



Prevalencia de *Fasciola hepatica* y *Calicophoron* spp. en vacunos de crianza extensiva del distrito Florida (Amazonas), Perú



Medali Cueva-Rodríguez ^{a,b*}

Teófilo Torrel ^c

Cristian Hobán ^d

Wuesley Alvarez-García ^b

Flor Mejía ^e

Luis Vargas-Rocha ^c

^a Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Laboratorio de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias de Animales Domésticos - LABISAN, Calle Higos Urco N° 342-350-356 - Calle Universitaria N° 304. Ciudad de Chachapoyas (Amazonas) Perú.

^b Instituto Nacional de Innovación Agraria. Dirección de Desarrollo Tecnológico Agrario. Estación Experimental Baños del Inca. Ciudad de Los Baños del Inca (Cajamarca), Perú.

^c Universidad Nacional de Cajamarca. Facultad de Ciencias Veterinarias. Laboratorio de Parasitología Veterinaria y Enfermedades Parasitarias. Ciudad de Cajamarca, Perú.

^d Universidad Nacional de Cajamarca. Facultad de Ciencias Veterinarias. Laboratorio de Inmunología. Ciudad de Cajamarca, Perú.

^e Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Instituto de Investigación de Ganadería y Biotecnología – IGBI. Ciudad de Chachapoyas (Amazonas), Perú.

* Autor de correspondencia: mcuevar@unc.edu.pe

Resumen:

El presente estudio determina la prevalencia de los huevos de *Fasciola hepatica*, *Calicophoron* spp. y la infección mixta en vacunos de crianza al pastoreo de seis poblados ganaderos del distrito de Florida, Amazonas (Perú). Mediante la técnica de sedimentación natural se examinaron 358 muestras fecales. La prevalencia de *F. hepatica* fue 69.83 % (IC 95% 65.08 – 74.59), seguido de *Calicophoron* spp. 60.34 % (IC 95% 55.27 – 65.40) y una prevalencia de infección mixta 41.62 % (IC95% 36.51 – 46.73). La presencia de huevos de *F. hepatica* no tuvo diferencias entre los poblados, las razas y el grupo etario ($P>0.05$). La presencia de *Calicophoron* spp. y la infección mixta con *F. hepatica* presentaron diferencias entre poblados y la raza ($P<0.05$), a diferencia del grupo etario que fueron similares estadísticamente ($P>0.05$). Se halló una alta prevalencia de huevos fecales de *F. hepatica* y *Calicophoron* spp., situación que podría estar dado por las condiciones ambientales que permiten el óptimo desarrollo del hospedador intermediario y del sistema de crianza al pastoreo de los vacunos.

Palabras clave: Prevalencia, Coprología, Crianza extensiva, Trematodo hepático, Trematodo ruminal.

Recibido: 23/06/2023

Aceptado: 01/09/2023

Introducción

Las infecciones parasitarias se consideran uno de los problemas sanitarios más frecuentes e importantes en los animales de pastoreo. Los parásitos son un obstáculo para una ganadería rentable, ocasionan reducción de la producción y pérdidas económicas debido a los costes de control, tratamiento y mortalidad^(1,2).

La fasciolosis es una enfermedad de importancia veterinaria y en salud pública, se desarrolla a partir de la ingesta de metacercarias de *Fasciola hepatica* junto al alimento o agua de bebida^(3,4). El parásito se ubica en los conductos biliares y la vesícula biliar, causa hepatitis traumática grave durante las etapas migratoria y biliar, puede conducir a la pérdida de la función del hígado por el daño al parénquima hepático y a los conductos biliares que desencadena una fibrosis hepática^(5,6). En diversas regiones a nivel mundial se considera como una enfermedad reemergente y una amenaza creciente que aumenta principalmente por la rápida evolución de las actividades humanas⁽⁷⁻⁹⁾.

Por otro lado, la paramfistomosis, enfermedad causada por trematodos ruminales de la familia Paramphistomidae se ha asociado con una significativa morbilidad y severos trastornos patológicos como enteritis y anemia, especialmente por la actividad de trematodos juveniles en el intestino del hospedador definitivo, el rumiante^(10,11). En infecciones agudas las formas inmaduras pueden causar la muerte del animal⁽¹²⁾. Los parásitos adultos causan rumenitis, diarrea catarral aguda, hemorragia, desprendimiento de las papilas ruminales y fibrosis, además, de zonas con acantosis en retículo, edema, úlcera, etc.⁽¹³⁻¹⁵⁾. Al igual que en *F. hepatica*, los rumiantes se infectan al ingerir metacercarias enquistadas en los forrajes o el agua⁽¹⁶⁾.

Ambas parasitosis se encuentran distribuidas alrededor de todo el mundo, de manera principal en regiones tropicales y subtropicales^(17,18). Debido a que comparten el mismo hospedador intermediario (caracoles de la familia *Lymnaeidae*), las coinfecciones son posibles tanto en el hospedador intermediario como en el hospedador definitivo⁽¹⁹⁾. La presencia de estos parásitos se agudiza en condiciones favorables como suelos húmedos, precipitación pluvial alta, crianza en sistema extensivo, cuerpos de agua dulce que aloja al caracol^(20,21). Por otra parte, causan gran impacto económico negativo en la industria ganadera, afectan la tasa de crecimiento, eficiencia de la conversión alimenticia, rendimiento reproductivo, canales en malas condiciones, los animales experimentan reducciones en la producción y calidad de la leche⁽²²⁻²⁵⁾.

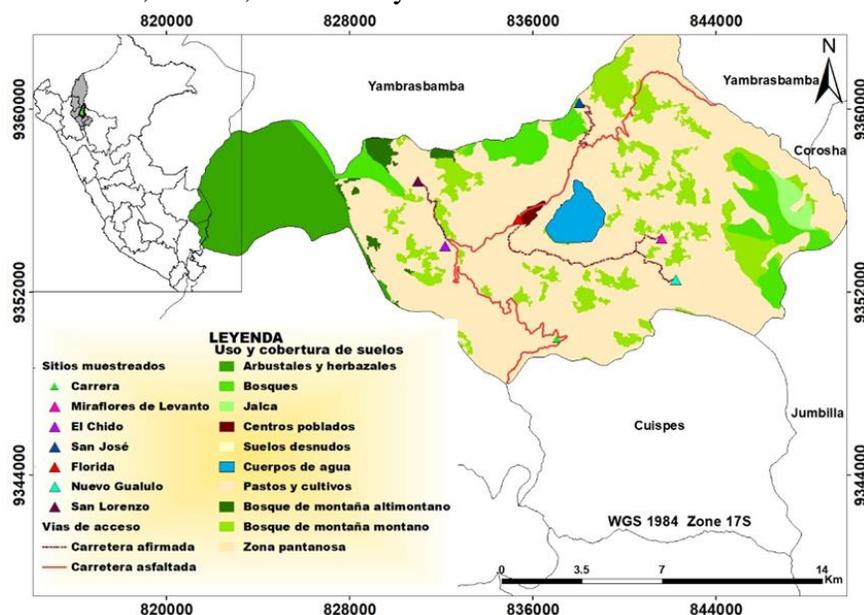
La falta de conocimiento sobre el adecuado control de los problemas de sanidad animal y el bajo nivel de educación de los ganaderos, en particular en los pequeños sistemas de producción, podrían explicar en parte la alta prevalencia de la fasciolosis bovina en ciertos escenarios⁽²⁶⁾. Debido a los frecuentes reportes de hallazgos de parásitos en rumen e hígados en vacunos faenados para consumo humano, la importancia en la salud pública y los gastos económicos implicados en los tratamientos farmacológicos, el presente estudio determina la prevalencia de *F. hepatica* y *Calicophoron* spp. en bovinos de crianza en pastoreo de seis poblados del distrito Florida, región Amazonas (Perú). De esta manera se busca comprender y lograr un panorama más exacto de la presencia de ambos trematodos en bovinos del área de estudio con una consecuente toma de medidas preventivas y profilácticas.

Material y métodos

Área de estudio

El estudio abarcó seis poblados del distrito de Florida (Figura 1), ubicados en la provincia de Bongará, región Amazonas, al Nororiente de la Amazonía del Perú. La zona de estudio presenta un clima húmedo tropical con lluvias frecuentes durante todo el año y una temperatura promedio anual de 16 °C.

Figura 1: Mapa de localización de los poblados de la zona de estudio. Los poblados se ubican entre 2,280 a 2,750 msnm y una humedad relativa de 70 hasta 95 %



Selección de animales y toma de muestras de heces

El tamaño muestral ($n= 358$) se estimó de una población de 5,200 vacunos (censo previo), proporción esperada de 0.5, nivel de confianza del 95% y una precisión del 5%. Un muestreo estratificado con asignación proporcional al número de bovinos determinó la cantidad de muestras a considerar por cada sector. Se consideraron hembras bovinas mayores a 2 años de edad y de cualquier raza. La identificación y edad se tomaron de los aretes. Los animales eran criados en sistemas de crianza extensiva, alimentados con rye grass (*Lolium multiflorum*), trébol (*Trifolium repens*), kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y otros pastos nativos (Figura 2).

Figura 2: Vacunos evaluados de la raza Brown Swiss criados en campo abierto alimentados con forraje verde



Las muestras de heces (aproximadamente 100 g) se recolectaron directamente del recto de los animales utilizando guantes obstétricos estériles. Cada animal fue sujetado por el propietario ayudado de una soga tratando de ocasionar el menor dolor posible, con las manos cubiertas con guantes de látex se lavó la región perianal con agua y jabón. Las muestras se transportaron al Laboratorio de Inmunología de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Cajamarca en una caja de poliestireno expandido con geles refrigerantes (2 a 4 °C). El tiempo de traslado duró entre 8 a 10 h. En el Laboratorio se mantuvieron en refrigeración a 4 °C hasta su procesamiento después de 24 h. Se utilizaron materiales limpios y rotulados para evitar contaminación cruzada.

Análisis de las muestras

Las muestras se procesaron mediante sedimentación natural⁽²⁷⁾. Los huevos se observaron en estereoscopio con luz halogenada a 5X (Nikon SMZ 745 – USA) y la identificación se basó en las características morfológicas propias del huevo de cada parásito⁽²⁸⁻³¹⁾.

Actitud de los ganaderos frente a los parásitos en los vacunos

Según las observaciones realizadas durante el proceso de recolección de las muestras fecales, se constató que los ganaderos en las zonas evaluadas carecían de conocimientos acerca de mecanismos de prevención y control de trematodos en sus animales. No se identificaron medidas de control o prevención, tales como el manejo adecuado de las excretas, la gestión de bebederos, la implementación de sistemas de drenaje en los predios, la adopción de

prácticas de riego tecnificado, ni la ejecución de estrategias dirigidas al control del hospedador intermediario, entre otras. Además, no se obtuvo información coherente respecto a la existencia de programas de desparasitación; incluso, los ganaderos demostraron desconocimiento acerca de la presencia de trematodos ruminales en sus animales.

Según los ganaderos, en ocasiones realizan desparasitaciones con productos químicos a base de albendazol para el control de *F. hepatica*, conocido localmente como Fasciola, Alicuya, Linguash, Babosa, Distoma y Hoja de Coca. Este proceso se llevaba a cabo en temporada de lluvias (diciembre a abril) o cuando los animales presentaban diarrea persistente o mostraban signos de decaimiento, sin la supervisión de un profesional pecuario, y en ausencia de un diagnóstico parasitológico en laboratorio mediante observación de huevos fecales o algún otro método.

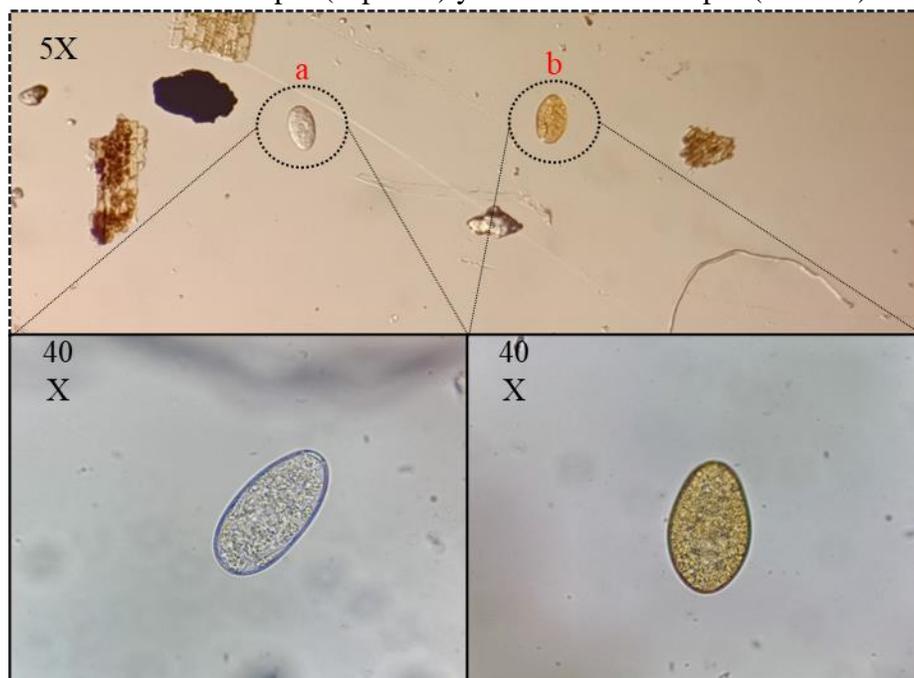
Análisis estadístico

Los datos se procesaron mediante estadística descriptiva. Los casos positivos se expresaron en porcentajes con intervalos de confianza del 95%⁽³²⁾. El grado de asociación entre la prevalencia por poblados, raza y grupo etario se determinó mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Con la función de la correlación de Phi se determinó el grado de la relación lineal entre la prevalencia mixta de los trematodos.

Resultados

En los seis poblados del distrito Florida se encontraron vacas de las razas Brown Swiss y Fleckvieh, comprendidas entre 2 a más de 6 años de edad, criados al pastoreo. Se observaron huevos de *Fasciola hepatica* y *Calicophoron* spp. (Figura 3) en todos los poblados. Huevos de *F. hepatica* se observó en el 69.83 % (IC 95%: 65.08–74.59) de los animales, seguido de *Calicophoron* spp. 60.34 % (IC 95%: 55.27–65.40) y una prevalencia de infección mixta de 41.62 % (IC 95%: 36.51–46.73) (Cuadro 1).

Figura 3: Huevos de *Calicophoron* spp. (a) y *Fasciola hepatica* (b). Vista en estereomicroscopio (superior) y vista en microscopio (inferior)



Discusión

El trematodo *Fasciola hepatica* superó por menos de una decena (9.12 %) a *Calicophoron* spp., con una prevalencia de infección mixta global de 41.16 % (IC 95% 36.09 – 46.23). La presencia de huevos de *F. hepatica* no tuvo diferencias entre los poblados, las razas y el grupo etario ($P>0.05$). La prevalencia de *Calicophoron* spp. y la infección mixta con *F. hepatica* presentaron diferencias entre sectores y la raza ($P<0.05$), a diferencia del grupo etario que fueron similares estadísticamente ($P>0.05$). La correlación de Phi mostró resultados variables de la asociación en la presentación de ambos parásitos en los animales.

La alta presencia de los huevos de los parásitos podría deberse al buen desarrollo del hospedador intermediario en condiciones ambientales óptimas, zonas húmedas y variedad de temperatura y pisos altitudinales, por ejemplo. Los lugares evaluados oscilan entre 11 a 20 °C y cuentan con una humedad relativa de 60 a 95 %. Dado que ambos trematodos comparten el mismo hospedador intermediario, moluscos pulmonados de agua dulce de la familia Lymnaeidae^(33,34), esta condición facilitaría su coinfección tanto en el hospedador intermediario y definitivo.

Las zonas en las que se realizó el muestreo se ubican entre los 1,300 y 2,750 msnm, rangos idóneos para el desarrollo de las parasitosis. Formas parasitarias de *F. hepatica* se han reportado incluso en hospedadores intermediarios por debajo de los 400 msnm⁽³⁵⁾ y hasta los

4,500 m⁽³⁶⁾. Por su parte, *Calicophoron microbothrioides* se puede ubicar por debajo de los 200 m y también en zonas montañosas sobre los 3,000 m, donde existe disponibilidad de agua estancada para el ciclo de los hospedadores intermediarios, áreas usadas para la ganadería⁽³⁷⁾.

El clima influye en la tasa de infección parasitaria del ganado^(38,39). Como se muestra en la Figura 1, la zona comprendida en el estudio abarca gran vegetación y cuerpos de agua, condiciones favorables al desarrollo del hospedador intermediario. En general la provincia presenta un clima húmedo tropical con lluvias frecuentes durante todo el año y una temperatura promedio anual de 16 °C. En una zona cercana al área de estudio, investigadores encontraron que las fuentes de agua, principalmente arroyos, acequias y ríos son factores de riesgo a *F. hepatica*⁽⁴⁰⁾.

La raza de los bovinos se ha reportado como un factor de riesgo en diversos estudios. Las razas puras son más susceptibles de infección que las razas cruzadas⁽⁹⁾. En un estudio realizado en Amazonas (Perú) se determinó que la raza Brown Swiss es más susceptible a la infección por *F. hepatica* y otros parásitos⁽⁴⁰⁾. Sin embargo, se debe tener en cuenta que el tamaño muestral para esta raza fue mayor en comparación a otras razas dentro de su estudio. En la presente investigación se halló mayor prevalencia de trematodos en la raza Fleckvieh. A pesar de una evidente mayor cantidad de vacunos de la raza Brown Swiss (n= 203) frente a Fleckvieh (n= 155), las prevalencias fueron iguales estadísticamente, por lo que los resultados no consolidan a la raza como un factor de riesgo.

De manera similar, en otro estudio se reportó que la raza Simmental fue un factor de riesgo de infección por *F. hepatica* en comparación a vacunos Brown Swiss y otras razas⁽⁴¹⁾. A pesar que el tamaño muestral de la raza Simmental fue mayor (como en el presente estudio), los resultados fueron estadísticamente similares a los de Brown Swiss, solamente difirieron con las razas Jersey, Holstein y cruzado, aunque el tamaño de la muestra de estas razas fue muy bajo. Similares al presente estudio, diversos autores no han reportado resultados concluyentes en los que la raza sea un factor de riesgo, sino que la presencia de parásitos está influenciada por una mayor población de cierta raza en un determinado lugar^(14,42,43).

La edad del hospedador definitivo también se relaciona estrechamente con la infección⁽¹⁵⁾. Al igual que en otros reportes, la presencia de parásitos fue mayor en animales de mayor edad. La mayoría de autores muestran que la prevalencia de trematodos es mayor en animales mayores a 2.5 años^(21,43,44). Los trematodos del rumen no han mostrado alguna asociación entre la edad y su infección⁽¹⁴⁾. Los animales infectados tienen un límite de edad para infectarse, ya que el ciclo biológico de los Paramphistomidae dura por lo menos de 6 a 8 meses⁽⁹⁾, por lo que los animales de 12 a 24 meses de edad pueden tener mayor riesgo de infección. Además, los animales se crían en condiciones de pastoreo desde el nacimiento hasta su salida del hatu ganadero.

Diversas investigaciones han indicado que la crianza extensiva representa un factor de infección por parásitos^(40,43). Los bovinos explotados en regímenes extensivos o semiextensivos en los que el acceso al pasto se produce durante casi todo el año a lo largo de la vida del animal tienen mayor predisposición frente a los animales explotados en sistemas intensivos o semiintensivos⁽⁴⁵⁾.

La alta prevalencia de *F. hepatica* en bovinos se ha reportado dentro de la misma región del Amazonas, prevalencias de 45.6 %⁽⁴⁰⁾ y 59.5 %⁽⁴¹⁾. En otras regiones del Perú también se ha descrito la presencia de trematodos en el ganado. En tres distritos de la provincia de Oxapampa (Pasco - Perú), mediante sedimentación rápida, de 408 muestras de ganado lechero, se halló una prevalencia del 10.0 ± 2.9 % de *F. hepatica* y 28.4 ± 4.4 % de un digeneo de la familia Paramphistomidae⁽⁴⁶⁾.

Aunque los estudios sobre los trematodos ruminales en bovinos en Perú son pocos, se ha reportado en Amazonas a *C. microbothrioides*⁽³¹⁾. En la región Loreto (selva peruana) se identificaron huevos de trematodos de la familia Paramphistomidae⁽⁴⁷⁾. En San Martín (región de la selva peruana) se ha reportado *Cotylophoron* sp. en bovinos⁽⁴⁸⁾. Ambos parásitos se han identificado en diversos lugares del planeta. En América del Sur, se ha descrito a *Cotylophoron cotylophorum* en Colombia⁽⁴⁹⁾, *Cotylophoron marajoensis* n. sp. en Brazil⁽⁴⁹⁾ y *C. microbothrioides* en Chile⁽³⁷⁾. Así como en el continente americano, se ha reportado la presencia de ambos trematodos en países europeos^(50,51,52), africanos^(34,26,38), asiáticos⁽⁵³⁾, etc. Estas regiones cuentan con condiciones similares a los del presente estudio, crianza extensiva, condiciones climatológicas, la edad, la raza, etc., como factores de riesgo. El cambio climático y la globalización contribuye a la distribución de los parásitos en un territorio donde el hospedador intermediario haya logrado su adaptación⁽¹⁹⁾.

Debido a la elevada prevalencia de huevos de trematodos identificados en las áreas objeto de muestreo, se plantea que esta situación puede atribuirse a las condiciones de crianza de los bovinos, los cuales carecen de programas formales de control y prevención de parasitosis. A pesar de la eventual utilización de albendazol para el manejo de *F. hepatica*, no se han reportado estudios locales de eficacia antiparasitaria de bases químicas.

Conclusiones e implicaciones

Se halló una alta prevalencia de huevos fecales de *Fasciola hepatica* y *Calicophoron* spp. Las condiciones climatológicas y geográficas, además del sistema de crianza al pastoreo y la ausencia de programas de control y prevención predispondrían la elevada presencia de ambos trematodos. Sin embargo, se requieren mayores estudios en los que se evalúen los sistemas de drenaje, prácticas de manejo de potreros y bebederos en el control y prevención de

trematodos, así como evaluaciones de resistencia antiparasitaria y estudios integrales desde un enfoque de Una Salud.

Fuentes de financiamiento

El trabajo fue financiado por el programa de becas y cofinanciamiento del CONCYTEC, CIENCIACTIVA del Ministerio de Educación del Perú (Conv-191-2015-Fondecyt). M.C.-R- agradece al CONCYTEC por el financiamiento. Al Dr. Rodrigo Sanabria, investigador de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP – Argentina por la orientación y direccionamiento en la presente investigación.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener algún tipo de conflicto de interés que haya interferido en los resultados de la presente investigación.

Literatura citada:

1. Kumar N, Rao TKS, Varghese A, Rathor VS. Internal parasite management in grazing livestock. *J Parasit Dis* 2013;37:151-157. <https://doi.org/10.1007%2Fs12639-012-0215-z>.
2. Rashid M, Rashid MI, Akbar H, Ahmad L, Hassan MA, Asraf K, *et al*. A systematic review on modelling approaches for economic losses studies caused by parasites and their associated diseases in cattle. *Parasitol* 2019;146(2):129-141. <https://doi.org/10.1017/s0031182018001282>.
3. Hussein A-NA, Hassan IM, Khalifa RMA. Description of eggs and larval stages of fasciola, light and scanning electron microscopic studies. *J Parasitol Res* 2010;5(1):1-12. <https://dx.doi.org/10.3923/jp.2010.1.12>.
4. Zaraei M, Arefkhah N, Moshfe A, Ghorbani F, Mikaeili F, Sarkari B. Prevalence of bovine fascioliasis in a new-emerging focus of human fascioliasis in BoyerAhmad district, southwest of Iran. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2019;66:101350. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.101350>.
5. Kowalczyk SJ, Czopowicz M, Weber CN, Müller E, Kaba J. Accuracy of a diagnostic model based on serum biochemical parameters in detecting cows at an increased risk of chronic fascioliasis. *Vet Parasitol* 2018;254:15-20. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.02.038>.

6. Pérez-Caballero R, Siles-Lucas M, González-Miguel J, Martínez-Moreno FJ, Escamilla A. Pathological, immunological and parasitological study of sheep vaccinated with the recombinant protein 14-3-3z and experimentally infected with *Fasciola hepatica*. *Vet Immunol Immunopathol* 2018;202:115-121. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2018.07.006>.
7. Orbegozo-Medina RA, Martínez-Sernández V, González-Warleta M, Castro-Hermida JA, Mezo M, Ubeira FM. Vaccination of sheep with Quil-A® adjuvant expands the antibody repertoire to the Fasciola MF6p/FhHDM-1 antigen and administered together impair the growth and antigen release of flukes. *Vaccine* 2018;36(15):1949-1957. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.02.115>.
8. Sabourin E, Alda P, Vázquez A, Hurtrez-Boussès S, Vittecoq M. Impact of human activities on fasciolosis transmission. *Trends Parasitol* 2018;34(10):891-903. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2018.08.004>.
9. Pinilla JC, Flores AA, Delgado N. Prevalence and risk factors associated with liver fluke *Fasciola hepatica* in cattle and sheep in three municipalities in the Colombian Northeastern Mountains. *Vet Parasitol Reg Stud Reports* 2020;19:100364. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2019.100364>.
10. Zintl A, Garcia-Campos A, Trudgett A, Chryssafidis AL, Talavera-Arce S, Fu Y, *et al*. Bovine paramphistomes in Ireland. *Vet Parasitol* 2014;204(3-4):199-208. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.05.024>.
11. Giraldo J, Díaz A, Pulido M. Prevalencia de *Fasciola hepatica* en bovinos sacrificados en la planta de beneficio del municipio de Une, Cundinamarca, Colombia. *Rev Inv Vet Perú* 2016;27(4):751-757. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v27i4.12572>.
12. Jyoti L, Prasad A, Singh N. Evaluation of antibody response to various developmental stage specific somatic antigens of *Calicophoron epiclitum* in goats. *Biomed Res Int* 2014;2014: 505484. <http://doi.org/10.1155/2014/505484>.
13. Sanabria REF, Romero JR. Review and update of paramphistomosis. *Helminthologia* 2008;45(2):64-68. <https://doi.org/10.2478/s11687-008-0012-5>.
14. Arias M, Lomba C, Dacal V, Vázquez L, Pedreira J, Francisco I, *et al*. Prevalence of mixed trematode infections in an abattoir receiving cattle from northern Portugal and north-west Spain. *Vet Rec* 2011;168(15):408. <http://doi.org/10.1136/vr.d85>.

15. Fuertes M, Pérez V, Benavides J, González-Lanza MC, Mezo M, González-Warleta M, *et al.* Pathological changes in cattle naturally infected by *Calicophoron daubneyi* adult flukes. *Vet Parasitol* 2015;209:188-196. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.02.034>.
16. Sanchís J, Sanchez-Andrade R, Macchi MI, Pineiro P, Suarez JL, Cazapal-Monteiro C, *et al.* Infection by *Paramphistomidae* trematodes in cattle from two agricultural regions in NW Uruguay and NW Spain. *Vet Parasitol* 2013;191(1-2):165-171. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.07.028>.
17. Eduardo SL. The taxonomy of the family *Paramphistomidae* Fischöeder, 1901 with special reference to the morphology of species occurring in ruminants. III. Revision of the genus *Calicophoron* Näsmark, 1937. *Syst Parasitol* 1983;5(1):25-79. <https://doi.org/10.1007/BF00010983>.
18. Saijuntha W, Tantrawatpan C, Agatsuma T, Wang C, Intapan PM, Maleewong W, *et al.* Revealing genetic hybridization and DNA recombination of *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* in nuclear introns of the hybrid Fasciola flukes. *Mol Biochem Parasitol* 2018;223:31-36. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2018.06.004>.
19. Jones RA, Williams HW, Dalesman S, Brophy PM. Confirmation of *Galba truncatula* as an intermediate host snail for *Calicophoron daubneyi* in Great Britain, with evidence of alternative snail species hosting *Fasciola hepatica*. *Parasit Vectors* 2015;8:656. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1271-x>.
20. Jiménez-Rocha AE, Argüello-Vargas S, Romero-Zuñiga JJ, Sequeira-Avalos JA, Dolz G, Montenegro-Hidalgo V, *et al.* Environmental factors associated with *Dictyocaulus viviparus* and *Fasciola hepatica* prevalence in dairy herds from Costa Rica. *Vet Parasitol Reg Stud Reports* 2017;9:115-121. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2017.06.006>.
21. Isah UM. Studies on the prevalence of fascioliasis among ruminant animals in northern Bauchi state, north-eastern Nigeria. *Parasite Epidemiol Control* 2019;3:e00090. <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.parepi.2019.e00090>.
22. Howell A, Baylis M, Smith R, Pinchbeck G, Williams D. Epidemiology and impact of *Fasciola hepatica* exposure in high-yielding dairy herds. *Prev Vet Med* 2015;121(1-2):41-48. <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.prevetmed.2015.05.013>.
23. León-Gallardo ZE, Benítez L. Fasciolosis, prevalencia y pérdidas económicas en *Bos taurus*. *SCIÉENDO* 2018;21(4):421-429. <https://doi.org/10.17268/sciendo.2018.047>.

24. da Costa RA, Corbellini LG, Castro-Janer E, Riet-Correa F. Evaluation of losses in carcasses of cattle naturally infected with *Fasciola hepatica*: effects on weight by age range and on carcass quality parameters. *Int J Parasitol* 2019;49(11):867-872. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2019.06.005>.
25. Kelley JM, Rathinasamy V, Elliott TP, Rawlin G, Beddoe T, Stevenson MA, *et al.* Determination of the prevalence and intensity of *Fasciola hepatica* infection in dairy cattle from six irrigation regions of Victoria, South-eastern Australia, further identifying significant triclabendazole resistance on three properties. *Vet Parasitol* 2020;277:109019. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.109019>.
26. El Damaty HM, Mahmmud YS, Gouda SM, Sobhy NM. Epidemiological and ultrasonographic investigation of bovine fascioliasis in smallholder production system in Eastern Nile Delta of Egypt. *Prev Vet Med* 2018;158:35-42. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2018.07.009>.
27. Dennis WR, Stone WM, Swanson LE. A new laboratory and field diagnostic test for fluke ova in feces. *J Am Vet Med Assoc* 1954;124(922):47-50.
28. Dube S, Obiamiwe BA, Aisein MSO. Descriptive studies of the genus *Calicophoron* Fiscoeder, 1901 in some Nigerian cattle. *Discov Innov* 2005;17(3-4):186-192.
29. Valero MA, Perez-Crespo I, Periago V, Khoubbane M, Mas-Coma S. Fluke egg characteristics for the diagnosis of human and animal fascioliasis by *Fasciola hepatica* and *F. gigantica*. *Acta Trop* 2009;111(2):150-159. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.04.005>.
30. Graham-Brown J, Williams DJL, Skuce P, Zadoks RN, Dawes S, Swales H, *et al.* Composite *Fasciola hepatica* faecal egg sedimentation test for cattle. *Vet Rec* 2019;184(19):589. <https://doi.org/10.1136/vr.105128>.
31. Cueva-Rodríguez M, Torrel S, Mejía F, Vargas-Rocha L. Morphometry of fresh paramphistomids (Trematoda: Digenea) collected from local abattoir in Chachapoyas, Amazonas, Peru. *Rev Inv Vet Perú* 2022;33(5): e21994. <https://doi.org/10.15381/rivep.v33i5.21994>.
32. Thelwall M. Confidence intervals for normalised citation counts: Can they delimit underlying research capability? *J Informetr* 2017;11(4):1069-1079. <https://doi.org/10.1016/j.joi.2017.09.002>.

33. Dinnik JA. *Calicophoron daubneyi* sp. nov. from cattle and its snail host in the Kenya Highlands. Parasitol 1962;52(1-2):143-151. <https://doi.org/10.1017/S0031182000024070>.
34. Mahulu A, Clewing C, Stelbrink B, Chibwana FD, Tumwebaze I, Stothard JR, *et al.* Cryptic intermediate snail host of the liver fluke *Fasciola hepatica* in Africa. Parasit Vectors 2019;12:573. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3825-9>.
35. Vignoles P, Rondelaud D, Dreyfuss G. Determination of zones at risk for fasciolosis in the department of Haute-Vienne, central France: a retrospective study on natural infections detected in 108,481 *Galba truncatula* for 37 years. Parasite 2017;24:55. <https://doi.org/10.1051/parasite/2017055>.
36. Londoño P, Chávez A, Li O, Suárez F, Pezo D. Presence of Lymnaeidae snails with larvae of *F. hepatica* in altitudes over 4000 m above sea level in the southern highlands of Peru. Rev Inv Vet Perú 2009;20(1):58-65. <https://doi.org/10.15381/rivep.v20i1.533>.
37. Cerda C, Veloso-Frías J, Lobos-Chávez F, Oyarzún-Ruiz P, Henríquez A, Loyola M, *et al.* Morphological and molecular identification with frequency analysis of *Calicophoron microbothrioides* in central Chile. Braz J Vet Parasitol 2019;28(4):582-591. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612019076>.
38. Titi, A. Mekroud, A. Sedraoui, S. Vignoles, P. Rondelaud, D. Prevalence and intensity of *Calicophoron daubneyi* infections in cattle from north-eastern Algeria. J Helminthol 2009;84(2):177-181. <https://doi.org/10.1017/S0022149X09990502>.
39. Hernández-Guzmán K, Molina-Mendoza P, Olivares-Pérez J, Alcalá-Canto Y, Olmedo-Juárez A, Córdova-Izquierdo A, *et al.* Prevalence and seasonal variation of *Fasciola hepatica* in slaughtered cattle: the role of climate and environmental factors in Mexico. J Helminthol 2021;95:eE46. <https://doi.org/10.1017/S0022149X21000444>.
40. Frias H, Maraví C, Arista-Ruiz MA, Yari-Briones DI, Paredes-Valderrama JR, Rojas Y, *et al.* Prevalence, coinfection, and risk factors associated with *Fasciola hepatica* and other gastrointestinal parasites in cattle from the Peruvian Amazon. Vet World 2023;16(3):546-553. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2023.546-553>.
41. Julon D, Puicón V, Chávez A, Bardales W, Gonzales J, Vásquez H, *et al.* Prevalence of *Fasciola hepatica* and gastrointestinal parasites in bovine of the Amazonas Region, Perú. Rev Inv Vet Perú 2020;31(1):e17560. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i1.17560>.
42. Ferreras MC, Gonzalez-Lanza C, Perez V, Fuertes M, Benavides J, Mezo M, *et al.* *Calicophoron daubneyi* (Paramphistomidae) in slaughtered cattle in Castilla y León (Spain). Vet Parasitol 2014;199:268-271. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.10.019>.

43. Forstmaier T, Knubben-Schweizer G, Strube C, Zablotzki Y, Wenzel C. Rumen (*Calicophoron/Calicophoron* spp.) and Liver Flukes (*Fasciola hepatica*) in cattle-prevalence, distribution, and impact of management factors in Germany. *Animals* 2021;11(9):2727. <https://doi.org/10.3390/ani11092727>.
44. Bellet C, Green MJ, Vickers M, Forbes A, Berry E, Kaler J. *Ostertagia* spp., rumen fluke and liver fluke single- and poly-infections in cattle: An abattoir study of prevalence and production impacts in England and Wales. *Prev Vet Med* 2016;132:98-106. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.08.010>.
45. González-Warleta M, Lladosa S, Castro-Hermida JA, Martínez-Ibeas AM, Conesa D, Muñoz F, *et al.* Bovine paramphistomosis in Galicia (Spain): Prevalence, intensity, aetiology and geospatial distribution of the infection. *J Vet Parasitol* 2013;191(3-4):252-263. <http://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.09.006>.
46. Paucar S, Chávez A, Casas E, Suárez F. Prevalence of fascioliasis and paramphistomiasis in dairy cattle in Oxapampa, Pasco. *Rev Inv Vet Perú* 2010;21(1):87-92. <https://doi.org/10.15381/rivep.v21i1.314>.
47. Pinedo R, Chávez A, Casas E, Suárez F, Sánchez N, Huamán H. Prevalence of trematodes of the Paramphistomatidae Family in cattle of Yurimaguas district, province of Alto Amazonas, Loreto. *Rev Inv Vet Perú* 2010;21(2):161-167. <https://doi.org/10.15381/rivep.v21i2.132>.
48. Rojas K, Serrano-Martínez E, Tantaleán M, Casas C, Quispe M. Presence of *Cotylophoron* sp in bovine of the Province of Moyobamba, Peru. *Rev Inv Vet Perú* 2015;26(3):519-524. <https://doi.org/10.15381/rivep.v26i3.11179>.
49. Alarcón EP, Velásquez LE. 2009. Morphological description of *Cotylophoron cotylophorum* (Digenea: Paramphistomidae) in cattle from Rionegro, Antioquia, Colombia. *Rev Colomb Cienc Pecu* 2009;22(2):168-77. <https://doi.org/10.17533/udea.rccp.324383>.
50. Amaral VS, Sousa DF, Benigno RNM, Pinheiro RHS, Gonçalves EC, Giese EG. 2020. *Cotylophoron marajoensis* n. sp. (Digenea: Paramphistomidae) a parasite of *Bubalus bubalis* on Marajó Island, Pará, Brazilian Amazon. *Braz J Vet Parasitol* 2020;29(4):e018320. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612020101>.
51. Sanna G, Varcasia A, Serra S, Salis F, Sanabria R, Pipia P, *et al.* *Calicophoron daubneyi* in sheep and cattle of Sardinia, Italy. *Helminthologia*, 2016;53(1):87-93. <https://doi.org/10.1515/helmin-2015-0069>.

52. Huson KM, Oliver NAM, Robinson MW. Paramphistomosis of ruminants: An emerging parasitic disease in Europe. *Trends Parasitol* 2017;33(11):836-844. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.07.002>.
53. Hajipour N, Mirshekar F, Hajibemani A, Ghorani M. Prevalence and risk factors associated with amphistome parasites in cattle in Iran. *Vet Med Sci* 2021;7(1):105-111. <https://doi.org/10.1002%2Fvms3.330>.

Cuadro 1: Prevalencia (%) de los trematodos hallados en vacunos de crianza al pastoreo del distrito de Florida, Amazonas (Perú)

Variable	Categoría	No	<i>Fasciola hepatica</i>		<i>Calicophoron spp.</i>		Asociación		Coeficiente Phi
			Positivos	% (IC95%)	Positivos	% (IC95%)	Positivos	% (IC95%)	
Poblado	El Chido	41	26	63.41 (48.67 - 78.16) ^a	19	46.34 (31.08 - 61.61) ^a	11	26.83 (13.27 - 40.39) ^a	-0.106
	Florida	145	96	66.21 (58.51 - 73.91) ^a	100	68.97 (61.44 - 76.50) ^b	67	46.21 (38.09 - 54.32) ^{ab}	0.025
	Miraflores de Levanto	41	30	73.17 (59.61 - 86.73) ^a	27	65.85 (51.34 - 80.37) ^{ab}	18	43.90 (28.71 - 59.09) ^{ab}	-0.204
	Nuevo Gualulo	58	45	77.59 (66.85 - 88.32) ^a	42	72.41 (60.91 - 83.92) ^b	32	55.17 (42.37 - 67.97) ^b	-0.054
	San José	15	13	86.67 (69.46 - 100) ^a	5	33.33 (9.48 - 57.19) ^a	5	33.33 (9.48 - 57.19) ^{ab}	0.277
	San Lorenzo	58	40	68.97 (57.06 - 80.87) ^a	23	39.66 (27.07 - 52.24) ^a	16	27.59 (16.08 - 39.09) ^a	0.011
	<i>Valor p</i>			0.347		<0.001		0.013	
Raza	Brown Swiss	203	141	69.46 (63.12 - 75.79) ^a	142	69.95 (63.64 - 76.26) ^b	99	48.77 (41.89 - 55.64) ^b	0.009
	Fleckvieh	155	109	70.32 (63.13 - 77.51) ^a	74	47.74 (39.88 - 55.61) ^a	50	32.26 (24.90 - 39.62) ^a	-0.058
	<i>Valor p</i>			0.860		<0.001		0.002	
Grupo etario	2 - 4 años	244	167	68.44 (62.61 - 74.27) ^a	148	60.66 (54.53 - 66.79) ^a	101	41.39 (35.21 - 47.57) ^a	0.007
	> 4 - 6 años	72	52	72.22 (61.88 - 82.57) ^a	41	56.94 (45.51 - 68.38) ^a	27	37.50 (26.32 - 48.68) ^a	-0.073
	> 6 años	42	31	73.81 (60.51 - 87.11) ^a	27	64.29 (49.79 - 78.78) ^a	21	50.00 (34.88 - 65.12) ^a	-0.137
	<i>Valor p</i>			0.693		0.192		0.424	
Total		358	250	69.83% (65.08 - 74.59)	216	60.34 (55.27 - 65.40)	149	41.62 (36.51 - 46.73)	

^{ab} Para cada variable las letras diferentes entre sus niveles son diferencias significativas, en cada factor (Kruskall-Wallis, $P < 0.05$).