

**Universidad Nacional
Facultad Ciencias de la Salud
Escuela de Medicina Veterinaria**

**Infección por *Fasciola hepatica* en bovinos de carne de una finca
en Siquirres e impacto económico del decomiso de hígados en tres
mataderos del área metropolitana de Costa Rica**

Modalidad: Tesis

**Trabajo Final de Graduación para optar por el Grado Académico
de Licenciatura en Medicina Veterinaria**

Carlos Ernesto Alpízar Solís

**Campus Presbítero Benjamín Núñez
2008**

DEDICATORIA.

A Dios por la gran posibilidad de permitirme llegar a estar a donde hoy me encuentro y por darme la bendición de realizar este trabajo.

A mi familia por ese apoyo emocional y material que permitió de manera irrevocable la realización del proyecto. A mi madre Nuria pues por ella estoy aquí cumpliendo mis metas y de manera ejemplar me ha mostrado el valor de las cosas y a luchar; a mi padre Carlos que siempre ha estado conmigo en todo lo que hago, a mis hermanos Astrid y Andrés por su incondicional apoyo: A mi novia Mabel, sin ella este trabajo no sería posible, porque fue mi motor, mi hombro y porque también a ella pertenece este trabajo.

A la Dra. Jaqueline Bianque de Oliveira por su especial ayuda y comprensión, fue la gestora, guía y ángel de este proyecto y fue imprescindible en cada momento gracias a su calidad humana y académica. Al señor Jorge Hernández por su gran aporte logístico, intelectual y múltiple colaboración con el trabajo. A la Msc. Ana Jiménez por el gran interés y valiosa ayuda y aporte académico en el proyecto. A los lectores, Dr. Alexis Berrocal y Dr. Leonel Navarro por su atención, tiempo y dedicación, al Dr. Juan Jose Romero por su colaboración en la sección de estadística.

Al personal del Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica y de las plantas de proceso, por su incondicional colaboración y ayuda para el proyecto, y por contribuir de forma tan amplia con la labor investigativa en el país.

Al personal y propietario de la finca que sirvió de sitio de investigación por su aporte y disposición para la toma y búsqueda de muestras necesarias para la investigación.

Y a todos aquellos que por diversos motivos no puedo mencionar y colaboraron de una u otra forma con el proyecto, puesto que cada persona que ayudó en el trabajo es parte de este.

INDICE

DEDICATORIA.....	ii
ÍNDICE DE TABLAS.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	v
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vi
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	viii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Antecedentes.....	1
1.2. Justificación.....	4
1.2.1. Importancia.....	4
1.3. Objetivos.....	5
1.3.1. Objetivo general.....	5
1.3.2. Objetivos específicos.....	6
2. METODOLOGÍA: MATERIALES Y MÉTODOS.....	7
2.1. Área de estudio.....	7
2.2. Los animales.....	8
2.3. Colecta y procesamiento de las muestras de heces.....	9
2.4. Colecta e identificación de los vectores.....	10
2.5. Caracterización histopatológica de hígados parasitados.....	11
2.6. Estimación del porcentaje de infección por F. hepatica en mataderos y de las pérdidas económicas.....	11
2.7. Análisis estadísticos.....	12
3. RESULTADOS.....	13
3.1. Análisis coprológico.....	13
3.2. Identificación de caracoles.....	16
3.3. Caracterización anatómo-histopatológica de los hígados decomisados en dos mataderos del área metropolitana.....	17
3.4. Pérdidas económicas por el decomiso de hígados parasitados.....	20
4. DISCUSIÓN.....	27
5. CONCLUSIONES.....	33
6. RECOMENDACIONES.....	34
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Infección por <i>Fasciola hepatica</i> en bovinos de diferentes edades en una finca en Siquirres, Limón, agosto de 2005 a agosto de 2006.....	13
Cuadro 2.	Infección por <i>Fasciola hepatica</i> y <i>Paramphistomum</i> spp. en bovinos de carne de una finca en Siquirres, Limón, agosto de 2005 a agosto de 2006.....	15
Cuadro 3.	Promedio de las precipitaciones y temperaturas mensuales de la región atlántica durante los últimos 36 años.....	16
Cuadro 4.	Registro de hígados bovinos decomisados por <i>Fasciola hepatica</i> en tres mataderos del área metropolitana de Costa Rica, 2000 al 2006.....	21
Cuadro 5.	Registro de hígados bovinos decomisados por <i>Fasciola hepatica</i> en el matadero número 1, del año 2000 al 2006.....	23
Cuadro 6.	Registro de hígados bovinos decomisados por <i>Fasciola hepatica</i> en el matadero número 2, del año 2000 al 2006.....	24
Cuadro 7.	Registro de hígados bovinos decomisados por <i>Fasciola hepatica</i> en el matadero número 3 en los años 2000, 2001, 2005 y 2006.....	25

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Potrero inundado durante la época de lluvia.....	7
Figura 2.	Recolecta de muestras fecales.....	9
Figura 3.	Búsqueda y recolecta de vectores.....	10
Figura 4.	Huevecillo de <i>Fasciola hepatica</i>	13
Figura 5.	Infección por <i>Fasciola hepatica</i> en bovinos de carne de una finca en Siquirres, Limón, 2005 a 2006.....	14
Figura 6.	Ejemplares del molusco <i>Thiaria tuberculata</i>	17
Figura 7.	Porcentajes de hígados decomisados por <i>Fasciola hepatica</i> en tres mataderos del área metropolitana de Costa Rica, 2000 al 2006.....	22
Figura 8 (a,b).	Hígados parasitados por <i>Fasciola hepatica</i>	26

LISTA DE ABREVIATURAS

EMV-UNA: Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional

F. hepatica: Fasciola hepatica

MAG: Ministerio de Agricultura y Ganadería

RESUMEN

La fasciolosis bovina es una importante enfermedad parasitaria que ocasiona grandes pérdidas económicas para el sector pecuario en Costa Rica y en el resto del mundo. El presente estudio fue realizado con el objetivo de determinar la infección por *Fasciola hepatica* en una finca dedicada al engorde de ganado de carne en el cantón de Siquirres en la provincia de Limón, además de cuantificar el impacto económico producido por el decomiso de hígados en 3 plantas de sacrificio de bovinos del país, a partir de los registros oficiales el Ministerio de Agricultura y Ganadería. Para esto, de agosto del 2005 a agosto del 2006 fueron recolectadas muestras fecales de 577 bovinos con edad entre 6 meses a 2.5 años, de razas cebuínas; cada muestra fue sometida a la técnica de sedimentación. También se recolectaron caracoles, con el objetivo de identificar la(s) especie(s) involucrada(s) en la transmisión del parásito en la finca.

El parasitismo por *F. hepatica* fue diagnosticado en 67 (11.26%) de los 577 bovinos evaluados, y el porcentaje de infección fue mayor en Agosto del 2005 (31.6%) y Agosto del 2006 (26.2%). Los caracoles identificados fueron de la especie *Thiaria tuberculata*. Con base en los registros oficiales de decomisos de vísceras del año 2000 al año 2006, se calcula que las pérdidas económicas por el decomiso de hígados parasitados de bovinos en 3 mataderos ascienden a los ¢124.076.400. Las principales lesiones en los hígados decomisados fueron atrofia moderada de lóbulos hepáticos, aumento de consistencia, engrosamiento de los ductos hepáticos con presencia de calcificación, material mucoso y formas adultas del parásito. Histológicamente corresponden a colangiohepatitis necrótica con formación de depósitos cálcicos distróficos e hiperplasia de ductos biliares. Con base a los resultados obtenidos se pudo determinar la presencia de *F. hepatica* en los bovinos de la finca.

ABSTRACT

Bovine fasciolosis is an important parasitic disease of cattle, has world distribution and causes big economical losses to Costa Rica and worldwide animal production sector. This study attempts to determine the *Fasciola hepatica* infections in beef cattle on a farm in Siquirres, and also determine the economical losses produced by condenated livers in 3 slaughters of the Central Valley of Costa Rica based on Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) data.

From August 2005 to August 2006 were collected fecal specimens from 577 bovines with ages from 6 months to 2.5 years old, of indian cattle breeds. So each specimen was submitted to fecal sedimentation technique.

Snails were collected to identify the vector species of the parasite in the farm. *Fasciola hepatica* parasitism was diagnosed in 67 (11.26%) of the 577 evaluated bovines, and the infection level was higher in August 2005 (31.6%) and August 2006 (26.2%).

The identified snails specie was *Thiaria tuberculata*.

From data between 2000 and 2006, provided by the MAG's official registries of livers condenations of three slaughters, it was calculated economical losses was as high as ¢124.076.400.

The main lesions found in condenated livers was moderated hepatic lobes atrophy, increased consistency, biliary ducts hyperplasia with dystrophic calcification, mucus and adult flukes. Histologically, it's a necrotic colangiohepatitis with dystrophic calcification and biliary ducts hyperplasia.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

La fasciolosis es una enfermedad parasitaria de distribución mundial que afecta a la salud de una amplia variedad de animales domésticos, silvestres y del hombre, determinando significativas pérdidas económicas en las explotaciones ganaderas de bovinos y ovinos; además de tener una gran importancia para la salud pública (Mora et al., 1980).

La enfermedad es causada por el tremátodo digéneo llamado *Fasciola hepatica*, el cual sufre un desarrollo indirecto con generaciones sexuales y asexuales en hospedadores vertebrados (mamíferos) e invertebrados (moluscos) respectivamente. Los hospedadores definitivos son los bovinos, ovinos, equinos, cerdos, conejos y humanos principalmente; en donde completan su desarrollo biológico, mientras que los hospedadores intermediarios son moluscos acuáticos de la familia Lymnaeidae (Georgi & Georgi, 1990). Varias especies de moluscos de ésta familia han sido reportados: en Cuba los vectores reportados son *Pseudosuccinea columella* y *Fossaria cubensis* (Gutiérrez et al., 2005). En Ecuador se reporta la presencia de *Lymnaea columella* y algunos caracoles de los géneros *Physa* y *Planorbis* (Paraense, 2004). *Lymnaea viatrix*, *Lymnaea cubensis* y *Lymnaea truncatula* son citados como vectores en América del Sur y el Caribe (Pointier et al., 2006). En las zonas endémicas del cantón de Turrialba, los moluscos identificados son *Pseudosuccinea columella* y *Fossaria cubensis* (Ramón Brenes et al., 1968; Arroyo et al., 1981).

Cuando los huevos son liberados al ambiente por medio de las heces de los hospedadores definitivos y las condiciones son favorables, se desarrolla en su interior la primera fase larval llamada miracidio. Es una estructura cubierta de cilios y con una papila apical con la cual, una vez realizada la eclosión y liberado el miracidio en un medio acuático, se adhiere y logra

penetrar en el molusco, donde se desarrollan las etapas larvales denominadas esporoquistes, redias y cercarias (Soulsby, 1986; Cordero del Campillo & Rojo Vázquez, 1999). Tras el ingreso en el hospedador intermediario, el miracidio se diferencia en esporoquiste que contiene las células germinales que originarán las redias que a su vez darán lugar a las cercarias. Las cercarias abandonan el caracol y nadan hasta enquistarse en pastos o plantas que sobrepasen el nivel del agua, formando los estadios de resistencia llamados metacercarias, que representan el estadio infectante para hospedadores definitivos (Soulsby, 1986; Cordero del Campillo & Rojo Vázquez, 1999). Una vez ingeridas, las metacercarias se liberan gracias a la digestión de su cobertura por las enzimas digestivas del hospedador definitivo, salen del lumen digestivo a través de la pared intestinal y migran por la cavidad abdominal hacia el hígado en donde logran traspasar su cápsula, penetran el parénquima y se alojan en los ductos biliares para alcanzar su estado adulto y comenzar su postura alrededor de 3 a 4 meses post-infección en condiciones óptimas de desarrollo (Soulsby, 1986; Cordero del Campillo & Rojo Vázquez, 1999).

La migración de tremátodos inmaduros a través del hígado produce tractos hemorrágicos y necróticos en el parénquima hepático. Los tremátodos adultos residen en los ductos biliares más grandes e inducen colangitis o colangiohepatitis. La colangitis crónica y la obstrucción llevan a ectasia biliar y estenosis de los ductos y a fibrosis periductular, que determinan un engrosamiento de las paredes de los ductos (Thomson, 1988; Bordín, 1995). Estas alteraciones determinan pérdidas económicas asociadas a la reducción en la fertilidad y producción de leche, carne y lana, así como al decomiso de hígados parasitados (Boray, 1999; Schweizer et al., 2005). Aunque difícil de cuantificar, la infección de rumiantes domésticos con *F. hepatica*

causa pérdidas económicas significativas estimadas en más de US \$2000 millones por año en el sector agrícola mundial, con más de 600 millones de animales infectados (Becerra, 2001).

Los bovinos presentan una resistencia natural y en condiciones naturales la enfermedad clínica se manifiesta solamente en animales jóvenes. Según Cartín González & Chang Díaz (1983), los animales de engorde infectados por *F. hepatica*, por lo general, tienen un peso en un 10% inferior al de los animales no infectados. Además, la inmunidad debido a la infección crónica se refleja en una disminución de la producción de huevos de *F. hepatica*, dificultando el diagnóstico (Echevarria, 2004). Por lo anterior, la infección es frecuentemente diagnosticada como un hallazgo en matadero (Cartín González & Chang Díaz, 1983; Bordin, 1995).

La fasciolosis es reconocida como un importante problema de salud en animales y humanos, y varios estudios han intentado establecer la prevalencia, las especies de moluscos involucrados en la transmisión así como las pérdidas económicas asociadas a la enfermedad en Australia (Boray, 1999), Kenya (Kithuka et al., 2002), Italia (Cringoli et al., 2002), Francia (Abrous et al., 1998; Mage et al., 2002), Inglaterra y Gales (Salimi-Bejestani et al., 2005), Cuba (Gutiérrez et al., 2005) y México (Cruz-Mendoza et al., 2005).

En Costa Rica los estudios realizados en bovinos y humanos, destacan la importancia económica y zoonótica de la fascioliasis en el cantón de Turrialba, provincia de Cartago (Ramón Brenes et al., 1968; Herrera, 1979; Mora et al., 1980; Arroyo et al., 1981; Cartín González & Chang Díaz, 1983).

1.2. Justificación

1.2.1. Importancia

La fasciolosis es reconocida como un importante problema de salud en animales y humanos, y varios estudios han sido realizados en Costa Rica (Ramón Brenes et al., 1968; Herrera, 1979; Mora et al., 1980; Arroyo et al., 1981; Cartín González & Chang Díaz, 1983). En el estudio realizado por Herrera (1979) con bovinos de carne de una finca en Agua Caliente de Cartago, se reportó un 17% de infección por *F. hepatica*; mientras Cartín González & Chang Díaz (1983) determinaron un 42.3% de infección por *F. hepatica* en bovinos de leche de fincas del distrito de Santa Cruz, cantón de Turrialba.

La fascioliasis es reconocida como endémica en el cantón de Turrialba (Ramón Brenes et al., 1968; Mora et al., 1980; Arroyo et al., 1981; Cartín González & Chang Díaz, 1983) y los vectores identificados en esta zona son *P. columella* y *F. cubensis* (Ramón Brenes et al., 1968; Arroyo et al., 1981).

Según Cartín González & Chang Díaz (1983), en el año 1982 las pérdidas por el decomiso de hígados parasitados con *F. hepatica* en el matadero municipal del cantón de Turrialba y en el matadero de Cerrillos en Cartago fueron de aproximadamente ₡83.250 y ₡124.425, respectivamente.

Por lo anterior, el presente trabajo pretende determinar la presencia de la enfermedad en otras regiones del país. En este sentido, la región de Siquirres en la provincia de Limón, se destaca por sus características climáticas favorables al desarrollo de los hospedadores intermediarios de *F. hepatica*, así como por el gran número de hatos de bovinos de carne.

La escogencia de esta finca se basó en el reporte del Dr Mario Cerdas, Médico Veterinario de la subasta Gasol, ubicada en el distrito de Guápiles de Pococi, donde los animales son

comercializados. El Dr Cerdas recibió quejas de varios compradores de animales de la subasta, los cuales se quejaban del decomiso de hígados de gran parte de los bovinos oriundos de esta finca.

Adicionalmente, es necesario conocer las pérdidas económicas por decomiso de hígados parasitados en los principales mataderos del país, aunque estas pérdidas sean las menos cuantiosas en relación a las pérdidas por reducción en la ganancia de peso, fertilidad y producción de leche (Schweizer et al., 2005). Estos conocimientos son importantes para determinar las características epidemiológicas y la importancia económica de la fasciolosis bovina en Costa Rica, las cuales son vitales para la adopción de medidas de control que constituyan soluciones para este sector pecuario y por ende, importante para el quehacer de los médicos veterinarios en la medicina veterinaria y salud pública.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

- ✓ Determinar la infección por *Fasciola hepatica* en una finca de ganado de carne en Siquirres, Limón.

- ✓ Determinar el impacto económico de la fasciolosis bovina debido al decomiso de hígados en tres mataderos del área metropolitana del país.

1.3.2. Objetivos específicos

- ✓ Determinar, por medio del análisis coprológico la infección por *F. hepatica* en bovinos de carne de una finca en Siquirres, Limón.
- ✓ Identificar el vector biológico de *F. hepatica* en la finca estudiada.
- ✓ Verificar, por medio del análisis coprológico, la presencia de otros trematodos en los bovinos estudiados.
- ✓ Reportar las principales lesiones anatómo e histopatológicas en los hígados decomisados en dos mataderos del área metropolitana del país.
- ✓ Determinar el impacto económico producido por el decomiso de hígados de bovinos en tres mataderos del país, a partir de los registros oficiales del Ministerio de Agricultura y Ganadería.

2. METODOLOGÍA: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Área de estudio

El estudio se realizó en la finca Caño Blanco, ubicada en la localidad de Caño Blanco de Siquirres, provincia de Limón ($10^{\circ}08'45''$ latitud norte y $83^{\circ}29'50''$ longitud oeste). La finca posee un área total de 800 hectáreas, dedicada al desarrollo y engorde extensivos de ganado para carne, que es comercializado en varias subastas ganaderas. La explotación posee una gran extensión de terreno inundado durante la época de lluvias (Figura 1), es casi totalmente plana y es irrigada por una quebrada que la cruza bordeando varios de los potreros.

Aproximadamente está situada a 1.5 km del cauce del río Parismina. Esta finca es una de las principales explotaciones de la región y posee un gran movimiento de animales (Cerdas, 2005).



Figura 1. Potrero inundado durante la época de lluvia.

2.2. Los animales

El número total de animales de la finca es de aproximadamente 800, los cuales ingresan a la finca a una edad promedio de seis meses (luego del destete) y son enviados a matanza a una edad de 2.5 años aproximadamente; por lo que la permanencia de los animales en la finca es de un año y seis meses.

La cantidad de animales para obtener una muestra mínima representativa para el estudio fue calculada mediante la fórmula de Cannon & Roe (1982):

$$n = [1 - (1 - P)^{1/d}] \times [N - \frac{(d-1)}{2}]$$

n = tamaño de la muestra.

P = probabilidad de hallar por lo menos un caso (= nivel de confianza).

d = número de casos detectables en la población (prevalencia esperada \times N).

N = tamaño de la población. En este caso, la población total de la finca son 800 animales.

Para calcular el número de animales detectables es necesario conocer una prevalencia esperada; pero, en este caso, no se tiene referencia de una prevalencia esperada por lo que se debe trabajar con una prevalencia esperada de 1%; usando un nivel de confianza de 95%. Con base a lo anterior, el tamaño de la muestra es de 250 animales, seleccionados al azar.

De Agosto de 2005 a Agosto de 2006 fueron muestreados 577 bovinos machos de razas cebuínas, especialmente Nelore y Brahman; con edad entre los 6 meses a los 2.5 años.

2.3. Colecta y procesamiento de las muestras de heces

Debido a factores relacionados con la dinámica de la finca, los muestreos se realizaron cada dos meses de agosto 2005 a agosto 2006, con el fin de observar el comportamiento de la infección durante las 2 estaciones climatológicas del año en Costa Rica.

Las muestras se tomaron directamente del recto del animal con guantes de plástico (Figura 2); posteriormente fueron transportadas a 4°C y almacenadas en estas condiciones hasta que se realizaron los exámenes coprológicos. En el Laboratorio de Parasitología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional (EMV-UNA), cada muestra fecal fue sometida a la técnica de sedimentación (Boray), según lo descrito por Hernández (2004).



Figura 2. Recolecta de muestras fecales.

2.4. Colecta e identificación de los vectores

Durante cada visita a la finca se realizó la búsqueda de los vectores en sus posibles hábitats, tamizando el lodo o suelo de las charcas no muy profundas y de los márgenes de los riachuelos y ríos (Figura 3). Se utilizó un colador grande para lavar todo el barro y recuperar las partículas más grandes. Los moluscos hallados fueron conservados en tubos plásticos de 50 ml con agua y trasladados al laboratorio de Hidrología Ambiental de la Escuela de Biología de la UNA, donde fueron identificados por la Dra. Zaydett Barrientos.



Figura 3. Búsqueda y recolecta de vectores.

En el laboratorio de Parasitología de la EMV-UNA, se procedió a identificar la presencia de estadios larvarios de *F. hepatica* en los caracoles recolectados.

2.5. Caracterización histopatológica de hígados parasitados

La caracterización anatómo e histopatológica se realizó en hígados parasitados por *F. hepatica*, los cuales fueron decomisados en dos mataderos del área metropolitana. La escogencia de estos dos mataderos se debió a la anuencia de los mismos en participar del estudio, donando los hígados decomisados.

Los hígados fueron transportados en frío para el Servicio de Patología de la EMV-UNA, en donde a cada órgano se le asignó un número de identificación de acuerdo al número de expediente para uso interno. Se hizo una descripción macroscópica y microscópica de cortes de las lesiones más significativas. En total se analizaron 16 órganos (8 órganos por cada planta), con un peso promedio de 8 kg, de los cuales se sometieron a histopatología solamente 3 órganos que presentaron lesiones anatomopatológicas más significativas.

2.6. Estimación del porcentaje de infección por *F. hepatica* en mataderos y de las pérdidas económicas

Fueron analizados los registros oficiales que posee el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) del 2000 al 2006 sobre decomisos de hígados de bovinos en tres mataderos del área Metropolitana.

En los mataderos números 1 y 2 fueron analizados los datos referentes a los años 2000 al 2006; mientras que en el número 3 los datos hallados se referían únicamente a los años 2000, 2001, 2005 y 2006.

Para realizar la estimación de pérdidas económicas se utilizó la siguiente fórmula (Kithuka et al., 2002):

precio por kilogramo de hígado × cantidad de hígados decomisados × número promedio de kilogramos por órgano

2.7. Análisis estadísticos.

Las diferencias estadísticas para el análisis de la infección por *F. Hepatica* realizado por edades, por meses de muestreo, para *Paramphistomon* y para el análisis de los porcentajes de infección en los mataderos se calcularon mediante una prueba de proporciones utilizando un valor alfa de 0.05, un intervalo de confianza del 95% en la aplicación Excel del paquete informático Office XP de Microsoft.

3. RESULTADOS

3.1. Análisis coprológico

De los 577 animales evaluados en el periodo de agosto de 2005 a agosto de 2006, 65 (11.26%) presentaron la infección por *F. hepatica* (Figura 4). El porcentaje de infección fue más elevado en los animales con edad entre 18 a 24 meses (46/237) (19.41%) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Infección por *F. hepatica* en bovinos de diferentes edades de una finca en Siquirres, Limón.

Edad	Nº de muestras	Nº de positivos	Porcentaje
< 12 meses	76	8	10.53 ^a
12-<18 meses	204	5	2.45 ^b
18-24 meses	237	46	19.41 ^a
> 24 meses	60	6	10.00 ^a
Total	577	65	11.26

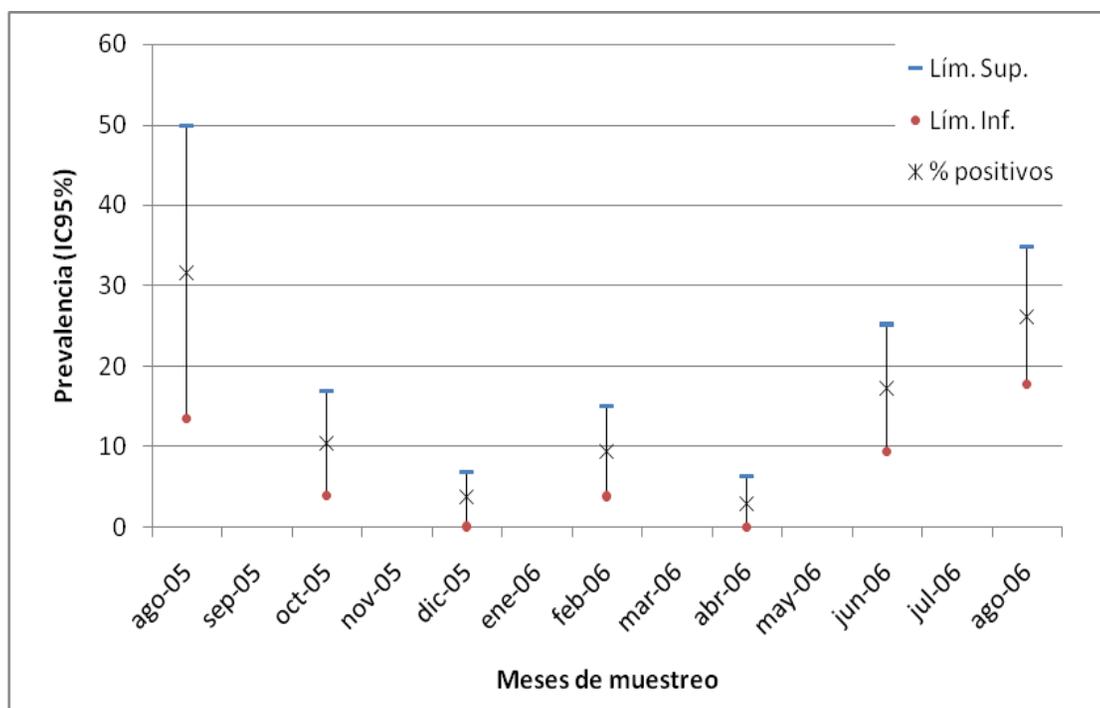
Los literales distintos indican diferencia estadística entre las clases, con un valor de $\alpha=0.05$. Las clases con la misma letra no presentan diferencia estadísticamente significativa entre sí.



Figura 4. Huevecillo de *Fasciola hepatica*.

En relación a los meses de estudio, los porcentajes más elevados de animales infectados con *F. hepatica* fueron observados en el mes de agosto de 2005 y 2006, lo que corresponde a 31.6% (6/19) y 26.2% (21/80), respectivamente; mientras que los porcentajes más bajos fueron observados en diciembre de 2005 y abril de 2006, lo que corresponde a 3.8% (5/132) y 3.0% (3/99), respectivamente (Figura 5 y Cuadro 2).

Figura 5. Infección por *Fasciola. hepatica* en bovinos de carne de una finca en Siquirres, Limón, 2005 a 2006.



Por medio de la técnica de sedimentación, también se pudo determinar la infección por el tremátodo *Paramphistomum* spp. en los bovinos evaluados (34/577) (5.9%) (Cuadro 2). Los porcentajes más altos de infección por *Paramphistomun* spp. fueron observados en agosto de 2005 y agosto de 2006, que corresponden a 15.78% (3/19) y 8.8% (7/80), respectivamente;

mientras que los porcentajes más bajos se hallaron en octubre de 2005 y abril de 2006, que corresponden a 0% (0/76) y 2% (2/99), respectivamente.

Cuadro 2. Infección por *Fasciola hepatica* y *Paramphistomum* spp. en bovinos de carne de una finca en Siquirres, Limón, agosto de 2005 a agosto de 2006.

Mes de estudio	<i>Fasciola hepatica</i>			Dif.	<i>Paramphistomum</i> spp.			Dif.
	Eval.	+	%		Eval.	+	%	
Agosto 05	19	6	31.6	a +	19	3	15.8	a +
Octubre 05	76	8	10.5	a -	76	0	0	b *
Diciembre 05	132	5	3.8	a *	132	9	6.8	a +
Febrero 06	96	9	9.4	a -	96	8	8.3	a +
Abril 06	99	3	3.6	a *	99	2	2.0	a +
Junio 06	75	13	17.3	a °	75	5	6.7	b +
Agosto 06	80	21	26.2	a °	80	7	8.8	b +

Los símbolos y los literales diferentes representan diferencia estadística entre las especies y entre meses, respectivamente, a un valor $\alpha = 0.05$. Los meses y las especies que poseen el mismo símbolo y la misma letra no poseen diferencia estadísticamente significativa, únicamente con los que poseen letras y/o símbolos diferentes. Eval= evaluados; += positivos; %= porcentaje de infección; Dif= "diferencia estadística significativa".

En el cuadro 3 se presentan los promedios mensuales de precipitación y temperatura de la región atlántica en los últimos 36 años según el Instituto Meteorológico Nacional (2007).

Cuadro 3. Promedio de las precipitaciones y temperaturas mensuales ambientales de la región atlántica durante los últimos 36 años (Instituto Meteorológico Nacional, 2007).

Mes	Temperatura media ° C		Precipitación total media (mm)	Promedio de días con lluvia
	Mínimo diario	Máximo diario		
Ene	20,7	29,0	310,4	24
Feb	20,6	29,1	230,3	23
Mar	21,2	29,8	197,2	20
Abr	21,9	30,2	270,7	21
May	22,7	30,4	335,0	23
Jun	22,8	30,3	299,0	25
Jul	22,5	29,6	436,1	28
Ago	22,4	30,0	312,7	24
Set	22,4	30,6	147,8	19
Oct	22,2	30,4	211,3	21
Nov	21,9	29,6	386,7	24
Dic	21,2	29,0	446,9	25

3.2. Identificación de caracoles

Fueron recolectados varios caracoles de la especie *Thiaria tuberculata* (Figura 6), la cual fue introducida en el país y es muy frecuente (Barrientos, 2007). En dichos moluscos se pudo identificar la presencia de cercarias del tipo *Parapleurolophocercaria* (Jimenez R., 2007), las

cuales no corresponden a las de *F. hepatica*, pero si a tremátodos de la familia Heterophyidae, que se desarrollan en caracoles operculados y se enquistan en peces.



Figura 6. Ejemplares del molusco *Thiaria tuberculata*.

3.3. Caracterización anatomo-histopatológica de los hígados decomisados en dos mataderos del área metropolitana.

Las lesiones que se observaron con mayor frecuencia en los hígados decomisados en las plantas de sacrificio fueron de tipo inflamatorio y crónicas principalmente. Se realizaron estudios histológicos de los hígados 1, 3 y 6.

A continuación se detallan los hallazgos macroscópicos y microscópicos de los órganos enumerando cada uno.

1. Cara parietal: Lóbulo caudal posee una lesión de 2 cm de color blanco. Al corte se observa una prominencia de los ductos biliares.

Cara visceral: los ductos biliares son prominentes, algunos con sedimento y otros con un material de aspecto mucoso. Los linfonodos están aumentados de tamaño. Los ductos están muy aumentados de consistencia, se observa un material producto de gran litiasis (calcificación).

Al corte internamente se ven muchos de los ductos dilatados y con un material mineralizado. Además se encuentran formas adultas del parásito.

Histológicamente, un linfonodo se observa muy hiperplásico, con muchos macrófagos, fagocitando un pigmento verdoso como bilis. En el parénquima se observa en los ductos biliares con mucha fibrosis y macrófagos con pigmentos parecidos a los de los linfonodos. Se observa también un ducto “mayor” con mucha hiperplasia y eosinofilia.

2. Cara parietal: se observan zonas pequeñas de fibrosis en el ápice del lóbulo izquierdo.

Cara visceral: ductos biliares prominentes con material mucoso.

Al corte se observa material mucoso en los ductos.

3. Cara parietal: lóbulo derecho en la zona ventral se observa una zona blanca dura con mucho tejido conectivo.

Cara visceral: los linfonodos se observan muy poco, casi no se observan lesiones (poco aparentes).

Al corte internamente se observan pocas lesiones, se encontraron unas manchas oscuras, las cuales son múltiples zonas de 1 cm oscuras y planas como charcos de sangre (punto de eritrocitos), lo cual se denomina telangiectasia, no rodea los vasos sanguíneos y no tiene significado clínico (se decomisa el órgano por esta razón).

Al corte histológico se ven leves cambios de fibrosis parietal y portal.

- 4. Cara parietal:** en el lóbulo izquierdo se encuentra atrófico en un 80% aproximadamente con un aumento de consistencia.

Cara visceral: ductos muy prominentes y linfonodos un poco aumentados de tamaño.

Los ductos biliares medianamente prominentes, hay poca secreción, más prominentes entre más profundo el corte y aparece secreción.

- 5. Cara parietal:** lóbulo izquierdo casi un 80-85% esta constituido por un tejido totalmente blanco, que es duro al palpar.

Al corte no se observa tejido hepático, el lóbulo derecho, al igual que el izquierdo, presenta ese tejido blanco, aproximadamente cubre un 20% del lóbulo.

Al corte se observa un material blanco en la cápsula y ductos evidentes.

El lóbulo caudal no existe (atrofia evidente). Se observaron ductos aumentados.

También se observa mucha fibrosis en el parénquima y formas adultas del parásito.

- 6. Lóbulo izquierdo:** moderada atrofia, aumento de consistencia, al corte los ductos muy prominentes. El lóbulo derecho no muestra lesiones.

Histológicamente se observa total fibrosis con mucha vascularización y no se observa tejido hepático. En otro corte hay islas de tejido hepático y en los ductos hay calcificación.

- 7.** En comparación a los otros hígados es el más normal. Internamente los linfonodos prominentes y los ductos biliares dilatados.

- 8. Lóbulo izquierdo:** se observó una moderada atrofia.

Lóbulo derecho: adherencia de fibrina y con un absceso de 1 cm en la parte ventral.

Internamente algunos ductos se encuentran dilatados.

Se encontraron formas adultas de *Fasciola hepatica*, material mucoso en los ductos y también hay telangiectasia.

9. Los ductos biliares son muy evidentes al corte, hay mucho tejido conectivo periductal y formas adultas del parásito, y en algunos con concreciones o litiasis.
10. Los linfonodos son muy evidentes, los ductos están agrandados de forma leve y con una secreción mucosa.
11. Existe atrofia del lóbulo izquierdo y al corte hay bastante fibrosis. Hay ductos muy prominentes y calcificación distrófica.
12. Posee una apariencia muy similar al anterior, inclusive con atrofia del lóbulo izquierdo.
13. Podría decirse que es un hígado normal con leve hiperplasia de los ductos.
14. Posee los linfonodos aumentados, hiperplasia ductal y calcificación. Posee moderada atrofia del lóbulo izquierdo.
15. Presenta atrofia del lóbulo izquierdo y aumento de la consistencia, además de hiperplasia ductal y litiasis.
16. Es el hígado que presenta más atrofia, la cual es generalizada y mayormente en el lóbulo izquierdo con aumento de la consistencia. También presenta hiperplasia ductal.

3.4. Pérdidas económicas por el decomiso de hígados parasitados

De acuerdo a los registros del MAG en los 3 mataderos estudiados, del año 2000 al 2006 fueron sacrificados 1.829.958 bovinos. El total de hígados decomisados debido al parasitismo por *F. hepatica* fue 14.771.

En el matadero 3, se observó el porcentaje de infección más elevado (1.0%), seguido del matadero 1 (0.9%) y 2 (0.7%) (Cuadros 5, 6 y 7).

Cuadro 4. Registro de hígados bovinos por *Fasciola hepatica* en tres mataderos del área metropolitana de Costa Rica, 2000 al 2006.

Año	Nº Animales sacrificados	Nº Hígados decomisados	Porcentaje de infección (%)
2000	268.421	1.516	0.5
2001	630.861	1.063	0.1
2002	166.164	939	0.5
2003	163.492	1.325	0.8
2004	167.513	3.749	2.2
2005	335.784	3.497	1
2006	97.723	2.682	2.7
Total	1.829.958	14.771	0.8

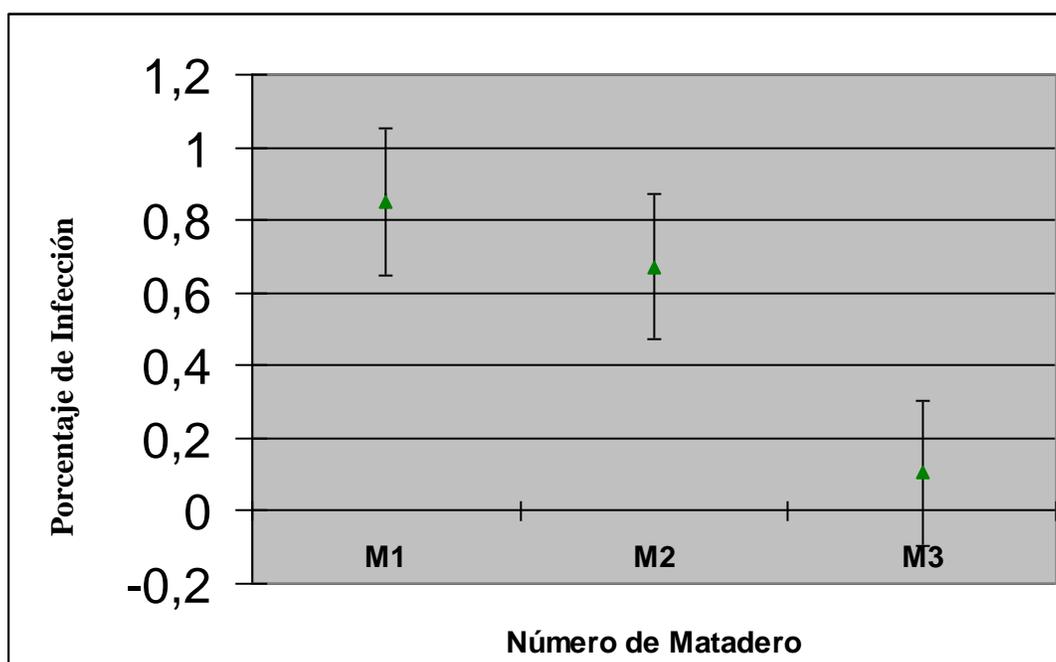


Figura 7. Porcentajes de hígados decomisados debido al parasitismo por *Fasciola hepatica* en tres mataderos del área metropolitana de Costa Rica, 2000 al 2006.

En la figura 7 se observa que entre los resultados de los mataderos #1 y #2 no hubo diferencia estadísticamente significativa, pero sí entre éstos y el matadero #3.

En el matadero 1 se sacrificaron 821.807 bovinos entre los años 2000 y 2006, de los cuales 7048 presentaron infección con *F. hepatica*, lo que corresponde al 0.9% del total de animales sacrificados (Cuadro 5). Los años que presentaron mayor porcentaje de decomisos por *F. hepatica* fueron 2004 (2.5%) y 2006 (1.7%) (Cuadro 5).

Cuadro 5. Registro de hígados bovinos decomisados por *Fasciola hepatica* en el matadero 1, del año 2000 al 2006.

Año	Nº Animales sacrificados	Nº Hígados decomisados	Porcentaje
2000	145.236	456	0.3
2001	111.982	314	0.3
2002	125.157	519	0.4
2003	122.628	760	0.6
2004	114.035	2.878	2.5
2005	159.843	1.375	0.9
2006	42.926	746	1.7
Total	821.807	7.048	0.8

En el matadero número 2 el porcentaje de decomisos del 2000 al 2006 fue de 0.7%, lo que corresponde a 5028 hígados decomisados (Cuadro 6). Los años con mayor porcentaje de decomisos fueron 2005 (2.9%) y 2006 (1.7%) (Cuadro 6).

Cuadro 6. Registro de hígados bovinos decomisados por *Fasciola hepatica* en el matadero 2, del año 2000 al 2006.

Año	Nº Animales sacrificados	Nº Hígados decomisados	Porcentaje
2000	51.221	338	0.7
2001	462.796	406	0.1
2002	41.007	420	1.0
2003	40.864	565	1.4
2004	53.478	871	1.6
2005	57.906	1.682	2.9
2006	42.926	746	1.7
Total	750.198	5.028	0.67

Del matadero número 3 únicamente se obtuvieron los datos registrados durante los años 2000, 2001, 2005 y 2006 (Cuadro 7). En total se decomisó un 1.04% (n=2695) de los hígados de 257.953 animales sacrificados durante estos años (Cuadro 7). Los años que presentaron mayor porcentaje de decomisos fueron 2006 (10%) y 2000 (1.0%) (Cuadro 7).

Cuadro 7. Registro de hígados bovinos decomisados debido a la infección por *Fasciola hepatica* en el matadero 3 en los años 2000, 2001, 2005 y 2006.

Año	Nº Animales sacrificados	Nº Hígados decomisados	Porcentaje
2000	71.964	722	1.0
2001	56.083	343	0.6
2005	118.035	440	0.4
2006	11.871	1.190	10.0
Total	257.953	2.695	1.04

Las pérdidas económicas debido al decomiso de hígados parasitados por *F. hepatica* en los 3 mataderos, del año 2000 al 2006, fueron de ¢124.076.400; tomando en cuenta que en el año 2007 el precio del kilogramo de hígado en matadero es de ¢1.050, y que el peso promedio de los órganos evaluados es de 8 Kg.

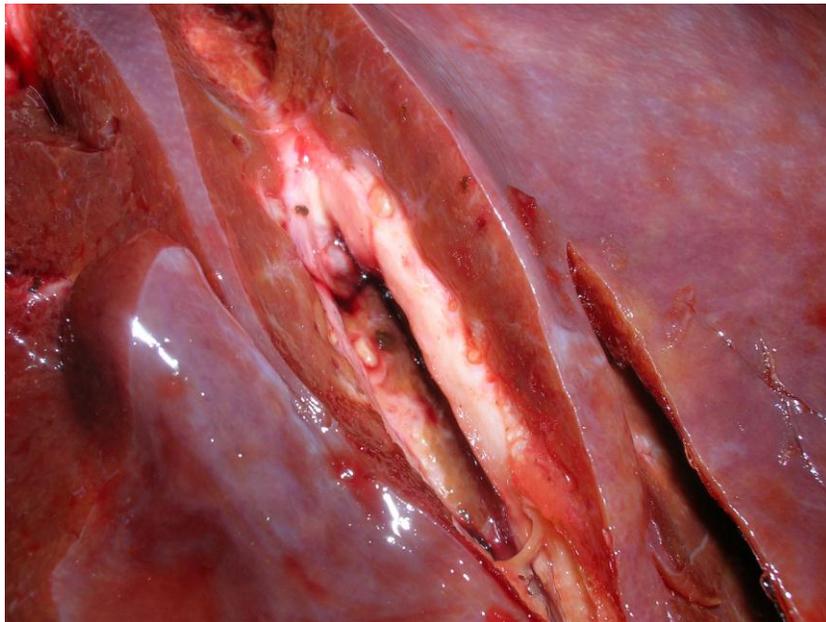


Figura 8a. Hígado parasitado por *Fasciola hepatica*.



Figura 8b. Hígado parasitado por *Fasciola hepatica*.

4. DISCUSIÓN

Por primera vez se reporta el parasitismo por *F. hepatica* en la zona de Siquirres en Limón, y las pérdidas económicas debido al decomiso de hígados parasitados por este tremátodo en 3 mataderos del área metropolitana de Costa Rica.

Los resultados obtenidos corroboran las quejas de compradores de bovinos de la zona estudiada, los cuales tuvieron importantes pérdidas económicas debido al decomiso de los hígados parasitados de gran parte de los bovinos provenientes de esta finca (Cerdas, 2005). Adicionalmente, la finca presenta condiciones climáticas y topográficas favorables al desarrollo de los vectores de *F. hepatica*, como por ejemplo una gran extensión de terreno inundado durante la época de lluvias (Echevarria, 2004; Cerdas, 2005), aunque no fue posible la identificación de los vectores en la finca. En Costa Rica, los vectores de *F. hepatica* son caracoles de las especies *Pseudosuccinea columella* y *Fossaria cubensis*, los cuales se desarrollan en terrenos bajos, áreas inundadas, zanjas, corrientes lentas de agua y superficies lodosas con un sustrato firme, además de estanques y charcas cubiertas de hierbas (Ramón-Brenes et al., 1968; Cartín González & Chang Díaz, 1983). Este hecho coincide con lo observado en otros países de Centro y Suramérica en donde los caracoles de las especies *F. cubensis*, *Galba truncatula* y *Lymnea viatrix* son los principales vectores de *F. hepatica* (Bargues et al., 2007).

Cercarias de los tipos xifidocercarias, strigeideocercarias y gimnocéfala correspondientes a los trematodos del orden Fascioloidea, fueron encontradas en caracoles de los géneros *Heliosoma*, *Stenophysa* y *Physa* provenientes de Coris de Cartago (Tonn et al., 1964). En el

presente estudio, las cercarias encontradas en los caracoles de la especie *Thiaria tuberculata* no corresponden a las de *F. hepatica*.

El porcentaje de infección por *F. hepatica*, determinado en este estudio (11.26%) es inferior a lo reportado por Herrera (1979) y Cartín González & Chang Díaz (1983), los cuales determinaron 17% y 42.2% de infección por *F. hepatica* en bovinos de carne de una finca en Agua Caliente de Cartago y en bovinos de leche de fincas del distrito de Santa Cruz, cantón de Turrialba, respectivamente. En países como Venezuela y Brasil, se reportan porcentajes de infección de 39% (Nieves et al., 2005) y 63.3% (Marques et al., 2003) respectivamente. Estas diferencias podrían deberse principalmente a las variaciones en las poblaciones de bovinos de carne entre dichos países y el nuestro, diferencias geográficas y climáticas, entre muchas otras variables, que influyen en la presentación y distribución de la enfermedad en rumiantes.

En relación a la edad, Cartín González & Chang Díaz (1983) también reportaron porcentajes elevados de infección en los animales con edad a partir de los 18 meses, lo que no era esperado pues la producción de huevos disminuye con la edad, debido a la inmunidad adquirida (Soulsby, 1986; Echevarria, 2004). Sin embargo, estos datos coinciden también con los reportados por Kleiman et al. (2007), que en un estudio realizado en la Patagonia argentina reportaron un 15% en terneros, 81% de infección en novillas y 60% en vacas. Esto en parte puede ser explicado por el hecho de que el tiempo posterior a la infección en el que se puede empezar a detectar huevos del parásito en las heces es de alrededor de 4 meses (Suon et al., 2006).

Además, se ha visto que hay razas de ganado que logran cierto grado de resistencia alrededor de 24 semanas después de la infección con consecuente eliminación de los tremátodos adultos (Wiedosari et al., 2006); por lo que se podría explicar el comportamiento de la infección de la finca en estudio que muestra una baja en el porcentaje de infección en animales mayores a 2 años.

Los meses con los mayores porcentajes de infección por *F. hepatica* fueron agosto del año 2005 y 2006. Pero para explicar lo que realmente sucede, hay que recordar que, como anteriormente se mencionó, el tiempo promedio en el cual se pueden empezar a detectar huevos de *F. hepatica* en las heces de bovinos es 4 meses luego de la infección, por lo que probablemente los animales detectados como positivos en el mes de agosto realmente se infectaron en abril. Los datos reportados por el Instituto Meteorológico Nacional en la región atlántica de nuestro país indican que abril presenta temperaturas que oscilan entre los 21.9°C y 30.2°C y un promedio de precipitaciones de 270.7 mm; mientras que febrero presenta temperaturas entre 20.6°C y 29.1°C y precipitaciones de 230.3 mm. Estos datos coinciden con los que reportan Cruz-Mendoza et al. (2005) en México, que expresan que en los meses con temperaturas entre 22°C y 26°C y con humedad de 45% (mayo-julio) son favorables a la infección del ganado.

Aunque la infección con *Paramphistomun* spp. puede producir problemas graves como muertes esporádicas de ganado (ovinos, caprinos, bovinos), la mayoría de problemas que se presentan en el sector productivo se asocian a pérdida de peso con consecuente aparición de otras enfermedades (concomitantes) y por ende bajas en la producción de leche y carne (Mage

et al., 2002). No obstante, si se comparan las pérdidas por *F. hepatica* y *Paramphistomun* spp., este último presenta un impacto menor (Silva Santos et al., 1995; Mage et al., 2002).

Clínicamente se pueden citar dos cuadros clínicos o formas clínicas para la enfermedad: la aguda (intestinal) y la crónica (rumen-retículo) (Silva Santos et al., 1995). En la primera el grado de los síntomas depende de la cantidad de metacercarias ingeridas por el animal. Consisten básicamente de anorexia, diarrea fétida y oscura, pérdida de peso, anemia severa y edema submandibular. En la forma crónica los síntomas son imperceptibles; y aunque se presente la forma aguda o la crónica pueden llegar a producir debilidad y posteriormente muerte (Silva Santos et al., 1995), la que significa pérdidas económicas para los ganaderos. En la finca en estudio parece estar presente la forma crónica de la paramfistomosis, ya que clínicamente ninguno de los animales evaluados que resultaron positivos a la presencia de huevos de *Paramphistomun* spp. presentaron síntomas. El hecho del lavado de las vísceras huecas abdominales en las plantas de sacrificio hace que el hallazgo del parásito por parte de los inspectores, ya sea en duodeno (forma aguda) o en rúmen o retículo (forma crónica), sea difícil por lo que no es frecuente el reporte de éstas parasitosis en los mataderos aún cuando ya se sabe que hay animales que están infectados y que poseen formas adultas (Silva Santos et al., 1995).

Las lesiones patológicas encontradas en los hígados estudiados son las mismas que reporta la literatura (Thomson, 1988; Bordin, 1995). Sin embargo, se encontraron con mayor frecuencia las lesiones inflamatorias de tipo crónico, que consisten de fibrosis periductular y calcificación e hiperplasia de los ductos biliares. No obstante, las lesiones no tienen una ubicación muy determinada como lo describe Bordin (1995).

Aunque en las observaciones hechas en los hígados evaluados, no se estudió ninguna correlación entre el número de formas adultas encontradas en los hígados afectados y el grado de las lesiones, hay autores que sí han estudiado la posible relación entre el grado de severidad de las lesiones y la cantidad de parásitos en hígados, logrando establecer algún grado de correlación para esta observación (Marcos et al., 2007).

Con respecto a las pérdidas por decomisos de hígados infectados con *F. hepatica*, en el periodo comprendido entre 2000 y 2006, se obtuvo porcentaje de infección del 0.8 % en 3 mataderos del área metropolitana. Este porcentaje es menor que el reportado por Cartín González & Chang Díaz (1983) en los mataderos Municipal de Turrialba (7.4%) y de Cerrillos (3.9%). Esto se puede explicar por que el ganado vacuno sacrificado en los mataderos del área metropolitana provienen de varias regiones del país, mientras que en los mataderos estudiados por Cartín González & Chang Díaz (1983) los animales para sacrificio provienen de una misma región, la cual es considerada como endémica para *F. hepatica* (Herrera, 1979). En Brasil, Echevarria (2004) reportaron un porcentaje de infección de 14.7% en el año 1984, con base a los hallazgos de matadero. Además, en 1972 y 1973 en Uruguay se reportaron 52.801 hígados decomisados de 111.253 reses sacrificadas (47,46%) (Herrera, 1979).

No obstante, a pesar de la baja prevalencia de hígados decomisados en los 3 mataderos, esta situación no deja de representar importantes pérdidas económicas hasta de ¢124.076.400, las cuales son superiores a las reportadas por Cartín González & Chang Díaz (1983) en el año 1982 en el matadero municipal del cantón de Turrialba y en el matadero de Cerrillos en Cartago (¢83.250 y ¢124.425, respectivamente). En México, entre 1965 y 1968, se

decomisaron 52.404 hígados para un total de \$760.211 pesos mexicanos (\$1.75/kg) (Gomez et al., 1978); mientras que en Australia, se estimó en 1999 que las pérdidas por este problema ascienden a \$50-80 millones al año (Boray, 1999). Aunque difícil de cuantificar, la infección de rumiantes domésticos con *F. hepatica* causa pérdidas económicas significativas estimadas en más de US \$2000 millones por año en el sector agrícola mundial, con más de 600 millones de animales infectados (Becerra, 2001). Las pérdidas económicas debido al decomiso de hígados parasitados son menos cuantiosas en relación a las pérdidas por reducción en la ganancia de peso, fertilidad y producción de leche (Schweizer et al., 2005), aunque representan pérdidas significativas para el sector ganadero nacional. Además, otra observación importante es que los decomisos reportados por los mataderos se refieren tanto a bovinos de carne como bovinos de leche, ya que a la hora del sacrificio no hay diferenciación entre el propósito de uso de los animales, lo que implica que el problema es mayor de lo estimable y que está presente en explotaciones tanto lecheras como de carne.

5. CONCLUSIONES

- ✓ Por primera vez se reporta el parasitismo por los tremátodos *F. hepatica* y *Paramphistomum* spp. en bovinos de carne en la región de Siquirres.
- ✓ Los porcentajes más elevados de infección por *F. hepatica* (31.6%), en la cual los animales de edad entre 18 a 24 meses presentaron los porcentajes más elevados (19.4%) de infección, y *Paramphistomum* spp. (15.8%) ocurrieron en agosto de 2005 y 2006.
- ✓ No se logró encontrar los vectores biológicos de *F. hepatica* y *Paramphistomum* spp. en la finca estudiada.
- ✓ Las lesiones hepáticas producidas por *F. Hepatica* en los órganos estudiados son principalmente crónicas, caracterizadas por engrosamiento de los ductos biliares, fibrosis de los mismos, calcificaciones en lumen de ductos y atrofia de lóbulos hepáticos.
- ✓ La prevalencia de la infección por *F. hepatica* en tres mataderos del área metropolitana, del año 2000 al 2006, fue de 0.8% y las pérdidas económicas debido al decomiso de hígados parasitados son de ¢124.076.400, representando un impacto considerable para la ganadería nacional.

6. RECOMENDACIONES

- ✓ Intensificar la búsqueda de los vectores biológicos de *F. hepatica* en la región de Siquirres.
- ✓ Determinar la seroprevalencia de la fascioliasis bovina en la región de Siquirres y en otras regiones del país.
- ✓ Realizar estudios para verificar la ocurrencia de la fascioliasis en humanos en la región de Siquirres.
- ✓ Desarrollar estrategias para el control de la fascioliasis bovina en la finca estudiada, tales como: la utilización de antihelmínticos en los animales jóvenes para reducir la contaminación de los potreros, restringir el acceso de los animales a las áreas inundadas, drenaje de las áreas inundadas entre otros.
- ✓ Poner a los animales jóvenes en potreros en los cuales pastorearon animales mayores a 2 años de edad.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrous, M., D. Rondelaud, G. Dreyfuss & J. Cabaret. 1998. Unusual transmission of the liver fluke, *Fasciola hepatica*, by *Lymnaea glabra* or *Planorbis leucostoma* in France. *J. Parasitol.* 84:1257-1259.
- Arroyo, R. Mora, J.A., Molina, S., Troper, L., Amador, A. 1981. Fascioliasis hepática humana en Costa Rica. *Rev. Costarric. Cienc. Méd.* 2:35-57.
- Bargues M. D., P. Artigas, R. L. Mera Y Sierra, J. P. Pointier, S. Mas-Coma. 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. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 101(7): 621-41.
- Barrientos, Z. 2007. Entrevista con la bióloga Zaydett Barrientos. Laboratorio de Hidrología Ambiental. Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. 7 de junio.
- Becerra, M.R. 2001. Consideraciones sobre estrategias sostenibles para el control de *Fasciola hepática* en Latinoamérica. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 14: 228-35.
- Boyce, W., & C. Courtney. Seasonal Transmission of *Fasciola hepatica* in North Central Florida (U.S.A). 1990. *Int. J. Parasitol.* Aug; 20(5): 695-6.
- Boray, J. C. 1999. Liver fluke disease. *Agfact.* A0. 9.57, second edition: pp 663-677.
- Bordin, E.L. 1995. Revisão da anatomia patológica de fasciolose bovina. *A hora vet.* pp 33-35.
- Bowman, D. D. 1999. *Georgi's parasitology for veterinarians.* 7th ed. W. B Saunders Company, Philadelphia, E.U.A.

- Cannon R. M. & R. T. Roe. 1982. Livestock Disease Surveys: A Field Manual for Veterinarians. Australian Government Publishing Service, Canberra, Australia.
- Cañete, R., M. Yong, J. Sánchez, L. Wong, & A. Gutiérrez. 2004. Population Dynamics of Intermediate Snail Hosts of *Fasciola hepatica* and Some Environmental Factors in San Juan y Martínez Municipality, Cuba. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 99: 257-262.
- Cartín Gonzalez, M. E., & E Chang Diaz. 1983. Diagnóstico y control de la fasciolosis bovina en el distrito de Santa Cruz de Turrialba, provincia de Cartago. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional, Costa Rica.
- Cerdas, M. 2005. Entrevista con el Dr. Mario Cerdas. Médico Veterinario de la Subasta Gasol, Guápiles de Pococi, Limón, C.R. 19 de Agosto.
- Cordero del Campillo, M., & Rojo Vázquez, F.A. 1999. Parasitología Veterinaria. Mc Graw-Hill, España.
- Cringoli G., L. Rinaldi, V. Veneziano, G. Capella, & J.B. Malone. 2002. A cross-sectional coprological survey of liver flukes in cattle and sheep from an area of the southern Italian Apennines. Vet Parasitol. 108: 137-143.
- Cruz Mendoza, I., F. Ibarra Velarde, M. T. Quintero Martinez, E. Naranjo García, J. Lecumberri López, & D. Correa. 2005. Seasonal transmission of *Fasciola hepatica* in cattle and *Lymnaea (Fossaria) humilis* snails in central Mexico. Parasitol. Res. 95: 283-286.
- Echevarria, F. 2004. Fasciolose. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 13:100-102.
- Georgi, J.R., & M.E. Georgi. 1990. Parasitology for Veterinarians. 5th ed. W.B Saunders Company, New York, United States.

- Gómez, A. T., R. R. Pérez, B. F. Terón. 1978. Fasciolosis en México, estado actual y huéspedes intermediarios. *Rev. Lat. Microb.* 20(2): 121-129.
- Gutiérrez, A., D.F. Hernández, & J. Sánchez. 2005. Variation of snail's abundance in two water bodies harboring strains of *Pseudosuccinea columella* resistant and susceptible to *Fasciola hepatica* miracidial infection, in Piñar del Río Province, Cuba. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 100(7): 725-727.
- Hendrix, C. 1998. *Diagnosis in Veterinary Parasitology*. 2nd ed. Mosby, St Louis Missouri, E.U.A.
- Hernández, J. 2004. *Técnicas Parasitológicas*. Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, Universidad Nacional, Costa Rica.
- Herrera, R. A. 1979. *Diagnóstico de fasciolosis: estudio comparativo entre la intradermorreacción, examen coproparasitológico y contraelectroforesis*. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional, Costa Rica.
- Hugh Jones, M. E., W. T. Huberth, & H. V. Hagstad. 1995. *Zoonoses: Recognition, Control and Prevention*. 1st ed. Iowa State Press, Ames, Iowa, E.U.A.
- Instituto Meteorológico Nacional. 2007. Promedio de las precipitaciones y temperaturas ambientales de la región atlántica de Costa Rica en los últimos 36 años. En línea: www.imn.ac.cr. 24 de junio de 2007.
- Jimenez R., A.E. 2007. *Entrevista con la Doctora Ana Jimenez Rocha*. Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. 11 de junio.

- Jiménez, A.E., V. Montenegro, J. Hernández, G. Dolz, L. Maranda, J. Galindo, T. Schnieder, & C. Epe. 2003. Dinámica poblacional de parásitos gastrointestinales y de *Dictyocaulus viviparus* en bovinos de carne y leche en Costa Rica. XIII Congreso Nacional de Medicina Veterinaria. 21-24 de octubre del 2003. San José, Costa Rica.
- Kassai, T. 1998. Helmintología veterinaria. Acribia, Zaragoza, España.
- Kithuka J.M., N. Maingi, F.M. Njeruh, & J.N. Ombui. 2002. The prevalence and economic importance of bovine fasciolosis in Kenya: an analysis of abattoir data. Onderstepoort J. Vet. Res. 69(4): 255-262.
- Kleiman F., S. Pietrokovsky, L. Prepelitchi, A. E. Carbajo & C. Wisnivesky-Colli. 2007. Dynamics of *Fasciola hepatica* transmission in the Andean Patagonian valleys, Argentina. Vet. Parasitol. 145(3-4): 274-86.
- Mage, C., H. Bourne, J. M. Toullieu, D. Rondelaud, & G. Dreyfuss. 2002. *Fasciola hepatica* and *Paramphistomum daubneyi*: changes in prevalences of natural infections in cattle and *Lymnaea truncatula* from central France over the past 12 years. Vet. Res. 33: 439-447.
- Marcos, L. A., P. Yi, A. Machicado, R. Andrade, F. Salmavides, J. Sánchez & A. Terashima. 2007. Hepatic fibrosis and *Fasciola hepatica* infection in cattle. J. Helminthol. 25: 1-6.
- Marques, T., S. Marcia, & M. L. Schroferneker. 2003. *Fasciola hepatica* infection in cattle and buffaloes in the State of Rio Grande do Sul, Brazil. Parasitol. Latinoam. 58(3-4): 169-172.
- Mora, J.A., Arroyo, R., Molina, S., Troper, L., Irías, E. 1980. Nuevos aportes sobre el valor de la fasciolina. Estudio en un Área endémica de Costa Rica. Bol. Of. Sanit. Panam. 89(5):409-414.

- Nieves, E., M. Rondon, E. Zamora & M. Salazar. 2005. *Fasciola hepatica* (Trematode: Fasciolidae) en la zona alta de Mérida Venezuela. Rev. Elec. Vet. 6(12).
- Paraense, W.L. 2004. Planorbidae, Lymnaeidae and Physidae of Ecuador. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 99(4): 357-362.
- Pointier, J.P, N.J Cazzaniga, C. González-Salas, A. Gutiérrez, J.A. Arenas, M.D. Bargues, & S. Mas-Coma. 2006. Anatomical studies of sibling species within Neotropical lymnaeids, snail intermediate hosts of fascioliasis. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 101(4): 431-435.
- Pritchard, G. C., A. B. Forbes, D. J. L. Williams, M. R. Salimi-Bejestani & R. G. Daniel. 2005. Emergence of fasciolosis in cattle in East Anglia. Vet. Rec. 157: 578-582.
- Ramón Brenes, R., Arroyo, G., Muñoz, G., Delgado, E. 1968. Estudio preliminar sobre *Fasciola hepatica* en Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 15(1):137-142.
- Salimi-Bejestani, M.R., R.G. Daniel, S.M. Felstead, P.J. Cripps, & H. Mahmood, D.J.L. Williams. 2005. Prevalence of *Fasciola hepatica* in dairy herd in England and Wales measured with an ELISA applied to bulk-tank milk. Vet. Rec. 156: 729-731.
- Schweizer, G., U. Braun, P. Deplazes, & P.R. Torgerson. 2005. Estimating the financial losses due to bovine fasciolosis in Switzerland. Vet. Rec. 157: 188-193.
- Silva Santos I. C., I. R. S. Martins, R. J. Laranja & V. H. Ceresén. 1995. Paramfistomose no Fio Grande do Sul. A hora vet. pp 48-56.
- Soulsby, E.J.L. 1986. Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los animales domésticos. 7 Ed. Interamericana, México D.F.

- Suon S., D. Hol, S. Siek, M. McLean & B. Copeman. 2006. Seasonal differences in the incidence of infection with *Fasciola gigantica* in Cambodian cattle. Trop. Anim. Health. Prod. 38(1): 23-8.
- Taylor, E. L. 1965. La fasciolosis y el distoma hepático. 1^{era} ed. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, Italia.
- Thomson, R. 1988. Special Veterinary Pathology. 1^{era} ed. Editorial Mosby, Philadelphia, Pennsylvania, E.U.A.
- Wiedosari E., H. Hayakawa & B. Copeman. 2006. Host differences in response to trickle infection with *Fasciola gigantica* in buffalo, Ongole and Bali calves. Trop. Anim. Health. Prod. 38(1): 43-53.