

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias de la Salud

**Prevalencia de distomatosis en équidos de trabajo del
cantón Quinindé, Provincia de Esmeraldas – Ecuador.
Proyecto de investigación**

Carlyna Michelle Salinas Orbe

Medicina Veterinaria

Trabajo de titulación presentado como requisito
para la obtención del título de
Médico Veterinario

Quito, 21 de diciembre de 2018

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ
COLEGIO DE CIENCIAS DE LA SALUD

**HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

**Prevalencia de distomatosis en équidos de trabajo del cantón Quinindé,
Provincia de Esmeraldas – Ecuador.**

Carlyna Michelle Salinas Orbe

Calificación:

Nombre del profesor, título académico.

Juan Sebastian Galecio Naranjo, MV., MSc

Firma del profesor

Quito, 21 de diciembre de 2018

Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante:

Nombres y apellidos:

Carlyna Michelle Salinas Orbe

Código:

00128427

Cédula de Identidad:

1718132994

Lugar y fecha:

Quito, 21 de diciembre de 2018

RESUMEN

La distomatosis es una enfermedad zoonótica causada por *Fasciola hepática*, la cual además es una preocupación en el sector pecuario por las pérdidas económicas que genera. En Ecuador no existen estudios recientes relacionados con la prevalencia de *F. hepática* en la costa ecuatoriana, y existen pocos reportes sobre su incidencia en humanos y ganado bovino en todo el país. La distomatosis en équidos está presente en varios países de sur América, tanto en climas templados como tropicales, aunque en menor medida si se compara con su presencia en el ganado bovino. La relación que mantienen en pastoreo bovinos y équidos nos cuestionan si existen équidos portadores de la enfermedad que no son tratados y no permiten la eliminación completa del parásito en distintos recintos. Este trabajo tiene como objetivo determinar la prevalencia de distomatosis en équidos de trabajo del cantón Quinindé, provincia de Esmeraldas-Ecuador. El estudio se realizó en el Cantón de Quinindé provincia de Esmeraldas del Ecuador en Julio del 2017, esta es una zona tropical con una temperatura media de 24.8°C y humedad relativa de 87%, con varias precipitaciones presentes en el año. El estudio se realizó en 4 recintos dedicados a la producción de palma africana, en donde hacen uso de équidos para labores de carga. Los recintos fueron Santa Isabel, Guacharaco y Boca Arenal, los cuales se sitúan en la llanura litoral, con suelos húmedos y sin presencia de ríos cercanos. En cambio, en el recinto de El Botado se ubica en la región del valle, con suelos saturados de agua y cercano a varios ríos y riachuelos. Se obtuvieron y procesaron muestras fecales y sanguíneas de un total de 181 y 267 équidos respectivamente. Las muestras fecales procesadas mediante técnica modificada de Dennis presentaron una prevalencia de 0,5% mientras que las muestras sanguíneas procesadas mediante ELISA presentaron 5% de prevalencia. Siendo la hacienda el Botado el único recinto positivo con 1,28% de prevalencia en muestras de heces y 9,85% de prevalencia en muestras sanguíneas. Con esta información se concluyó que la técnica de ELISA permitió identificar la presencia del parásito en équidos en el cantón Quinindé. Altas temperaturas y humedad, localización cercana a ríos, predisposición a formaciones de riachuelos y ubicación en el valle son los factores que contribuyeron a la presencia del parásito en el recinto del Botado. La prueba de ELISA(FhrAPS), posee una mayor capacidad diagnóstica, por lo cual debe ser la prueba de elección en los programas de erradicación y estudios relacionados con *F. hepática*.

Palabras clave: Fasciola hepática, équidos de trabajo, prevalencia, clima tropical, Ecuador

ABSTRACT

Distomatosis is a zoonotic disease caused by *Fasciola hepatica*, which is also a concern in the livestock sector for the economic losses it causes. In Ecuador there are no recent studies related to the prevalence of *Fasciola hepatica* in the Ecuadorian coast, and there are few reports on its incidence in humans and cattle throughout the country. Distomatosis in equids is present in several countries of South America, both in temperate and tropical climates, although to a lesser extent when compared with its presence in cattle. The relationship that cattle and equids maintain in grazing questions us if there are equidae carriers of the disease that are not treated and do not allow the complete elimination of the parasite in different enclosures. The objective of this work is to determine the prevalence of distomatosis in working equids of Quinindé canton, province of Esmeraldas-Ecuador. The study was conducted in the Canton of Quinindé province of Esmeraldas of Ecuador in July 2017, this is a tropical zone with an average temperature of 24.8°C and relative humidity of 87%, with several precipitations present in the year. The study was conducted in 4 sites dedicated to the production of African palm, where they make use of equidae for loading. The enclosures were Santa Isabel, Guacharaco and Boca Arenal, which are located in the coastal plain, with humid soils and without the presence of nearby rivers. On the other hand, the El Botado site is located in the valley region, with soils saturated with water and close to several rivers and streams. Fecal and blood samples from a total of 181 and 267 equids were obtained and processed respectively. Faecal samples processed by modified Dennis technique presented a prevalence of 0.5% while blood samples processed by ELISA showed a 5% prevalence. The hacienda being the Botado, the only positive precinct with 1.28% prevalence in fecal samples and 9.85% prevalence in blood samples. With this information it was concluded that the ELISA technique allowed to identify the presence of the parasite in equidae in the Quinindé canton. High temperatures and humidity, location close to rivers, predisposition to stream formations and location in the valley are the factors that contributed to the presence of the parasite in the enclosures El Botado. The ELISA test (FhrAPS) has a greater diagnostic capacity, which is why it should be the test of choice in the eradication programs and studies related to *F. hepatica*.

Key words: Fasciola hepática, equidae of work, Tropic zone, Ecuador

TABLA DE CONTENIDO

Introducción.....	9
Material y Métodos.....	15
Resultados	20
Discusión.....	22
Conclusiones.....	28
Referencias	29
Anexo 1: Estudios realizados en otras regiones de Latinoamérica	37
Anexo 2: Protocolo para recolección, almacenamiento y transporte de muestras de suero para análisis de <i>Fasciola hepática</i> en équidos.....	38

Índice de tablas

Tabla 1 Prevalencia de <i>F. hepática</i> por análisis coprológico por el método de Dennis (n=181).	20
Tabla 2 Prevalencia de <i>F. hepática</i> por análisis FhrAPS (proteína recombinante de Fasciola hepática) – ELISA (n=267).	21

Índice de Figuras

Figura 1 Prevalencia total de parásitos encontrados en équidos del cantón Quinindé	20
---	-----------

Introducción

Fasciola hepática es un parásito helminto trematodo, diseminado por caracoles de la familia *Lymnaeidae*. Genera una enfermedad conocida como fasciolosis o distomatosis hepática provocada por el consumo de metacercarias, la cuál afecta tanto a herbívoros como omnívoros. Su distribución es a nivel mundial y se han registrado algunos brotes en humanos relacionados con el consumo de berros, existiendo una prevalencia mayor en América del Sur, en donde existen aproximadamente 2,39 millones de personas infectadas, de las cuales, cerca de la mitad se encuentran en Bolivia, Ecuador y Perú (Pan American Health Organization, 2017).

Para el caso de los animales, el ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador, estima que entre el 10% - 60% de la población bovina presenta el parásito (Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador, 2010). En el Ecuador existen pocos estudios publicados sobre la incidencia de Distomatosis hepática, cada estudio varía en metodología diagnóstica y prevalencia total encontrada. Algunos estudios de importancia han sido realizados en la en la provincia del Azuay en los meses de Diciembre 2010 y Marzo 2011 mediante ELISA, en donde se estudiaron 478 bovinos provenientes de 13 recintos y se encontró una prevalencia del 24,9% (Narvárez, 2011). En Loja se realizó un estudio similar, pero el método de diagnóstico fue la sedimentación. Dentro de este estudio se encontró una prevalencia de 25% para bovinos y 0% para porcinos y caprinos (Gaona, 2015). Con respecto a otras especies como ovinos, équidos, porcinos, jabalíes, conejos y liebres, no existen datos oficiales sobre la prevalencia de la enfermedad en el país.

El Ministerio de Salud Pública del Ecuador estima que el 1% de la población humana de la región Andina del Ecuador presentan la enfermedad (Narváez, 2011). Sin embargo, los resultados varían con respecto a diferentes estudios realizados en diferentes universidades (Narváez, 2011). Al respecto, estudios realizados en la provincia de Cotopaxi reportan un 6% de prevalencia (Trueba et al., 2000), mientras que estudios realizados en la misma provincia, pero en una comunidad diferente determinan una prevalencia del 0,5% (Gozalbo et al., 2004). Existen estudios en otras provincias como Azuay con una prevalencia de 1,7% (Narváez, 2011) y en Cañar 30,34%, (Pinos & Estrada, 2012).

Dentro de las enfermedades parasitarias, la distomatosis hepática genera grandes pérdidas económicas en el sistema pecuario. La falta de planes de desparasitación, la poca rotación de pastos y el poco control de los moluscos, afecta directamente a los animales de producción asociado a la disminución en la producción de carne y/o leche, mala conversión alimenticia, retraso en el crecimiento y decomisos de hígados infestados con *F. hepática* en los mataderos (González, Pérez, & Brito, 2007). Se estima que en Ecuador las pérdidas económicas entre los años 2016 – 2017 se encontraban en alrededor de \$18,896.7 dólares americanos (Buestán, 2017). Mientras que en équidos se ha relacionado con un bajo rendimiento en actividades deportivas. Sin embargo, no se ha relacionado con problemas hepáticos serios (Muñoz et al., 2008).

Dentro del estudio de la distomatosis hepática es necesario entender el ciclo de vida del parásito, empezando por el desarrollo de las larvas adultas en los conductos biliares del hospedador definitivo. Los huevos que estos producen ingresan al duodeno junto con la bilis y son eliminados a través de las heces del animal (Moazeni & Ahmadi,

2016). El ciclo de *F. hepática* se encuentra relacionada con la presencia de caracoles del género *Lymnaea*, siendo este el hospedador intermediario. Para que el parásito se desarrolle en miracidio ciliado en primer lugar lo realiza dentro del huevo, y además, se necesita de una temperatura ambiental de 10° a 30° C, una zona de alta húmeda (continuas lluvias o zonas donde se acumula agua), la cual incluye la existencia de una fina película de agua junto a la humedad de las heces, y adecuada tensión de oxígeno, ya que se ha demostrado que los huevos sobreviven el doble en condiciones aerobias (Luzón, 2002). Cuando el miracidio eclosiona del huevo, este nada en busca del caracol. Una vez que el parásito entra en el cuerpo del caracol, el miracidio pierde sus cilios, cambia a esporocisto, dentro de cada esporocisto se desarrollan redias que crecen hasta reventar el esporocisto liberándose a la glándula digestiva (hígado) del caracol. Las cercarías abandonan el caracol en las semanas 4 – 7 semanas posterior a la infección, dentro de dos horas se establecen en varias plantas acuáticas. Posteriormente cada cercaría pierde su cola convirtiéndose en metacercarias, la fase infecciosa para los huéspedes definitivos (Moazeni & Ahmadi, 2016).

Después de la ingesta de metacercarias, estas eliminan su capa externa en el duodeno y migran a través de la pared del duodeno dentro de la cavidad peritoneal, y penetran en la cápsula de Glisson del hígado, en donde crecen hasta ingresar a los conductos biliares alrededor de las semanas 6 – 8 después de la ingestión. Durante su estadía en los conductos biliares maduran y se forman en larvas adultas, donde comienzan a producir huevos. El periodo prepatente, suele ser de 2 a 3 meses, dependiendo de la carga parasitaria del animal. Las larvas adultas pueden sobrevivir en los conductos biliares de los caballos por años y son eliminados después de 5 a 6 meses (Palmer & Reeder, 2000). Algunos estudios muestran una resistencia de parte de équidos

a la invasión de metacercarias a nivel hepático. Al respecto, Nansen, Anderson & Hesselholt (1975), mediante la infección experimental en caballos concluyeron que existen varios mecanismos que operan en diferentes etapas de la ruta migratoria, generando la eliminación o inmovilización del parásito en la etapa temprana de la infección. No obstante, cuando las metacercarias eran implantadas directamente al hígado, estas lograron alcanzar su madurez en los conductos biliares.

La transmisión de *F. hepática* se da por la ingesta de plantas tales como lechuga, alfalfa o berros (plantas acuáticas), contaminadas con metacercarias (Bowman, 2009). Este modo de transmisión convierte en vulnerable a cualquier especie, incluido el ser humano, siendo el riesgo zoonótico una prioridad que debe ser estudiada en otras familias utilizadas en el campo, dentro de estos los équidos tales como caballos, asnos y burros. En Ecuador el uso de équidos para labores agrícolas se da en todas las regiones del país, estos cumplen labores de transporte y labranza, manteniendo un ambiente con una estrecha relación al humano (Chirgwin, 1994). El estudio del parásito en estos animales, nos puede dar una información más adecuada de la prevalencia de distomatosis hepática en el país, sobre todo en la costa ecuatoriana donde no existen registros oficiales, de esta forma mejorar un problema de salud pública y ver métodos que permitan evitar la transmisión entre especies incluidas el ser humano.

La mayoría de estudios realizados en équidos han descrito la enfermedad en estados sub-agudos y crónicos (Anexo 1). La semiología de la enfermedad en estados sub-agudo en équidos se distingue por; decaimiento, relacionado con disminución de condición corporal, anorexia, cólicos digestivos, ictericia, y en ocasiones edema y emaciación. En estados crónicos, se produce una colangitis, y se caracteriza por cuadros

de diarrea y decaimiento (Alcaíno, 1989). Siendo signos clínicos generales que no ayudan a un diagnóstico definitivo para *F. hepática* (Alcaíno, Parra & Gorman, 2005). Sin embargo, el rol del parásito en équidos no se tiene claro, ya que existen inconsistencias entre investigaciones realizadas. Al respecto, Nansen et al. (1975) y Alves, Rensburg & Wyk (1988), realizaron estudios que probaban una resistencia de la especie. El primer estudio se realizó en Noruega, en donde se colocaron metacercarias a 10 equinos a nivel intraperitoneal dando positivo en heces y análisis post – mortem solo uno de los animales (Nansen et al., 1975).

El segundo estudio se realizó en Sur África y se basó en infestar vía oral a 11 equinos con metacercarias de *F. hepática*, de estos solo dos caballos dieron positivo al parásito en heces y post mortem, y fueron aquellos que consumieron de 1000 a 2000 metacercarias. Las lesiones encontradas post mortem, fueron casi imperceptibles (Alves et al., 1988). Mientras que otras investigaciones afirman la existencia de cuadros graves de la enfermedad (Alcaíno & APT, 1989).

El control efectivo de la infección se basa en un diagnóstico preciso y una desparasitación adecuada como el uso de Triclabendazol o Closantel. Además, se puede utilizar molusquicidas para eliminar el hospedador intermediario. Actualmente, la detección de animales infectados con *F. hepática* se basa en observaciones clínicas, pruebas copromicroscópicas e inmunoenzimáticas (Sanchis et al., 2015).

El análisis coprológico es uno de los métodos más usados en el país, siendo la prueba de Dennis la más utilizada. Sin embargo se debe tomar en cuenta que los huevos de *F. hepática* aparecen en heces a partir de la semana 8 - 10 después de la infección, y

los resultados pueden verse influenciados por la frecuencia de defecación del animal, el ritmo de la postura de huevos del parásito y la obtención de muestras (como se recogieron las heces). Se considera que la técnica de Dennis es ineficiente para el diagnóstico de distomatosis cuando la enfermedad está en un estado agudo o prepatente (Álvarez & Boyacá, 2001), por lo que se recomienda siempre realizar un examen inmunoenzimático complementario (Correa, Martínez, López & Velásquez, 2016).

Dentro de las pruebas de laboratorio que se pueden realizar para la detección de *F. hepática* están: Hemoaglutinación indirecta y fijación del complemento, los cuales sirven para periodos prepatentes; Doble difusión y contraelectroforesis, para casos agudos; Inmunoensayos en capa delgada, inmunofluorescencia indirecta y Prueba inmunoenzimática ELISA, esta última siendo una de las más recomendadas de usar, ya que presenta una sensibilidad de 83% y especificidad de 86% (Aguilera, 2007).

Los animales de trabajo en este caso équidos cumplen una función muy importante dentro de actividades agrícolas en el campo, la estrecha relación que mantienen los équidos con el ser humano y otros animales, pone en cuestionamiento la importancia de estudiar más a fondo la existencia del parásito. En vista de los antecedentes antes nombrados y la poca información existente sobre la enfermedad en équidos del Ecuador, este trabajo busca determinar la prevalencia de distomatosis en équidos de trabajo del cantón Quinindé, provincia de Esmeraldas-Ecuador.

Material y Métodos

Área de estudio

Este estudio se realizó en el mes de Julio del 2017 en el cantón de Quinindé de la provincia de Esmeraldas (0°20'N 79°29'O), ubicada en la región costa del Ecuador. El clima es tropical con una temperatura media de 24.8°C y humedad relativa de 87%, presenta precipitaciones significativas en la mayoría de meses con un promedio de precipitación de 1958 mm al año y épocas secas muy cortas en los meses de agosto, septiembre, octubre y noviembre. El periodo en que se realizó el estudio la precipitación alcanzó 46,3 mm y la temperatura 24.8° C (Instituto Nacional De Meteorología e Hidrología, 2017).

Para el estudio se visitó 4 diferentes recintos del Cantón Quinindé (El Botado, Santa Isabel, Guacharaco y Boca Arenal) estos recintos se dedican a la producción de palma africana, donde se utilizan équidos, para el trabajo agrícola, el cuál incluye transporte y labranza.

Los recintos de Santa Isabel y Guacharaco se encuentra en una llanura litoral, con suelos húmedos, sin la presencia de ríos cerca a su alrededor, comparte terreno con otros recintos dedicados de igual manera a la siembra de palma africana, mientras que el recinto de Boca Arenal, presenta las mismas características que los anteriores recintos, pero con la diferencia que posee mayor cercanía con el río Guayllabamba. Finalmente, recinto de El Botado se localiza en la región del valle, con suelos saturados de agua, se encuentra cercano a varios ríos y acequias (Gobierno Municipal de Quinindé, 2017).

Descripción de los équidos

Las muestras evaluadas fueron provenientes de 141 caballos, 161 mulares y 12 burros, los cuales fueron previamente evaluados clínicamente. Los animales se encontraban con una condición corporal buena en una escala cualitativa clasificada como mala, regular, buena y muy buena. Sin embargo presentaban afecciones a nivel tegumentario.

Recolección de muestras de heces y sanguíneas para análisis de F.

hepática en équidos

De 314 équidos se analizaron 181 muestras de heces estas representan el número de animales que pudieron ser muestreados, el número restante no pudo ser analizado por poca cantidad de muestra recolectada (< 5 gr). La recolección de heces se realizó de dos maneras dependiendo del carácter del animal, la mayoría fueron recolectadas directamente del recto con guantes de palpación, mientras que otras fueron recolectadas del pasto. Para el almacenamiento de las muestras de heces se utilizaron fundas plásticas las cuales se retiraron la mayor cantidad de aire posible, para así evitar la eclosión de huevos.

Por otra parte, se analizaron 267 muestras de suero sanguíneo de un total de 314 équidos, los animales restantes no pudieron ser muestreados por el comportamiento agresivo que dificultó el manejo del animal. Para la obtención de muestras se realizó un protocolo detallado en el (Anexo 2). Las muestras sanguíneas fueron recolectadas mediante venopunción de la yugular y para su almacenamiento se utilizaron tubos con anticoagulante EDTA (Anexo 2).

Trasporte de muestras de heces y sanguíneas para análisis de *F.*

hepática en équidos

Las muestras fueron colocadas en un Cooler Master a 4°C y fueron transportadas desde Esmeraldas hasta Quito durante las siguientes 12 horas. Estas llegaron al laboratorio de la Universidad San Francisco de Quito en donde fueron almacenadas para su posterior estudio.

Método analítico

Técnica de Dennis modificada para la detección *F.* Hepática.

Las muestras fecales fueron procesadas en el laboratorio clínico del Hospital Docente de Especialidades Veterinarias de la Universidad San Francisco De Quito. El método de diagnóstico utilizado para el estudio de *F. hepática* fue la técnica modificada de Dennis. Se diluyeron 5 gr. de heces en 40 ml de agua corriente en un vaso de precipitados plástico, se dejó reposar durante 30 minutos la muestra. Se descartó el sobrenadante y se reemplazó con agua limpia. Esta mezcla se dejó reposar por 15 minutos y se descartó el sobrenadante. El proceso se repitió hasta que el sobrenadante se aclarara. Se recogió con una pipeta en lo más profundo del vaso de precipitación una gota de la mezcla (Correa et al., 2016).

La gota recolectada se colocó en un porta objetos y se cubrió la muestra con un cubre objetos, esto se observó en un microscopio con aumento de 10x, se buscaron huevos grandes, ovalados y operculados, correspondiente a *F. hepática*. Cada muestra fue analizada 3 veces para disminuir el índice de error (Correa et al., 2016).

Dentro del examen coprológico se observó la presencia de otros huevos, por lo que en el presente estudio se nombran otros parásitos encontrados, los cuales fueron clasificados por la forma y tamaño del huevo. Para la identificación correcta de los huevos se utilizó como referencia el atlas de parasitología de Miriam López publicado en el año 2012.

ELISA mediante la identificación de FhrAPS (proteína recombinante de Fasciola hepática).

Las muestras sanguíneas fueron centrifugadas en el laboratorio de la Universidad San Francisco de Quito a 3000 rpm por 10 minutos para obtención de suero. Las muestras de suero fueron preparadas con la técnica DBS- dot blood sample para ser fijadas en tarjetas protectoras de proteínas en Whatman® 903. (Anexo 2).

Una vez fijado el suero en tarjetas Whatman® 903, estas fueron guardadas en una bolsa de plástico con cierre hermético junto con silica gel para mantener las muestras fuera de humedad. Estas fueron guardadas en un sobre mandila y enviadas por DHL a la Universidad de Santiago de Compostela, Facultad de Veterinaria, Campus de Lugo en España.

La presencia de anticuerpos IgG contra *F. hepática* se evaluó mediante la técnica de ELISA en donde se utilizó la proteína recombinante FhrAPS. Para la preparación de la muestra se añadió 1 µg / ml de FhrAPS a los pocillos del test los cuales contenían sueros diluidos 1/100 en 10% PTL (PBS, 0,3% Tween 20 y 10% leche desnatada) y peroxidasa de rábano conjugado de conejo anti - IgG de caballo en una dilución 1/1000. A continuación, se añadieron los siguientes sustratos; 10 mg de orto-fenilendiamina en 12 ml de tampón de citrato y 10 µl de H₂O₂ al 30% en cada pocillo. Los pocillos fueron

almacenados en oscuridad por 10 minutos a temperatura ambiente. Se midió la absorbancia a 492 nm usando espectrofotómetro. A cada placa de ELISA se añadió un control positivo y un negativo. La muestra de suero usada como control positivo fue aquella que pasó las muestras de suero de caballos que fueron positivo a *F. hepática* por heces, mientras que el control negativo se utilizó muestras recolectadas de potrillos de tres meses sin acceso a pasto o forraje fresco. El valor de corte se tomó como la media de las absorbancias pertenecientes a los controles negativos más tres desviaciones estándar, que se calculó en 0,347 (Sanchis et al., 2015).

Análisis estadístico

Se realizó un estudio descriptivo, con 314 équidos del cantón Quinindé. El tipo de muestra fue aleatorio simple de corte transversal. Los datos se organizaron en una gráfica descriptiva donde se muestra cualitativamente los huevos de parásitos encontrados incluido *F. hepática*. La descripción de la prevalencia total fue mostrada mediante tablas en donde se clasifica el recinto estudiado y los animales positivos al examen coprológico y ELISA.

Resultados

En el examen coprológico se analizaron 181 muestras de heces, en donde se determinó la presencia de varios tipos de huevos de parásitos, entre los cuales los huevos de tipo *Strongiloides* fueron los más frecuentemente encontrados (164/181), seguido de los huevos de *Coccidias* (20/181), y en menor frecuencia los huevos de *Oxiuros* (2/181), huevos de *Trichostrongylus* (1/181) y huevos de *F. hepática* (1 /181) (Figura1).

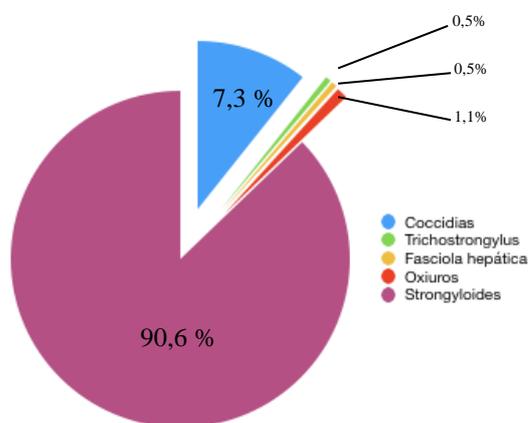


Figura 1 Prevalencia total de parásitos encontrados en équidos del cantón Quinindé mediante el examen coprológico con el método de Dennis (n=181).

De las 181 muestras, el único recinto positivo a *Fasciola hepática* fue El Botado, en donde se estableció la presencia de un animal positivo, presentando una prevalencia en ese recinto de 1,28% y una total de 0,5% (Tabla1).

Tabla 1 Prevalencia de *F. hepática* por recintos mediante el método de Dennis en équidos de trabajo del Cantón Quinindé – Ecuador (n=181).

Número de Animales	Recinto	Diagnóstico Positivo	Prevalencia
78	EL BOTADO	1	1,28%
49	SANTA ISABEL	0	0%
36	BOCA ARENAL	0	0%
18	GUACHARACO	0	0%

Mediante el método de ELISA se analizó la proteína de *Fasciola hepática* en 267 muestras de suero, en donde 13 animales presentaron anticuerpos frente a la proteína recombinante APS de *Fasciola hepática*, dando como resultado una seroprevalencia total de un 5%. Todos los animales seropositivos, que han estado expuestos al parásito pertenecen al recinto El Botado, en consideración se determinó una prevalencia dentro del recinto de un 9,85% (Tabla 2).

Tabla 2 Prevalencia de *F. hepática* por recintos mediante análisis FhrAPS (proteína recombinante de *Fasciola hepática*) – ELISA en équidos del Cantón Quinindé - Ecuador (n=267).

Número de Animales	Recinto	Diagnóstico Positivo	Prevalencia
132	EL BOTADO	13	9,85%
74	SANTA ISABEL	0	0%
44	BOCA ARENAL	0	0%
17	GUACHARACO	0	0%

Discusión

En este estudio se determinó una prevalencia de *F. hepática* del 5% en el cantón Quinindé, provincia de Esmeraldas. En Ecuador, no existen estudios realizados sobre la prevalencia del parásito en équidos, mientras que los reportes en otras especies son mínimos, dentro de la prevalencia encontrada en bovinos existen reportes en el Oro del 1,6% (Torres, 2010). Mientras que la prevalencia de *F. hepática* en humanos es del 0% en la región costa y oriente (Rivadeneira, 2017). Dentro de la región Sierra del país los hallazgos del parásito en bovinos y humanos han sido descritos por Narváez (2011), Pacheco (2017), Trueba (2000), quienes en sus trabajos demuestran una alta prevalencia del parásito tanto en bovinos como en humanos en la zona Sierra del país.

En otros países de América del sur existen reportes de *F. hepática* en équidos, que en su mayoría han sido realizadas en Chile en caballos de carrera. Al respecto, en la Región del Bio Bío – Chile, en donde presenta un clima templado – húmedo, se obtuvo una prevalencia del 10,41% de un total de 269 animales estudiados, (Muñoz, et al., 2008). De igual manera, en Santiago de Chile en donde presenta un clima templado, se encontró una prevalencia del 6% de un total de 666 equinos estudiados (Alcaíno et al., 2005). Mientras que en Perú hay estudios en Cajamarca donde su clima es templado – seco y la prevalencia del parásito en équidos fue de un 3,79% (Rázuri, 2015). Todos estos trabajos fueron realizados mediante técnicas de sedimentación lo que indica que existe una mayor prevalencia del parásito en estas zonas y que la enfermedad está presente en équidos de distintos países de América del Sur.

Con respecto al estudio del parásito y su presentación en climas tropicales no existen reportes en équidos. Sin embargo, existen reportes que confirman su presencia en bovinos. Al respecto, en Brasil existen estudios en bovinos realizados en 11 estados del país, con una variedad de climas, tanto de tierras altas tropicales al norte y centro del país y climas subtropicales o templados al sur del país, en donde se utilizó una base de datos de hígados decomisados entre el 2002 hasta el 2011, en el estudio se encontró un rango de prevalencia entre el 0% al 8%, aunque la mayor prevalencia se estableció en la región Sur de Brasil. Este estudio demuestra que en zonas tropicales la prevalencia es mucho menor y casi inexistente en algunos casos (Bennema, Scholte, Molento, Medeiros & Carvalho, 2014). Si se compara estos estudios con los realizados en el Ecuador, se puede decir que se ha demostrado que la mayor prevalencia del parásito se encuentra en la Región de la Sierra, por eso es considerada a *F. hepática* como endémica en dicha región del país (Villavicencio & Vasconcellos, 2005).

Dentro del estudio realizado, de los 4 recintos estudiados, solo uno de estos fue positivo a *F. hepática*. Para que la enfermedad se desarrolle en un lugar, deben existir condiciones que ayuden al desarrollo del parásito. Al respecto, los principales factores predisponentes son una alta humedad, localización cercana a ríos, mantener un sistema de pastoreo mixto y no tener un manejo adecuado de heces en el lugar (Bedoya, 1994). En este sentido, el recinto positivo de El Botado, se localiza cerca a un río, con un suelo mucho más húmedo que los demás recintos. La temperatura no variaba con respecto a las otras, pero existían mayores formaciones de charcos de agua provocada por la geografía del lugar. Estudios han demostrado que para que el parásito pueda desarrollarse, los canales de riego cumplen una función importante, de igual forma la humedad y la formación de riachuelos contribuyen al desarrollo y supervivencia del hospedador

intermediario. Estudios realizados en burros de Etiopia demostraron que en lugares con poco riego, pero con alta probabilidad de formaciones de charcos y lluvias ocasionales, son los factores predisponentes para la aparición del hospedador intermediario. En cambio, en lugares con poco riego y temperaturas mayores a 30°, la incidencia es menor. Este estudio demostró, que lo más importante para la supervivencia del hospedador intermediario es la aparición de riachuelos y charcos, si las temperaturas son muy altas los charcos tienden a secarse con mayor rapidez evitando así el desarrollo del parásito (Getachew, Innocent, Trawford, Reid & Love, 2010).

El presente estudio permitió observar que la técnica de ELISA en suero es más sensible que la técnica de Denis, para la detección del parásito. Esta es una prueba que mide los anticuerpos en este caso de *F. hepática*, dentro del estudio de parasitosis, el inmunodiagnóstico ha demostrado tener buenos resultados (Yolken, 1980). Otra de las ventajas de usar ELISA es la capacidad de detectar anticuerpos del parásito desde la tercera semana post infección (Almazán, Ávila, Quiroz, Ibarra & Ochoa, 2001). Sin embargo se ha demostrado que en ocasiones los fragmentos del parásito pueden seguir en el organismo hasta 21 días, lo que puede dar positivo en pruebas de ELISA post tratamiento (Robles, 2015). Dentro del inmunodiagnóstico se puede usar una técnica alternativa al uso de suero y es por medio de heces (cELISA), la cual es una prueba que se encarga de la detección de coproantígenos, estudios muestran que esta prueba es altamente eficaz en la detección del parásito en bovinos y ovejas, sin embargo no se a probado su uso en équidos (Kajugua et al., 2015). Hasta el momento para el diagnóstico del trematodo, la técnica más utilizada es la identificación de huevos a través de las heces del hospedador, a pesar de que se sabe que la técnica presenta una baja sensibilidad y es ineficiente para detectar la enfermedad tempranamente. En el Ecuador se sigue utilizando

lo que no ha permitido un correcto seguimiento de la enfermedad, siendo una de las causas por la que la enfermedad esta sub – diagnosticada (Espino, Borges & Duménigo, 2000). Existen estudios que demuestran que en équidos y porcinos, el parásito no logra llegar a la madurez, por lo que su estudio en heces no es el recomendado, por lo tanto queda comprobado que el método de Dennis es muy poco sensible, ya que no siempre los huevos van a ser liberados, invalidando la prueba de Dennis (Arias et al., 2012).

Dentro de las limitaciones que se tuvieron en este estudio, fue el seguimiento de estos animales. En este sentido lo ideal hubiera sido continuar con la evaluación posterior de los équidos positivos a la prueba de ELISA, repetir el examen coprológico de manera seriada, para comprobar la sensibilidad y especificidad del método de Dennis. De igual manera el repetir las pruebas en otra época del año ayudaría a ver si la prevalencia del parásito cambia dependiendo el clima y las precipitaciones. En el caso de que los animales sean enviados a matadero, se podría evaluar el canal y sobre todo confirmar si existen lesiones en el hígado que indiquen si el parásito pudo completar o no su ciclo. Sin embargo, en el país la mayoría de animales de carga no suelen ser destinados para el consumo, por lo que la inspección del canal no siempre será factible, dejando como mejor opción realizar pruebas en animales que comparten pasto con los équidos, en este caso bovinos, ya que como se nombró antes, hay estudios que demuestran que estos animales son más susceptibles a la infestación del parásito, un seguimiento de la enfermedad en mataderos podría ser un dato útil para entender si el parásito existe en otras especies de la costa ecuatoriana y en caso de ser así analizar si el parásito tiene limitaciones en su desarrollo dentro del hígado de équidos (Aguilera, 2007).

Aunque hay varios estudios, que demuestran que los équidos son especies resistentes al parásito, existen reportes en trabajos experimentales en donde se ha demostrado que si existe la posibilidad de que estos se infecten (Alcaíno & APT, 1989). Comparando los resultados obtenidos por ELISA en équidos de Quinindé, donde se obtuvo que los animales muestreados estuvieron en contacto con el parásito, pero con una baja oviposición en heces podemos decir que los équidos aunque en menor medida si son propensos a ser infectados por el parásito, sin embargo el método de diagnóstico (Dennis) utilizado en la mayoría de estudios no es el óptimo para definir la presencia de la enfermedad, tomando en cuenta que existen variantes que pueden afectar la cantidad de huevos excretados como la época del año y la hora del día en que se toman las muestras. Sin embargo, la falta de estudios y la cantidad de datos que no concuerdan entre si, indican que esta enfermedad esta sub - diagnosticada, y es necesario un seguimiento del parásito con técnicas de inmunodiagnóstico para comprender mejor la presencia del parásito a nivel animal y humano en la región costa del Ecuador.

Como fortaleza de este estudio, a pesar de no saber si los animales tuvieron contacto con el parásito dentro de los recintos, el obtener animales seropositivos, nos indica que los équidos si son hospedadores y diseminadores de la enfermedad, factor que se debe tomar en cuenta en el momento del manejo de recintos empezando con lo mas importante que es un correcto calendario de desparasitación. Al respecto, el uso de triclabendazol, donde algunos autores indican que a una dosis de 12mg/kg se obtienen buenos resultados sin efectos adversos, teniendo una efectividad desde la segunda semana de infección (Rubilar, Cabreira & Giacaman, 1988). En el caso de resistencia a este medicamento se pueden usar otros fármacos como sustancias fenólicas como Closantel con dosis de 10 mg/kg y tomando en cuenta que su efectividad empieza a

partir de 6 a 8 semanas desde el inicio de la infección (Howell, 2017). Existen tratamientos alternativos usados en bovinos y ovejas, pero sin reportes de los efectos adversos en équidos, entre estos están los desparasitantes con compuesto activo Salicilamida y Nitroxinil a 10mg/kg. Es importante rotar de desparasitantes cada cierto tiempo, ya sea cambiando de casa comercial o de compuesto activo para evitar resistencia al medicamento (Howell, 2017). Además se debe evitar la diseminación del hospedador dentro del recinto una correcta rotación de potreros puede evitar que se contaminen fuentes de agua, evitar que animales se acerque a lugares donde existen riachuelos o sequias, con la utilización de alambrados es una de las mejores opciones. Si se considera un potrero infectado, se debe considerar restringir el lugar y secar todas las áreas donde se han formado charcos. Finalmente, se puede considerar el drenaje de potreros, siempre y cuando se tome en cuenta el costo – beneficio, ya que es un método que asegura la destrucción completa del caracol, pero su costo es muy elevado (Freitas, 2008). Se recomienda realizar un estudio para verificar la presencia de caracoles de la familia Lymnaeidae los cuales son los principales diseminadores de la enfermedad. A pesar de haber obtenido una prevalencia relativamente baja, el hecho de encontrar animales positivos a la exposición del parásito es un factor a tomar en cuenta. En el Ecuador existen dos especies de esta familia *L. Columella* y *L. Cousini* los cuales están ya estudiadas y registradas en la región sierra (Villavicencio & Vasconcellos, 2005). Sin embargo en el año 2016 se reportó el primer registro de *Galba cubensis*, caracol de la familia Lymnaeidae considerada un gran hospedador del parásito en arrozales de la costa de la provincia del Guayas (Narváez, et al., 2016). Con estos antecedentes, es importante analizar la presencia del parásito en otros animales dedicados a la ganadería mas susceptibles a la enfermedad y realizar estudios de este en otros recintos dedicadas a otras actividades diferentes a la producción de palma africana.

Como sugerencia para próximos trabajos se recomienda realizar un mayor enfoque al desarrollo del parásito dentro del organismo de équidos y de esta manera analizar el efecto que tiene el parásito en la parte clínica de los animales y como este puede afectar en el rendimiento de los mismos. Estudios recientes muestran que en la mayoría de casos los caballos y burros son asintomáticos (Getachew et al., 2010). Sin embargo, hay reportes de pérdida de peso, ictericia, bajo rendimiento, letargia, anemia, y diarrea, por ende la calidad de vida de estos animales puede verse afectado (Alcaíno et al., 2005). Además al tener estos signos clínicos y mantenerlos trabajando puede ser perjudicial para su bienestar y disminuyendo su vida útil. Dentro del mismo recinto se realizó un trabajo paralelo, el cual identificó que el 5% de los animales presentaban fotosensibilidad, y el 63% de los équidos fueron considerados con una condición corporal por debajo de la óptima (Gutiérrez, 2017). Estos datos pueden relacionarse con daño a nivel hepático o lesiones en el conducto biliar generados por el parásito.

Conclusiones

La técnica de ELISA permitió identificar la presencia del parásito en équidos con una prevalencia en el cantón Quinindé del 5%.

Altas temperaturas y humedad, localización cercana a ríos, predisposición a formaciones de riachuelos y ubicación en un valle son los factores que contribuyeron a la presencia del parásito en el Recinto del Botado.

La prueba de ELISA(FhrAPS), posee una mayor capacidad diagnóstica, por lo cual debe ser la prueba de elección en los programas de erradicación y estudios relacionados con *F. hepática*.

Referencias

- Aguilera, N. (2007). Evaluación de fracciones antigénicas, enzimáticas de *Fasciola hepática* en el diagnóstico inmunológico de fasciolosis en ovinos, equinos y porcinos (Tesis de pregrado). Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- Alcaíno, H., Parra, L., & Gorman, T. (2005). Fasciolosis en equinos fina sangre de carrera de los hipódromos de la zona central de Chile 2002 – 2003. *Parasitología latinoamericana*, 60(1-2), 61-64.
<https://dx.doi.org/10.4067/S0717-77122005000100010>
- Alcaíno, H., & APT, W. (1989) Algunos antecedentes sobre la fascioliasis animal y humana. *Monog Med Vet 11: 14-29*.
- Almazán, C., Ávila, G., Quiroz, H., Ibarra, F., Ochoa P. (2001). Effect of parasite burden on the detection of *Fasciola hepatica* antigens in sera and feces of experimentally infected sheep. *Veterinary Parasitology (97): 101–112*.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017\(01\)00376-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017(01)00376-4)
- Arias, M., Piñeiro, P., Cazapal, C., Morrondo, P., Díez, P., Sánchez, R., & Paz, A. (2012). Utilidad de la proteína recombinante FhrAPS para el inmunodiagnóstico de fasciolosis en animales de renta. *Proteómica*, 8. Recuperado de <https://helvia.uco.es/bitstream/handle/10396/10739/pro87.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Álvarez, A., & Boyacá, M. (2001). Comparación de la técnica de Dennis. *Cultura Científica*, 30-33.

- Alves, R. M., Rensburg, L. J., & Wyk, J. A. (1988). Fasciola in horses in the Republic of South África: a single natural case of Fasciola hepatica and the failure to infest ten horses either with F. hepatica or Fasciola gigantica. *Veterinary Research Institute*. 55(3), 157-163 Recuperado de <https://repository.up.ac.za/bitstream/handle/2263/42378/34alves1988.pdf;sequence=1>
- Barriga, O. (1981). The immunology of parasitic infections. University Park Press, Baltimore. 354p.
- Bedoya, M. (1994). Producción lechera en la sierra ecuatoriana. *IICA*. Ecuador. 42p.
- Bennema, C., Scholte, R., Molento, M., Medeiros, C., & Carvalho, O. (2014). Fasciola hepatica in bovines in Brazil: data availability and spatial distribution. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 56(1), 35-41. <https://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652014000100005>
- Bowman, D.D. (2009). Georgis' Parasitology for Veterinarians. Saunders, St. Louis.
- Buestán, P. (2017). *Estudio retrospectivo de la prevalencia de Fasciola hepática y análisis de pérdidas causadas por decomisos de hígados a nivel de centro de faenamiento* (Tesis de pregrado). Recuperado de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/14550/1/UPS-CT007150.pdf>
- Chirgwin, J. C. (1994). Los animales de trabajo y el desarrollo sostenible. *Revista mundial de zootecnia*. Recuperado el 14 de Julio de 2018, de <http://www.fao.org/docrep/v8180t/v8180T0p.htm>
- Correa, S., Martínez, Y., López, J., & Velásquez, L. (2016). Evaluación de la técnica

modificada de Dennis para el diagnóstico de fasciolosis bovina. *Revista biomédica*, 36. doi:<http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i2.2875>

Espino, A., Borges, A., & Duménigo1, B. (2000). Coproantígenos de *Fasciola hepática* de posible utilidad en el diagnóstico. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 7(4),. Recuperado de <http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/8834/1924.pdf?sequence=1>

Freitas, F. (2008). Recomendaciones para el Control de la *Fasciola Hepática*. En *Engormix*

Gaona, J. C. (2015). *Diagnóstico de Fasciola hepática en animales faenados en el camal municipal de Macará, a través de tres métodos de sedimentación* (Tesis de pregrado). Recuperado de <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/14620/1/tesis%20Juan%20Gaona.pdf>

Getachew, M., Innocent, G., Trawford, A., Reid, S., & Love, S. (2010). Epidemiological features of fasciolosis in working donkeys in Ethiopia. *Veterinary Parasitology*, 169.

Gobierno Municipal de Quinindé. (2017). Cartografía. Recuperado el 20 de Noviembre de 2018, de <http://municipiodequininde.gob.ec/municipio/index.php/cartografia>

González, R, Pérez, M, & Brito, S. (2007). Fasciolosis bovina. Evaluación de las principales pérdidas provocadas en una empresa ganadera. *Revista de Salud Animal*, 29(3), 167-175. Recuperado el 01 de diciembre de 2017, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-

570X2007000300007&lng=es&tlng=es.

Gozalbo, M., Trueba, G., Fornasini, M., Fuentes, M. V., Bargues, M. D., Esteban, J. G., & Mas-Coma, M. S. (2004). Coproparasitological survey in schoolchildren from the community of Planchaloma (Province de Cotopaxi, Ecuador),. *IX European Multicolloquium of Parasitology*, 84, 170.

Gutiérrez, M., Flores, N., Trueba, E., Salinas, C., Vega, P., Dueñas, I., & Galecio, J. S. Prevalence of pathological abnormalities found in working equids involved in palm oil production in rosa zárata - ecuador. .

Howell, A. (2017). Fasciola hepática. En *University of Liverpool*. Recuperado de <https://www.animalwelfarefoundation.org.uk/wp-content/uploads/2017/12/Equine-liver-fluke-leaflet.pdf>

Instituto Nacional De Meteorología e Hidrología. (2017). Anuario metereológico. Recuperado el 19 de Septiembre de 2018 de http://www.serviciometeorologico.gob.ec/docum_institucion/anuarios/meteorologicos/Am_2013.pdf

Kajugua, P., Hannaa, R., Edgar, H., McMahon, C., Cooper, M., Gordon, A., & Barleya, J. (2015). Fasciola hepatica: Specificity of a coproantigen ELISA test for diagnosis of fasciolosis in faecal samples from cattle and sheep concurrently infected with gastrointestinal nematodes, coccidians and/o. *Veterinary Parasitology*, 212, 181-187.

López, M. (2012). *Atlas De Parasitología* (2nd ed., pp. 17-31). Colombia: Manual Moderno.

- Luzón, M. (2002). Epizootiología de la Fasciolosis en la zona centro de España.
Recuperado de <https://eprints.ucm.es/3231/>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador. (2010). Informe Anual del año 2010.
- Moazeni, M., & Ahmadi, A. (2016). Controversial aspects of the life cycle of *Fasciola hepatica*. *Experimental Parasitology*, *169*, 81-89.
doi:10.1016/j.exppara.2016.07.010.
- Muñoz, L., Rubilar, L., Zamora, D., Sepúlveda, O., Rehhof, C., & Ortíz, R. (2008). Fasciolosis en equinos fina sangre de carrera del Club Hípico Concepción, Chile. *Parasitología latinoamericana*, *63*, 88-91.
doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-77122008000100017>
- Nansen, P., Anderson, S., & Hesselholt, M. (1975). Experimental infection of the horse with *Fasciola hepatica*. *Experimental Parasitology*, *37*(1), 15-19.
doi:[https://doi.org/10.1016/0014-4894\(75\)90049-1](https://doi.org/10.1016/0014-4894(75)90049-1)
- Narváez, O., Muzzio, J., Alda, P., Castro, V., Lounnas, M., Hurtrez, S., & Noya, O. (2016). Primer reporte de *Galba Cubensis* en el Ecuador. *El misionero del Agro*, *36*(44).
- Narváez, A. (2011). “Prevalencia y factores asociados a la *Fasciola hepática* y otras parasitosis intestinales en la comunidad de Tarqui – 2011” (Tesis de maestría). IPK, Habana, Cuba.
- Pacheco, S. (2017). *Prevalencia y factores de riesgo asociados a Fasciola hepática en bovinos* (Tesis de pregrado). Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca,

Ecuador.

Palmer, P. S., & Reeder, M. (2000). *The imaging of Tropical Diseases* (2nd ed., Vol.

1). London: The Williams and Wilkins Company. Recuperado de

http://www.isradiology.org/tropical_diseases/tmcr/chapter21/otherfas2.htm

Pan American Health Organization. (2017). General Information: Fascioliasis.

Recuperado el 20 de Junio de 2018, de

https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=575

8:2011-general-information-fascioliasis&Itemid=4153&lang=en

Pinos, G. & Estrada, J., 2012. Nichos ecológicos de *Fasciola* hepática en las parroquias

Guapan y Bayas del cantón Azogues, en el período septiembre de 2011 a julio de

2012. Convención Internacional de Salud Pública, (1), pp.1–4. Recuperado de

[http://www.convencionsalud2015.sld.cu/index.php/convencionsalud/2015/paper/](http://www.convencionsalud2015.sld.cu/index.php/convencionsalud/2015/paper/view/1024/531)

[view/1024/531](http://www.convencionsalud2015.sld.cu/index.php/convencionsalud/2015/paper/view/1024/531)

Rázuri, B. (2015). *Prevalencia de tremátodos en caballos (Equus Caballus) en el*

distrito de Cajamarca (Tesis pregrado). Recuperado de

<http://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/457/T%20L73%20R222%2>

[02015.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/457/T%20L73%20R222%202015.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Recalde-Reyes, D., Padilla, L., Giraldo, M., Toro, L., González, M., & Castaño, J.

(2014). Prevalencia de *Fasciola* hepática, en humanos y bovinos en el

departamento del Quindío-Colombia 2012-2013. Elsevier, 18(4).

doi:10.1016/j.infect.2014.09.001

Rivadeneira, A. (2017). *Enteroparasitosis y diagnóstico parasitológico de Fasciola*

hepática por el método de concentración formol-éter (Ritchie) (Tesis de

pregrado). Recuperado de

<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/9823/1/T-UCE-0006-091.pdf>

Robles, D. (2015). *Nuevas técnicas para el estudio de cepas ovinas de Fasciola hepática con diferente origen y grado de resistencia a fármacos antihelmínticos* (Tesis doctoral). Recuperado de <http://digital.csic.es/bitstream/10261/126988/5/Robles%20P%C3%A9rez%2C%20David%20Tesis%20Doctoral%202015.pdf>

Rubilar, L., Cabreira, A., & Giacaman, L. (1988). Treatment of *Fasciola hepatica* infection in horses with triclabendazole. *British Veterinary Association*, 123(12), 320.

Sanchis, J., Suárez, J., Hilyer, G. V., Hernadez, J. A., Solari, M. A., Cazapal-Monteiro, C., & Duque de Araujo, A. M. (2015). Determination of exposure to *Fasciola hepatica* in horses from Uruguay using a recombinant-based ELISA. *Veterinary Medicina*, 483-488. doi:10.17221/8439-VETMED

Torres P. (2010). Incidencia de Fascioliasis Hepática en Bovinos Faenados en el Camal Municipal de la Ciudad de Babahoyo., pág. 23-24 y 32

Trueba, G., Guerrero, T., Fornasini, M., Casariego, I., Zapata, S., Ontaneda, S., & Vasco, L. (2000). Detection of *Fasciola hepatica* infection in a community located in the Ecuadorian Andes. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 62(4), 518-519. doi:10.4269/ajtmh.2000.62.518

World Health Organization. (2017). Control of foodborne trematode infections. Report of a WHO Study Group. WHO Technical report Series 849. Ginebra: OMS, 1995

Villavicencio, A., & Vasconcellos, M. (2005). First report of *Lymnaea cousini* Jousseume, 1887 naturally infected with *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) (Trematoda: Digenea) En Machachi, Ecuador. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 100(7). Recuperado de <http://www.bioline.org.br/pdf?oc05155>

Yolken, R. (1980). Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA): A Practical Tool for Rapid Diagnosis of Viruses and Other Infectious Agents. *Yale Journal of Biology and Medicine*. Recuperado de www.biomedsearch.com/attachments/00/./yjbm00118-0083.pdf

ANEXO 1: ESTUDIOS REALIZADOS EN OTRAS REGIONES DE LATINOAMÉRICA

PREVALENCIA DE FASCIOLA HEPÁTICA EN ÉQUIDOS EN PAISES Y REGIONES DE SUD AMÉRICA				
País	Región	Clima	Prevalencia	Fuente bibliográfica
Colombia	-	-	No hay registros	
Venezuela	Caracas, Venezuela	T° Max 36,2°C T° Min 19,9°C Precipitación: 900 y 1300 mm	0,70%	https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3980241
				-
Guyana	-	-	No hay registros	-
Surinam	-	-	No hay registros	-
Ecuador	-	-	No hay registros	-
Perú	Cajamarca Rázuri Munayco, Blanca Ana	T° Max 21.1°C T° Min 5.7°C Precipitación: 795 mm	3,79%	http://repositorio.unc.edu.pe/handle/UNC/457
Brasil	Rio de Janeiro, Parana, serra freire	-	No hay registros	-
Bolivia	-	-	No hay registros	-
Paraguay	-	-	No hay registros	-
Chile	Curico, Talca, y Linares	T° Max 29,9°C T° Min 3°C Precipitación: 789 mm	13,50%	http://iris.paho.org/xmlui/handle/123456789/16292
Uruguay	-	-	No hay registros	-
Argentina	valles andinos de Lujan de Cuyo, Mendoza zonas andinas de la provincia de mendoza	T° Max 21,2°C T° Min 16.1°C Precipitación: 213 mm	33,30% 26,38%	http://repositorio.umaza.edu.ar/bitstream/handle/00261/403/33%20SALUD%20Resumen%20Poster%20Mera%20y%20Sierra%20et%20al.pdf?sequence=1 http://repositorio.umaza.edu.ar/bitstream/handle/00261/582/CA_Oral_Salud_MeraySierraEtAl_2016.pdf?sequence=1

ANEXO 2: PROTOCOLO PARA RECOLECCIÓN, ALMACENAMIENTO Y TRASPORTE DE MUESTRAS DE SUERO PARA ANÁLISIS DE *FASCIOLA HEPÁTICA* EN ÉQUIDOS

Recolección de muestra por venopunción

- Colocarse guantes desechables de goma de látex, limpiar el sitio de punción previsto (yugular) con un desinfectante apropiado, por ejemplo, alcohol isopropílico al 70%.
- Aplique un torniquete con las libre para distender las venas del animal. Guíe la aguja dentro de la vena, una vez que esté en su lugar, llene suavemente la jeringa.
- Tan pronto como se complete la venopunción, liberar el torniquete y retirar la aguja. Colocar el contenido en un tubo con EDTA con anticoagulante. A su vez presionar con una gasa seca el sitio de punción. Esperar hasta la formación de coágulo.
- Centrifugar la muestra en el tubo con EDTA a 3000 rpm por 10 minutos para obtención de suero
- Con una pipeta trasladar el suero obtenido a un tubo Eppendorf.
- Mantener las muestras en congelación.

Preparación para la fijación de muestra (DBS- dot blood sample), en tarjetas protectoras de proteínas en Whatman® 903

- Preparación a partir de suero recogido por venopunción
- Ubicar el suero en las tarjetas del filtro.
- Colocar la información necesaria para la identificación del animal en la tarjeta de filtro.
- Aspirar del tubo Eppendorf 50 ul de suero con una pipeta con punta desechable. Transferir el suero al centro de un círculo sin tocar el papel de filtro directamente con la punta de la pipeta. Se debe intentar llenar todo el círculo.

Secado de muestra (Blood Spots)

- Para secar las manchas de suero, colocar las tarjetas del filtro en un mesón en ausencia de una fuente externa de calor y dejar secar por dos días.

Almacenamiento y transporte de las muestras fijadas (Dried Blood Spots DBS)

- Para el almacenamiento, colocar 10 tarjetas de papel de filtro en una sola bolsa de plástico con cierre, adicionar 1 fundas mediana de silica gel para evitar que se humedezca. Repetir el procedimiento con todas las muestras.
- Colocar las bolsas plásticas con cierre en un sobre manila.
- Sellar adecuadamente el sobre

Envío de muestras

- Las muestras fueron enviadas por avión y llegaron a Madrid el jueves 12 de Abril, 2018
- Se envió por correo interno a la Facultad de Veterinaria, Campus de Lugo (USC), CP: 27002. Lugo - España

Bibliografía:

Grüner, N., Stambouli, O., & Ross, R. S. (2015). Dried Blood Spots - Preparing and Processing for Use in Immunoassays and in Molecular Techniques. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, (97), 52619. Advance online publication. <http://doi.org/10.3791/52619>

World Health Organization. (2005). *A WHO external quality assurance scheme for malaria nucleic acid amplification testing. Meeting report* (pp. 1-13).