husbandry practices and seasonal water levels. *BMC veterinary research*, 10(1), 1-8.
- Jeyathilakan, N., Murali, K., Anandaraj, A., & Abdul Basith, S. (2012). *In vitro* evaluation of anthelmintic property of ethno-veterinary plant extracts against the liver fluke *Fasciola gigantica*. *Journal of Parasitic Diseases*, 36(1), 26–30. <https://doi.org/10.1007/s12639-011-0064-1>
- Julon, D., Puicón, V., Chávez, A., Bardales, W., Gonzales, J., Vásquez, H., & Maicelo, J. (2020). Prevalence of *Fasciola hepatica* and gastrointestinal parasites in bovine of the Amazonas Region, Peru. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 31(1). <https://doi.org/10.15381/rivep.v31i1.17560>
- Kasahara, S., Ohari, Y., Jin, S., Calvopina, M., Takagi, H., Sugiyama, H., & Itagaki, T. (2021). Molecular characterization revealed *Fasciola* specimens in Ecuador are all *Fasciola hepatica*, none at all of *Fasciola gigantica* or parthenogenic *Fasciola* species. *Parasitology International*, 80, 102215.
- Khalid Mehmood, Hui Zhang, Ahmad Jawad Sabir, Rao Zahid Abbas, Muhammad Ijaz, Aneela Zameer Durrani, Muhammad Hassan Saleem, Mujeeb Ur Rehman, Muhammad Kashif Iqbal, Yajing Wang, Hafiz Ishfaq Ahmad, Tariq Abbas, Riaz

- Hussain, Muhammad Taslim Ghor, Sadaqat Ali, Aman Ullah Khan, Jiakui Li, A review on epidemiology, global prevalence and economical losses of fasciolosis in ruminants, *Microbial Pathogenesis*, Volume 109, 2017, Pages 253-262, ISSN 0882-4010, <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.06.006>.
- Khan, M. A., Afshan, K., Nazar, M., Firasat, S., Chaudhry, U., & Sargison, N. D. (2020). Genetic analysis confirms the presence of *Dicrocoelium dendriticum* in the Himalaya ranges of Pakistan. *bioRxiv*.
- Khan, M. K., Sajid, M. S., Khan, M. N., Iqbal, Z., & Iqbal, M. U. (2009). Bovine fasciolosis: prevalence, effects of treatment on productivity and cost benefit analysis in five districts of Punjab, Pakistan. *Research in Veterinary Science*, 87(1), 70-75.
- Khan, M. N., Sajid, M. S., Khan, M. K., Iqbal, Z., & Hussain, A. (2010). Gastrointestinal helminthiasis: prevalence and associated determinants in domestic ruminants of district Toba Tek Singh, Punjab, Pakistan. *Parasitology research*, 107(4), 787-794.
- Kipyegen, C. K., Muleke, C. I., & Otachi, E. O. (2021). Molecular characterization of *Fasciola* isolates collected from sheep, goats and cattle in Kisumu, Baringo and Narok Counties, Kenya.
- Le, TH, Blair, D., Agatsuma, T., Humair, PF, Campbell, NJ, Iwagami, M., ... y McManus, DP (2000). Filogenias deducidas de órdenes de genes mitocondriales: una advertencia de los gusanos planos parásitos. *Biología Molecular y Evolución*, 17 (7), 1123-1125.
- León-Gallardo, Z., & Benítez, L. (2018). Fasciolosis, prevalence and economic losses in *Bos Taurus*. *Sciéndo*, 21(4), 421–429. <https://doi.org/10.17268/sciendo.2018.047>
- Liu, G. H., Gasser, R. B., Young, N. D., Song, H. Q., Ai, L., & Zhu, X. Q. (2014). Complete mitochondrial genomes of the “intermediate form” of *Fasciola* and *Fasciola gigantica*, and their comparison with *F. hepatica*. *Parasites and Vectors*, 7(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-150>
- Livia Córdova, G., Burga Cisterna, C., Quiroz Dávila, A., Rentería Samamé, B., Mercado Gamarra, A., Del Solar Vela, M., & Cárdenas Callirgos, J. (2021). Prevalencia y factores de riesgo asociados a la infección por *Fasciola hepatica* en bovinos de comunidades campesinas de Huancabamba (PiuraPerú). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 32(1).

- Louangrath, P. (2014). Sample size determination for non-finite population. *Southeast-Asian J. of Sciences*, 3(2), 141-152.
- Marcos, L., Terashima, A., Leguia, G., Canales, M., Espinoza, J., & Gotuzzo, E. (2007). La infección por *Fasciola hepatica* en el Perú: una enfermedad emergente. *Revista de*, 27, 389–396. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292007000400008
- Martínez-Pérez, J. M., Robles-Pérez, D., Rojo-Vázquez, F. A., & Martínez-Valladares, M. (2012). Comparison of three different techniques to diagnose *Fasciola hepatica* infection in experimentally and naturally infected sheep. *Veterinary parasitology*, 190(1-2), 80-86.
- Mas-Coma, Santiago, Valero, M. A., & Bargues, M. D. (2009). Chapter 2 *Fasciola*, Lymnaeids and Human Fascioliasis, with a Global Overview on Disease Transmission, Epidemiology, Evolutionary Genetics, Molecular Epidemiology and Control. In *Advances in Parasitology* (Vol. 69, pp. 41–146). [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(09\)69002-3](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(09)69002-3)
- Moazeni, M., & Ahmadi, A. (2016). Controversial aspects of the life cycle of *Fasciola hepatica*. *Experimental parasitology*, 169, 81-89.
- Mohammed, A. A. (2019). Prevalence and Molecular Study of *Cysticercus tenuicollis* among Sheep in Sulaimani Slaughterhouse. *Council of College of Veterinary Medicine, University of Sulaimani*.
- Mohammed, C., Nigussie, L., Dugasa, J., & Seid, U. (2018). Prevalence of bovine fasciolosis and its associated risk factors in Eastern Shoa, Kuyu District Central Ethiopia. *Arch Vet Sci Technol*.
- Molento, M. B., Bennema, S., Bertot, J., Pritsch, I. C., & Arenal, A. (2018). Bovine fascioliasis in Brazil: Economic impact and forecasting. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 12(July 2017), 1–3. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2017.12.004>
- Molento, M. B., Dutra, L. H., Pritsch, I. C., Garbin, V. P., Pereira, A. M., Gavião, A., ... & Viana, J. G. A. (2020). *Fasciola hepatica* infection in cattle and the use of simulation models for endemic areas. *Journal of Helminthology*, 94.

- Moriena, R. A., Racioppi, O., & Alvarez, J. D. (2004). Fasciolosis en bovinos del nordeste argentino. Prevalencia según edad. *Revista Veterinaria*, 15(1), 3-4.
- Murga, L., Vásquez, H., & Bardales, J. (2019). Caracterización de los sistemas de producción de ganado bovino en las cuencas ganaderas de Ventilla, Florida y Leyva-región Amazonas. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 1(3). <http://revistas.untrm.edu.pe/index.php/CNI/article/view/423>
- Nallar, R., Rolón, W., & Mollericona, J. (2017). Manual para la gestión de una ganadería sostenible. *Wildlife Conservation Society. La Paz. Bolivia*, 124.
- Novobilský, A., Sollenberg, S., & Höglund, J. (2015). Distribution of *Fasciola hepatica* in Swedish dairy cattle and associations with pasture management factors. *Geospatial health*, 9(2), 293-300.
- Núñez-Domínguez, R., Ramírez-Valverde, R., Saavedra-Jiménez, L. A., & García-Muñiz, J. G. (2016). La adaptabilidad de los recursos zoogenéticos Criollos, base para enfrentar los desafíos de la producción animal. *Archivos de Zootecnia*, 65(251), 461-468.
- Ocampo, G., Salgado, R., & Bobadilla, J. R. (1992). La omnipresencia de las helmintiasis. *Salud Pública de México*, 34(3), 357-360.
- Olsen, A., Frankena, K., Bødker, R., Toft, N., Thamsborg, S. M., Enemark, H. L., & Halasa, T. (2015). Prevalence, risk factors and spatial analysis of liver fluke infections in Danish cattle herds. *Parasites & vectors*, 8(1), 1-10.
- Ortiz, P., Scarcella, S., Cerna, C., Rosales, C., Cabrera, M., Guzmán, M., ... & Solana, H. (2013). Resistance of *Fasciola hepatica* against Triclabendazole in cattle in Cajamarca (Peru): a clinical trial and an in vivo efficacy test in sheep. *Veterinary parasitology*, 195(1-2), 118-121.
- Ouchene-Khelifi, N. A., Ouchene, N., Dahmani, H., Dahmani, A., Sadi, M., & Douifi, M. (2018). Fasciolosis due to *Fasciola hepatica* in ruminants in abattoirs and its economic impact in two regions in Algeria. *Tropical Biomedicine*, 35(1), 181-187.
- Peng, M., Ichinomiya, M., Ohtori, M., Ichikawa, M., Shibahara, T., & Itagaki, T. (2009). Molecular characterization of *Fasciola hepatica*, *Fasciola gigantica*, and aspermic *Fasciola* sp. in China based on nuclear and mitochondrial DNA. *Parasitology*

research, 105(3), 809–815. <https://doi.org/10.1007/s00436-009-1459-0>

- Perea, M., Díaz, A., Medellín, M., & Bulla, D. (2018). Fasciolosis: una enfermedad emergente. *Uptc*, 24, 55–66.
- Pereira, A. E., Uribe, N., & Pointier, J. P. (2020). Lymnaeidae from Santander and bordering departments of Colombia: Morphological characterization, molecular identification and natural infection with *Fasciola hepatica*. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 20, 100408.
- Phiri, A. M., Phiri, I. K., Sikasunge, C. S., & Monrad, J. (2005). Prevalence of fasciolosis in Zambian cattle observed at selected abattoirs with emphasis on age, sex and origin. *Journal of veterinary medicine, series B*, 52(9), 414-416.
- Pinilla, J. C., Florez Muñoz, A. A., & Uribe Delgado, N. (2020a). Prevalence and risk factors associated with liver fluke *Fasciola hepatica* in cattle and sheep in three municipalities in the Colombian Northeastern Mountains. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 19(June 2019), 100364. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2019.100364>
- Pinilla, J. C., Florez, A. A., Orlandoni, G., Tobón, J. C., & Ortíz, D. (2020b). Current status of prevalence and risk factors associated with liver fluke *Fasciola hepatica* in cattle raised in different altitudinal regions of Colombia. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 22(November). <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100487>
- Pinilla, J. C., Uribe Delgado, N., & Florez, A. A. (2019). *Fasciola hepatica* y otras parasitosis gastrointestinales en bovinos de doble propósito del municipio Sabana de Torres, Santander, Colombia. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 30(3), 1240-1248.
- Qureshi, A., Tanveer, A., Maqbool, A., & Niaz, S. (2012). Seasonal and monthly prevalence pattern of fasciolosis in buffaloes and its relation to some climatic factors in northeastern areas of Punjab, Pakistan. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 13(2), 134-137.
- Rangel-Quintos, J., Espinosa, J., De Pablos, C., Angón, E., Perea, J., Rivas, J., & García, A. (2014). Indicadores de desarrollo humano en el sistema bovino de doble propósito en el trópico mexicano. *Rev. Cient. Univ. Téc. Estatal Quevedo*, 7, 183-187.

- Raunelli, F., & Gonzalez, S. (2009). Strategic control and prevalence of *Fasciola hepatica* in Cajamarca, Peru. A pilot study. *The Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 7(4), 145.
- Relf, V., Good, B., McCarthy, E., & de Waal, T. (2009). Evidence of *Fasciola hepatica* infection in *Radix peregra* and a mollusc of the family Succineidae in Ireland. *Veterinary Parasitology*, 163(1–2), 152–155. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.04.003>
- Rojas, D., & Cartín, J. A. (2016). Prevalencia de *Fasciola Hepatica* y pérdidas económicas asociadas al decomiso de hígados en tres mataderos de clase a de Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 40(2), 53–62. <https://doi.org/10.15517/rac.v40i2.27366>
- Rosemberg M. 2018. La ganadería bovina en Perú. [Internet]. Disponible en: <http://www.veterinariadigital.com/articulos/la-ganaderia-bovina-en-peru> [Links]
- Rouhani, S., Raeghi, S., Mirahmadi, H., Harandi, M. F., Haghghi, A., & Spotin, A. (2017). Identification of *Fasciola* spp. in the east of Iran, based on the spermatogenesis and nuclear ribosomal DNA (ITS1) and mitochondrial (ND1) genes. *Archives of Clinical Infectious Diseases*, 12(2). <https://doi.org/10.5812/archcid.57283>
- Samamé A., L. M., Chávez V., A., & Pinedo V., R. (2016). Fasciolosis en Vicuñas (*Vicugna vicugna*) de la Sierra Central del Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 27(1), 137. <https://doi.org/10.15381/rivep.v27i1.11459>
- Sánchez-Andrade, R., Paz-Silva, A., Suárez, J. L., Panadero, R., Pedreira, J., López, C., ... & Morrondo, P. (2002). Influence of age and breed on natural bovine fasciolosis in an endemic area (Galicia, NW Spain). *Veterinary Research Communications*, 26(5), 361-370.
- Sanchís, J., Miguélez, S., Solari, M. A., Piñeiro, P., Macchi, M. I., Maldini, G., ... & Arias, M. S. (2011). Seroprevalencia de la fasciolosis bovina en el departamento de Salto (Uruguay). *Rev Ibero-Latin Parasitol*, 70, 163-171.
- SanchisJ, SuarezJ, HillyerGV,HernandezJA,SolariMA,Cazapal-MonteiroC,etal.Determinationof exposure to *Fasciola hepatica* in horses from Uruguay using a

recombinant-based ELISA. *VetMedCzech*. 2015;60(9):483–488

- Sarkari, B., Parhoode, M., Abdolahi Khabisi, S., Shafiei, R., & Mohammadi-ghalehbin, B. (2017). Genetic diversity of *Fasciola* spp. isolates from northern part of Iran: comparison with southwestern isolates. *Journal of Parasitic Diseases*, 41(3), 768–772. <https://doi.org/10.1007/s12639-017-0886-6>
- Schwantes, J. B., Quevedo, P., D'Avila, M. F., Molento, M. B., & Graichen, D. A. S. (2020). *Fasciola hepatica* in Brazil: Genetic diversity provides insights into its origin and geographic dispersion. *Journal of Helminthology*, 94(2017). <https://doi.org/10.1017/S0022149X19000774>
- Schwantes, J. B., Quevedo, P., D'Ávila, M. F., Molento, M. B., & Graichen, D. A. S. (2020). *Fasciola hepatica* in Brazil: genetic diversity provides insights into its origin and geographic dispersion. *Journal of Helminthology*, 94.
- Selemetas, N., Ducheyne, E., Phelan, P., O'Kiely, P., Hendrickx, G., & de Waal, T. (2015). Spatial analysis and risk mapping of *Fasciola hepatica* infection in dairy herds in Ireland. *Geospatial Health*, 9(2), 281-291.
- Selemetas, N., Phelan, P., O'kiely, P., & De Waal, T. (2014). Weather and soil type affect incidence of fasciolosis in dairy cow herds. *Veterinary Record*, 175(15), 371-371.
- SENASA. (2012). *Decreto Supremo N°015-2012-AG*. <https://www.minagri.gob.pe/portal/marco-legal/normas-legales66/decretos-supremos68/2012/8235-decreto-supremo-n015-2012-ag>
- Sharifiyazdi, H., Moazeni, M., & Rabbani, F. (2012). Molecular characterization of human *Fasciola* samples in Gilan province, Northern Iran on the basis of DNA sequences of ribosomal and mitochondrial DNA genes. *Comparative Clinical Pathology*, 21(5), 889-894.
- Siegel, S., & Castellan, N. J. (1972). *Estadística no paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta* (Vol. 4). México: Trillas.
- Stear, M. J., & Murray, M. (1994). Genetic resistance to parasitic disease: particularly of resistance in ruminants to gastrointestinal nematodes. *Veterinary parasitology*, 54(1-3), 161-176.
- Swai, E. S., & Ulicky, E. (2009). An evaluation of the economic losses resulting from

- condemnation of cattle livers and loss of carcass weight due to Fasciolosis: a case study from Hai town abattoir, Kilimanjaro region, Tanzania. *Livestock Research for Rural Development*, 21(11), 186.
- Thang, T. N., Vázquez-Prieto, S., Vilas, R., Paniagua, E., Ubeira, F. M., & Ichikawa-Seki, M. (2020). Genetic diversity of *Fasciola hepatica* in Spain and Peru. *Parasitology International*, 76, 102100.
- Thornton, P. K. (2010). Livestock production: Recent trends, future prospects. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1554), 2853–2867. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0134>
- Ticona, D., Chávez, A., Casas, G., Chavera, A., & Li, O. (2010). PREVALENCIA DE *Fasciola hepatica* EN BOVINOS Y OVINOS DE VILCASHUAMÁN, AYACUCHO. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 21(2), 168–174.
- Valderrama Pomé, A. A. (2016). Prevalencia de fascioliasis en animales poligástricos de Perú, 1985-2015. *Revista de Medicina Veterinaria*, 32, 121. <https://doi.org/10.19052/mv.3861>
- Valderrama, A. A., & Merino, K. (2015). Epidemiología de la distomatosis hepática bovina en Chalhuanca, Apurímac. *XXXVII REUNIÓN CIENTÍFICA ANUAL DE LA ASOCIACIÓN PERUANA DE PRODUCCIÓN ANIMAL*, 299.
- Vallejo, A., Risco, R., Yalta, C., & Veli, E. (2014a). Diversidad genética mitocondrial en poblaciones de bovinos criollos peruanos. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal*, 4, 68–70.
- Voinot, M., Cazapal-Monteiro, C., Hernández, J. Á., Palomero, A. M., Arroyo, F. L., Sanchís, J., Pedreira, J., Sánchez-Andrade, R., Paz-Silva, A., & Arias, M. S. (2020). Integrating the control of helminths in dairy cattle: Deworming, rotational grazing and nutritional pellets with parasiticide fungi. *Veterinary Parasitology*, 278(January), 109038. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109038>
- Wang, D., Zhang, M., Wang, T., Liu, T., Guo, Y., & Granato, D. (2020). Green tea polyphenols mitigate the plant lectins-induced liver inflammation and immunological reaction in C57BL/6 mice via NLRP3 and Nrf2 signaling pathways. *Food and Chemical Toxicology*, 144(June), 111576. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111576>

- Wannasan, A., Khositharattanakool, P., Chaiwong, P., Piangjai, S., Uparanukraw, P., & Morakote, N. (2014). Identification of *Fasciola* species based on mitochondrial and nuclear DNA reveals the co-existence of intermediate *Fasciola* and *Fasciola gigantica* in Thailand. *Experimental Parasitology*, *146*, 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2014.09.006>
- Yatswako, S., & Alhaji, N. B. (2017). Survey of bovine fasciolosis burdens in trade cattle slaughtered at abattoirs in north-Central Nigeria: the associated predisposing factors and economic implication. *Parasite epidemiology and control*, *2*(2), 30.
- Yokananth S., Ghosh S., Gupta S.C., Suresh M.G., Saravanan D., 2005. Characterization of specific and cross-reacting antigens of *Fasciola gigantica* by immunoblotting. *Parasitology Research*, *97*, 1, 41–48. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00436-005-1371-1>
- Yunlong, C., & Smit, B. (1994). Sustainability in agriculture: a general review. *Agriculture, ecosystems & environment*, *49*(3), 299-307.

ANEXOS

Anexo 1. Características geográficas del fundo por cuenca y procedencia

N°	Cuenca	Altitud	Procedencia	Coordenadas WGS84	
				X	Y
2	Leymebamba	2.158 m.s.n.m.	San Miguel	190445.59	9256213.85
3			Shalcapata	187166.60	9255589.31
4			Ipaña	193130.12	9252736.70
5			Ipaña	193152.63	9254181.77
6			Ipaña	189606.37	9250902.59
7			Ipaña	188891.26	9257662.21
8			Pomacochas	188583.72	9257691.19
9			Ipaña	188636.85	9256799.81
10			Leymebamba	190257.77	9257900.35
11			Atuen	190513.12	9255519.18
12			Pomacochas	188402.15	9256968.72
13			Molinopampa	2.407 m.s.n.m.	El Tingo
14	El Tingo	205721.75			9312934.60
15	El Tingo	205546.05			9312392.60
16	El Tingo	205455.69			9312622.70
17	El Tingo	205681.97			9312710.00
18	El Tingo	205764.09			9312467.50
19	El Tingo	206090.20			9311851.30

20			El Tingo	205749.98	9312215.40
21			El Tingo	206055.20	9312081.70
22			Pumahermana	207002.12	9311579.20
23			Molinopampa	205446.29	9312656.50
24			Molinopampa	206130.37	9311814.60
25			Molinopampa	206175.63	9311990.00
26			Molinopampa	206040.92	9311863.30
27			Molinopampa	205067.79	9312679.20
28			Espadilla	206106.60	9312260.20
29			Pumarca	237908.00	9281821.00
30			Abralajas	238545.00	9282158.00
31			Mashuyacu	239155.00	9281391.00
32			Lejia	241093.24	9279448.83
33			Lejia	239116.00	9279250.00
34			Los Olivos	238823.00	9280500.00
35	Omia	1.395 m.s.n.m.	La Unión	240579.00	9280483.00
36			San Juan	230788.33	9276167.15
37			Pomacochas	228830.86	9276111.33
38			Atuen	227182.26	9276434.71
39			Atuen	228750.93	9278078.04
40			Atuen	227819.88	9278383.31
41			Desaguadero	170575.00	9354451.00
42			Vista Hermosa	170464.21	9354591.40

43	La Florida - Pomacochas	2225 m.s.n.m.	San Lorenzo	169813.14	9354638.49
44			San Lorenzo	169761.50	9354275.68
45			San Lorenzo	169457.86	9354567.09
46			San Lorenzo	169447.78	9354300.80
47			San Lorenzo	169286.00	9354145.00
48			La Florida Poma	168890.74	9354025.93
49			La Florida Poma	170529.40	9354656.70
50			La Florida Poma	170631.96	9354576.70
51			La Florida Poma	173036.00	9353222.00
52			La Florida Poma	172065.00	9355606.00
53			Gualulo	177968.00	9352363.00
54			Alto Gualulo	176552.00	9352760.00
55			Industrial	176450.77	9353639.47
56			Industrial	176212.54	9353851.99
57			M. Levanto	176019.54	9354006.00
58			M. Levanto	176353.00	9354514.00
59			Gocma	176138.00	9353776.00
60			Zeta	171977.13	9353893.74
61			Zeta	170428.00	9354039.11

Anexo 2. Características fenotípicas del bovino, las características geográficas del fundo y sistema de alimentación.

FICHA DE DATOS APLICADA AL PRODUCTOR Y ANIMALES MUESTREADOS

DATOS GENERALES.							Fecha:	
Nombre:					Localidad:			
Características geográficas del fundo y sistema de alimentación								
Nombre del fundo:							Categoría	Edad
1. Área total del fundo (Ha): a. Pequeño (1-50) b. Mediano (51-100) c. Grande (100 a más)							Ternero (a)	0-4 meses
2. Numero de total de animales en el fundo: a. 1-50 b. 51-100 c. Más de 100							vaquilla	5-12 meses
3. Fuente de agua para el animal: a) Puquio b) Quebrada c) Acequias d) Pozo-Bebederos e) Rio							vaquillona	13-25 meses
							torete	5-12 meses
4. Sistema de crianza: a) extensivo b) intensivo c) mixto							vaca	Primer parto
							toro	13meses a más
Características fenotípicas del bovino y desparasitación								
5. Fecha última de desparasitación:					Ubicación GPS:		Desparasitación	
Ítem	Categoría	Sexo	Edad	Raza	SI	NO	Nombre del fármaco	
1								
2								
3								

.....
Firma del productor
DNI:

Anexo 3.

Registro de ingreso para beneficio de ganado bovino y comiso de hígado

DÍA	MES	AÑO
		2020

ESTABLECIMIENTO

MATADERO MUNICIPAL DE CHACHAPOYAS

INSPECTOR

M.V

**ESPECIE:
BOVINO**

INSPECCIÓN VETERINARIA

INSPECCIÓN SANITARIA

Ítem	A) ANTEMORTEM					B) POSTMORTEM					
	Procedencia	Sexo	Edad	Raza	Peso/Corporal	Peso/Canal	Peso/Canal	Órgano	Parcial/ Kg.	Total/ Kg.	Grado de Infección (1,2,3 y 4)
1											
2											

órgano	Precio/Kg.
Hígado	

Firma del M.V. del C.M.CH.
DNI:

Anexo 4. Reportes del software estadístico empleado.

1. Asociación objetivo 1

	Case Processing Summary					
	Valid		Cases Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Cuenca Ganadera * Infección por Fasciola	1734	99,9%	2	0,1%	1736	100,0%
Lugar de Procedencia * Infección por Fasciola	1734	99,9%	2	0,1%	1736	100,0%
Sexo * Infección por Fasciola	1734	99,9%	2	0,1%	1736	100,0%
Categoría * Infección por Fasciola	1734	99,9%	2	0,1%	1736	100,0%
Raza * Infección por Fasciola	1734	99,9%	2	0,1%	1736	100,0%
Desparasitación * Infección por Fasciola	1734	99,9%	2	0,1%	1736	100,0%
Farmaco * Infección por Fasciola	1734	99,9%	2	0,1%	1736	100,0%
Área total del fundo * Infección por Fasciola	1734	99,9%	2	0,1%	1736	100,0%
Total de animales del fundo * Infección por Fasciola	1734	99,9%	2	0,1%	1736	100,0%
Fuente de agua * Infección por Fasciola	1734	99,9%	2	0,1%	1736	100,0%
Sistema de crianza * Infección por Fasciola	1734	99,9%	2	0,1%	1736	100,0%

1.2.Cuenca ganadera * Infección por fasciola

Chi-Square Tests			
	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)
Pearson Chi-Square	149,680 ^a	3	,000
Likelihood Ratio	154,483	3	,000
Linear-by-Linear Association	10,160	1	,001
N of Valid Cases	1734		

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 176.30.

1.3.Lugar de procedencia * Infección por fasciola

Chi-Square Tests			
	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)
Pearson Chi-Square	187,628 ^a	28	,000
Likelihood Ratio	198,089	28	,000
Linear-by-Linear Association	22,327	1	,000
N of Valid Cases	1734		

a. 4 cells (6.9%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2.88.

1.4.Sexo * Infección por fasciola

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2- sided)	Exact Sig. (1- sided)
Pearson Chi-Square	8,343 ^a	1	,004		
Continuity Correction ^b	8,021	1	,005		
Likelihood Ratio	8,342	1	,004		
Fisher's Exact Test				,004	,002
Linear-by-Linear Association	8,338	1	,004		
N of Valid Cases	1734				

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 198.40.

b. Computed only for a 2x2 table

1.5.Categoría* Infección por fasciola

Chi-Square Tests			
	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)
Pearson Chi-Square	59,580 ^a	6	,000
Likelihood Ratio	61,027	6	,000
Linear-by-Linear Association	8,778	1	,003
N of Valid Cases	1734		

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 53.32.

1.6.Raza* Infección por fasciola

Chi-Square Tests			
	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)
Pearson Chi-Square	36,170 ^a	4	,000
Likelihood Ratio	36,386	4	,000
Linear-by-Linear Association	4,989	1	,026
N of Valid Cases	1734		

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 36.51.

1.7.Farmaco* Infección por fasciola

Chi-Square Tests			
	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)
Pearson Chi-Square	374,592 ^a	11	,000
Likelihood Ratio	409,197	11	,000
Linear-by-Linear Association	16,196	1	,000
N of Valid Cases	1734		

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 8.17.

1.8. Área total del fundo* Infección por fasciola

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)
Pearson Chi-Square	22,036 ^a	2	,000
Likelihood Ratio	22,157	2	,000
Linear-by-Linear Association	20,907	1	,000
N of Valid Cases	1734		

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 91.27.

1.9. Área total del fundo* Infección por fasciola

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)
Pearson Chi-Square	13,942 ^a	2	,001
Likelihood Ratio	14,016	2	,001
Linear-by-Linear Association	12,468	1	,000
N of Valid Cases	1734		

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 59.09.

1.10. Fuente de agua* Infección por fasciola

Chi-Square Tests			
	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)
Pearson Chi-Square	32,833 ^a	4	,000
Likelihood Ratio	33,030	4	,000
Linear-by-Linear Association	27,587	1	,000
N of Valid Cases	1734		

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 34.59.

1.11. Fuente de agua* Infección por fasciola

Chi-Square Tests					
	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	2,340 ^a	1	,126		
Continuity Correction ^b	2,130	1	,144		
Likelihood Ratio	2,347	1	,125		
Fisher's Exact Test				,140	,072
Linear-by-Linear Association	2,338	1	,126		
N of Valid Cases	1734				

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 112.89.

b. Computed only for a 2x2 table

2. Objetivo 3.

Resúmenes de casos

PÉRDIDA TOTAL

EPOCA DEL AÑO TOTAL	N	Median	Std. Error of Mean
SECO	112	30,6250	,94040
LLUVIA	98	34,2000	1,14256
Total	210	32,1150	,75309

Resúmenes de casos

PÉRDIDA PARACIAL

EPOCA DEL AÑO PARCIAL	N	Median	Std. Error of Mean
SECO	379	15,7400	,25201
LLUVIA	124	13,8750	,43685
Total	503	15,2100	,21983

Resúmenes de casos

PÉRDIDA PARACIAL

SOXO PARCIAL	N	Median	Std. Error of Mean
HEMBRA	364	15,1750	,26146
M	139	15,4800	,40555
Total	503	15,2100	,21983

Resúmenes de casos

PÉRDIDA PARACIAL

EPOCA DEL AÑO PARCIAL	N	Median	Std. Error of Mean	Minimum	Std. Deviation
SECO	379	15,7400	,25201	5,59	4,90610
LLUVIA	124	13,8750	,43685	6,55	4,86451
Total	503	15,2100	,21983	5,59	4,93028

Resúmenes de casos

PÉRDIDA TOTAL

EPOCA DEL AÑO TOTAL	N	Median	Std. Error of Mean	Minimum	Std. Deviation
SECO	112	30,6250	,94040	15,71	9,95224
LLUVIA	98	34,2000	1,14256	14,42	11,31073
Total	210	32,1150	,75309	14,42	10,91333