

Hospedadores intermediarios con resistencia genética a *Fasciola hepatica* y evaluación preliminar de su utilización en el control de fasciolosis en ganado vacuno en la zona de Cajamarca, Perú

Intermediate hosts with genetic resistance to *Fasciola hepatica* and preliminary evaluation of its use in the control of fasciolosis in cattle in the Cajamarca Area, Perú

Marco Cabrera-González¹ , Cristian Hobán² , Carlos Quilcate-Pairazamán³ , Medali Cueva-Rodriguez^{1*} 

¹Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Dirección de Desarrollo Tecnológico Agrario, Estación Experimental Baños del Inca. Baños del Inca, Cajamarca, Perú.

²Universidad Nacional de Cajamarca, Facultad de Ciencias Veterinarias, Laboratorio de Inmunología. Cajamarca, Perú.

³Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Dirección de Desarrollo Tecnológico Agrario. La Molina, Lima, Perú.

Autor para correspondencia: mcuevar@unc.edu.pe

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar de manera preliminar poblaciones de morfotipos con patrones de marcadores fenotípicos de resistencia a infección artificial por miracidio para su utilización en el control de fasciolosis en ganado vacuno, se multiplicaron los hospedadores intermediarios con resistencia a formas infectivas de *Fasciola hepatica* en condiciones de laboratorio, se recogieron 850 caracoles de las acequias y zonas pantanosas de 8 rebaños ubicados en los distritos de La Encañada y Baños del Inca, Perú, ubicados a una altitud de 2.626 a 3.115 metros sobre el nivel del mar (msnm), del género *Lymnaea viatrix*, seleccionándose 400 caracoles con patrones de susceptibilidad / resistencia a infección artificial por miracidio (morfometría de la concha, conducta de ovoposición, patrón de pigmentación del manto). Se probaron dos métodos de crianza de multiplicación de morfotipos observándose que el método de crianza 1 obtuvo una menor mortalidad promedio de $n=11 \pm 2,44$ en relación al método 2, en cuanto a la fecundidad fue mayor en el método 1 ($n=8$) en relación al método 2 ($n=3$); la viabilidad de las masas de huevos en el método 1 fue de 60% y en el método 2 de 48,4%. El tiempo de incubación de los huevos fue de 19 días a 18°C. La resistencia encontrada y observada de estos morfotipos evaluaron la resistencia preliminar frente a miracidio en condiciones de laboratorio, observándose que fue de 5% en el género *Lymnaea* y se puede extrapolar a condiciones de campo, teniendo en cuenta las observaciones realizadas en cuanto a adaptabilidad, densidad poblacional, adaptabilidad y sobrevivencia durante la época de del año y la carga parasitaria se puede tener como control alternativo al control químico inadecuado causante del fenómeno de resistencia de *F. hepatica*.

Palabras clave: *Fasciola hepatica*; vacunos; resistencia; *Lymnaea viatrix*

ABSTRACT

With the objective of preliminarily evaluating populations of morphotypes with patterns of phenotypic markers of resistance to artificial infection by miracidium for their use in the control of fasciolosis in cattle, intermediate hosts with resistance to infective forms of *Fasciola hepatica* were multiplied under conditions laboratory, 850 snails were collected from the ditches and swampy areas of 8 herds located in the districts of La Encañada and Baños del Inca, Peru, located at an altitude of 2,626 to 3,115 meters above sea level (msnm), of the genus *Lymnaea viatrix*, selecting 400 snails with patterns of susceptibility/resistance to artificial infection by miracidium (shell morphometry, oviposition behavior, mantle pigmentation pattern). Two breeding methods of multiplication of morphotypes were tested, observing that breeding method 1 obtained a lower average mortality of $n=11 \pm 2.44$ in relation to method 2, in terms of fecundity it was higher in method 1 ($n=8$) in relation to method 2 ($n=3$); The viability of the egg masses in method 1 was 60% and in method 2 was 48.4%. The incubation time of the eggs was 19 days at 18°C. The resistance found and observed of these morphotypes evaluated the preliminary resistance against miracidium in laboratory conditions, observing that it was 5% in the genus *Lymnaea* and can be extrapolated to field conditions, taking into account the observations made regarding adaptability, population density, adaptability and survival during the time of year and the parasite load can be used as an alternative control to the inadequate chemical control that causes the resistance phenomenon of *F. hepatica*.

Key words: *Fasciola hepatica*; cattle; resistance; *Lymnaea viatrix*

INTRODUCCIÓN

Fasciola hepatica es considerado un parásito cosmopolita que ocasiona pérdidas económicas considerables en la producción pecuaria a nivel mundial [1, 2]. Se estima que esta enfermedad zoonótica infecta a más de 600 millones de animales y hasta 2,4 millones de humanos [3]. El control actual y futuro está amenazado por la aparición mundial de trematodos resistentes a los antihelmínticos [4].

La fasciolosis es una enfermedad parasitaria que causa daños a distintas especies de animales domésticos y seres humanos, presentando una distribución global, en zonas tropicales y subtropicales con mayor incidencia [5]. La Organización Mundial de la Salud (OMS) la identifica como enfermedad tropical desatendida reemergente, que se encuentra asociada a brotes endémicos y epidémicos de enfermedades en poblaciones de seres humanos [2, 6].

La ganadería lechera (*Bos taurus*) tiene una alta prevalencia de *F. hepatica* [1]. Por otro lado, la quimioterapia es en la actualidad la herramienta principal disponible para su control, además, por el uso intensivo de triclabendazol (TCBZ), fármaco de elección por más de 20 años y albendazol (ABZ) han desarrollado aislados resistentes [1, 7]. La resistencia a TCBZ se ha informado en todos los Continentes y amenaza el control efectivo de la fasciolosis en muchas partes del mundo [8]. En tal sentido, *F. hepatica* mantiene una amplia distribución a nivel mundial, considerando que la contaminación a través de las heces es la fuente principal de transmisión, interviniendo los caracoles como parte fundamental y esencial en el ciclo biológico [9]. Se ha reportado que *F. hepatica* presenta resistencia a TCBZ, siendo este fármaco de elección para el control de fasciolosis a nivel mundial [10, 11, 12, 13], considerando la presencia de resistencia a los antihelmínticos, tanto en animales como en humanos, todo esto ocasiona un problema en la salud a nivel mundial [1].

Por la resistencia que presenta *F. hepatica* se han realizado combinaciones de antiparasitarios como ABZ y clorsulón (CLOR) resultando muy eficientes para el control de fasciolosis. La resistencia a los medicamentos requiere un manejo inmediato de parásitos en la granja para garantizar que los tratamientos sean efectivos y que las tasas de reinfección se mantengan bajas, mientras se desarrolla un método de control sostenible a largo plazo, como una vacuna [4].

Las condiciones climáticas de la zona, las características biológicas propias del hospedador definitivo y las características propias del parásito hacen que la región de Cajamarca, Perú, sea endémica a *F. hepatica*. Desde hace décadas se emplea productos químicos para su control, habiendo evidencias de un uso inadecuado que ha generado cepas resistentes a los antihelmínticos. Se están considerando nuevos métodos de lucha frente a fasciolosis como control inmunológico, hospedadores intermediarios del género *Lymnaea* resistentes a miracidio mediante evidencias halladas en este género que en condiciones de laboratorio algunos morfotipos muestran resistencia a la infección con miracidio los que se han mostrado como alternativas viables y prometedoras.

Sin embargo, la información es escasa al rol de resistencia que presenta los intermediarios del género *Lymnaea* a dicha parasitosis [12, 14], debido a la variabilidad en la susceptibilidad de la especie y las diferencias entre poblaciones de caracoles y también entre los individuos [1, 15]. Asimismo, poblaciones de hospedadores intermediarios con resistencia natural a la infección por *F. hepatica* [14], se asocian con patrones morfológicos presentando decoloración en forma de manchas en la región central del caparazón, siendo estas

más escasas en la parte superior e inferior del caracol [15, 16]. El objetivo del estudio fue evaluar de manera preliminar poblaciones de morfotipos con patrones de marcadores fenotípicos de resistencia a infección artificial por miracidio para su utilización en el control de fasciolosis en ganado vacuno en la zona de Cajamarca, Perú.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y selección de rebaños

Ubicación: Se utilizaron 8 rebaños ubicados según Sistema de Coordenadas Universal – UTM en Baños del Inca (Reb.1: 17M 0780774/9206438 –2,626 msnm.; Reb. 2: 17M 0780774/9206436 –2,634 msnm; Reb. 3: 17M 0779687/9208567 –2,674 msnm.; Reb. 4: 17M 0779726/9203519 –2,674 msnm.); y en La Encañada (Reb. 1: 17M 0797947/9212485 –3,054 msnm; Reb. 2: 17M 0799627/9212869 –3,115 msnm.; Reb. 3: 17M 0797268/9210072 –3,019 msnm.; Reb. 4: 17M 0797666/9208157 –2,948 msnm) como se puede apreciar en la FIG. 1.

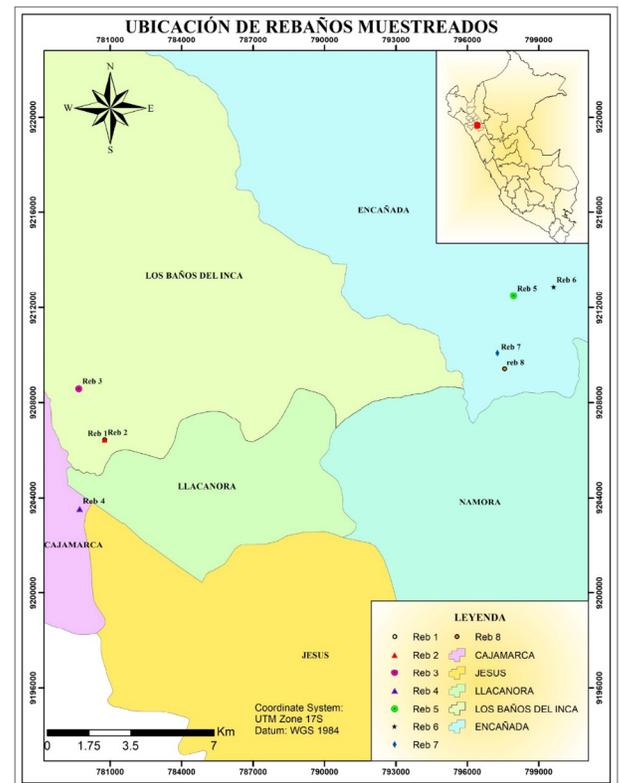


FIGURA 1. Distribución geográfica de los 8 rebaños muestreados. Cultivo de caracol en el laboratorio para obtención de morfotipos F1

Hospedadores intermediarios de *F. hepatica* (n=100) se recogieron en los 8 rebaños seleccionados (*Lymnaea viatrix* y *Lymnaea schirazensis* [3], se obtuvieron clúster de huevos para obtener caracoles F1 libres de formas infectivas de *F. hepatica* y fueron ubicados en recipientes de plástico con tierra molida, agua destilada y lechuga (*Lactuca sativa*) como alimento; a temperatura ambiental (18°C), y con exposición a 12 h de luz y 12 h de oscuridad. Las masas de huevos fueron agrupadas teniendo en cuenta la forma y el sitio de la ovoposición (en tierra / sobre paredes del recipiente) [3] hasta su eclosión, durante su crecimiento hasta F1.

Obtención de miracidio de *F. hepatica* e infección experimental

Se obtuvieron de heces colectadas del recto de vacunos de los animales [7, 8]. Los huevos se procesaron mediante la técnica de Sedimentación Modificada de Deniss y fueron colocados en vasos de precipitación y envueltos en papel aluminio, almacenados en cajas de tecnoport, por 20 días en oscuridad a 18°C. La eclosión del miracidium se obtuvo con exposición a la luz del estereomicroscopio por 5 min [16].

Caracoles F1 (n=100) con longitud mayor a 3 mm fueron depositados en placa multipocillo y se infectaron con 3 miracidios exponiéndose al miracidio por 4 h a 18°C. 45 días post inoculación se examinó la emergencia de cercaria; los especímenes infectados muertos fueron diseccionados en busca de esporocistos, redias o cercarias inmaduras [17, 18]. Marcadores fenotípicos asociados con susceptibilidad / resistencia a la infección por miracidio. Morfometría del caracol: Se determinó la altura, longitud, apertura, número de verticilios. Conducta de ovoposición: se seleccionaron caracoles F1 obtenidos en el laboratorio que sus progenitores mostraron conducta de ovoposición en tierra y/o adheridos a las paredes del recipiente. Patrón de pigmentación del manto: se evaluó macroscópicamente pigmentación, color y su concentración de la concha.

Evaluación de densidad poblacional de caracoles / metro cuadrado (m²) en campo de pastoreo

La densidad poblacional se determinó teniendo en cuenta que los miembros del género *Lymnaea* se pueden reconocer sin dificultad, por habitar en agua dulce, presentan una concha cónica, puntiaguda y con giros enrollados en espiral, en forma dextrógira. Son hermafroditas, con hábitos anfibios, viven de preferencia en las márgenes húmedas de la vegetación acuática de las acequias, áreas pantanosas, ríos tranquilos y sobre el lodo del fondo acuático; alimentándose de detritos vegetales y materia orgánica [11].

La toma de datos en campo se llevó a cabo mediante la identificación de las zonas potenciales donde habitan estos hospedadores dentro de los rebaños seleccionados la visualización del área como acequias de regadío y zonas pantanosas, bebederos. En cada localidad se hicieron de 3 a 4 muestreos en un transecto de 100 m a lo largo de las acequias de aquellos lugares donde se encontraron caracoles y además se orientaba el caracol con el vértice dirigido hacia el Norte [12, 18], de esta manera se podía determinar la posición de la abertura frente al observador (lado derecho: género *Lymnaea* y hacia la izquierda *Physa acuta* o caracoles comunes). Luego se realizaba la cuantificación de caracoles encontrados en el predio.

Protocolo de crecimiento de morfotipos resistentes

Los Lymneidos seleccionados y colectados en los rebaños en estudio con características fenotípicas de resistencia [18] transportados en condiciones isotérmicas al laboratorio de Sanidad de la Estación Experimental Baños del Inca –Instituto Nacional Investigaciones Agropecuarias (INIA)–, luego fueron lavados en agua para eliminar los restos de tierra y vegetales adheridos a su caparazón y se agruparon para su crianza en grupos de 10 caracoles por cada experimento de crianza de 500 g de sustrato teniendo en cuenta la procedencia y posteriormente se evaluó el protocolo más.

1. Protocolo 1: arena estéril (200 g), agua (60 mL), se utilizó lechuga (*Lactuca sativa* L.) fresca como alimentación de los caracoles suministrado *ad libitum* removida a las 72 h y una temperatura de incubación de 18°C.

2. Protocolo 2: tierra estéril (200 gr), agua (60 mL), algas como alimentación, removida a los 7 días y una temperatura de incubación de 18°C.

Análisis estadístico

Las variables cuantitativas fueron analizadas utilizando programas de cómputo obteniendo medias aritméticas o promedios, rangos, variancia, desviación estándar, coeficiente de variabilidad. Los datos se procesaron mediante Excel y paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) [19].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La infección natural de hospederos intermediarios en La Encañada, en *L. viatrix* se encontró 16,66% con un promedio de $3,23 \pm 3,004$ redias y $48,33 \pm 12,583$ cercarias [3] y *L. schirazensis* 1,66% con $1,16 \pm 0,752$ redias y $40,00 \pm 10,000$ cercarias [3], Como se puede apreciar en la FIG. 2.

La infección natural de hospederos intermediarios en Baños del Inca, se encontró infección en *Limnaea viatrix* (60%); principalmente con un promedio de $6,5 \pm 3,535$ redias y $20,0 \pm 7,071$ cercarias. Como se puede apreciar en el FIG. 3.

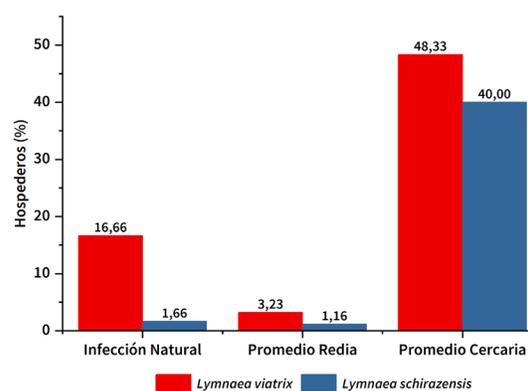


FIGURA 2. Infección natural en hospederos intermediarios de *Fasciola hepatica* - La Encañada

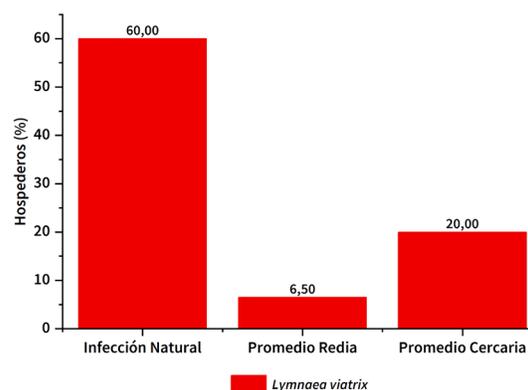


FIGURA 3. Infección natural en hospederos intermediarios de *Fasciola hepatica* - Baños del Inca

La infección natural fue superior en La Encañada e inferior en Baños del Inca en *L. viatrix* con 12 % en *L. columella* y 27 % en *L. viatrix* [16]; puede atribuirse a época de colecta, condiciones medioambientales. Otros estudios en Cajamarca fue 6,2 % y 30 % en *L. viatrix* [15, 20]; variancia posiblemente al efecto invernadero del calentamiento global que ha favorecido la sobrevivencia; coincidiendo con 65 % encontrado en Cajamarca en rebaños de Baños del Inca [11, 20]

Con respecto a *L. schirazensis* pocos trabajos reportaron infección natural teniendo bajos niveles de infección a pesar de encontrarse en zonas endémicas [3]. La intensidad de infección natural está dentro del rango como lo señalan otros investigadores como en *Lymnaea cubensis* 20 redias/caracol y 16 cercarias/redia [21]; otros mencionan redias entre 5-138 en *L. cubensis* y cercarias por redia 0-300 [10]. En Perú presentan como *L. columella* redias por caracol 8, 6 y cercarias por redia 14,4 mientras *L. viatrix* 16,5 y 14,2 respectivamente [16]; posiblemente variación a factores ambientales de cada zona.

Para evaluar Lymneidos resistentes se infectó hospederos intermediarios F1 con miracidio provenientes de huevos de *F. hepatica* [13, 14]; existiendo mayor susceptibilidad en *L. viatrix* 13.7 % y *L. schirazensis* 2.5 %. La mortalidad de caracoles infectados artificialmente fue menor en *L. schirazensis* 12.5 % que en *L. viatrix* 66.2 %; encontrándose morfotipos resistentes en *L. viatrix* 3.75 % y *L. schirazensis* 1.25 %, observándose relación directa entre el tamaño del caracol y susceptibilidad a la infección, a menor tamaño mayor porcentaje de infección y mortalidad. Con respecto al género *L. schirazensis* son pocos los trabajos donde se ha reportado infección natural y se reporta bajos niveles de infección a pesar de encontrarse en hábitats donde se conocen las prevalencias de fasciolosis que es alto [3]. Como se puede apreciar en la FIG. 4

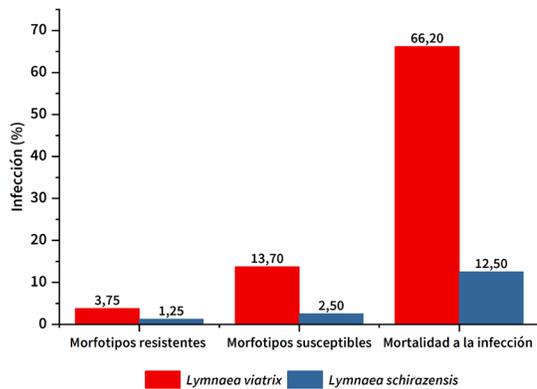


FIGURA 4. Infección artificial de hospederos intermediarios F1 a miracidio de *Fasciola hepatica*

La infección artificial encontrada es menor si se la relaciona con otras investigaciones como es el caso del Ecuador, donde se reportó susceptibilidad en 20 ejemplares de *L. viatrix* 62 % [22], y 70 % [16]; además en *L. columella* 70 % [16]; en otra especie de limneido (*L. columella*) se obtuvo infección de 81 % [23, 24]. En especímenes brasileros la infección es 44 % bajo condiciones experimentales [14]. Caracterización por marcadores fenotípicos de morfotipos [3]. Morfometría del caracol: Se evaluaron 4 variables, alto, ancho, apertura y circunvalaciones [3]; encontrándose diferencias significativas en

2 variables ($P < 0,05$), siendo en caracoles resistentes más estrecha y alargada que susceptibles. Como se puede apreciar en las FIG. 5 y 6.

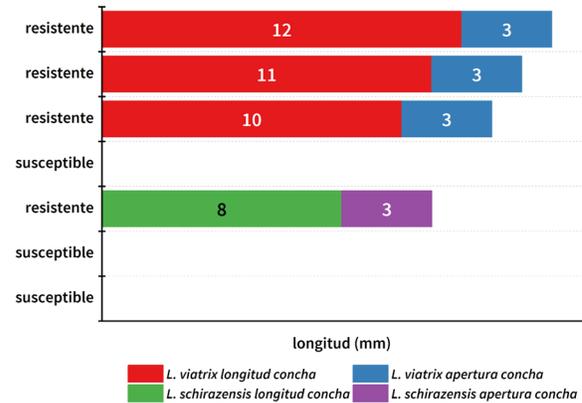


FIGURA 5. Variables asociadas de resistencia de infección con miracidio de hospederos intermediarios de *Fasciola hepatica* / longitud y apertura del caracol

Al comparar resultados algunos autores observaron en otros géneros de lymneidos que se comportan como hospederos intermediarios de *F. hepatica* que el tamaño ideal varía entre 8-10 mm en *L. columella* [18]; otros indican que entre 7-9 mm presentan mayor infección experimental en *L. columella* y mientras más pequeños mayor facilidad para la infección experimental y mortalidad [14]. Estudios realizados en Cuba manifiestan que la longitud y apertura del caracol son características importantes de resistencia [2]. Como se puede apreciar en la FIG. 6.

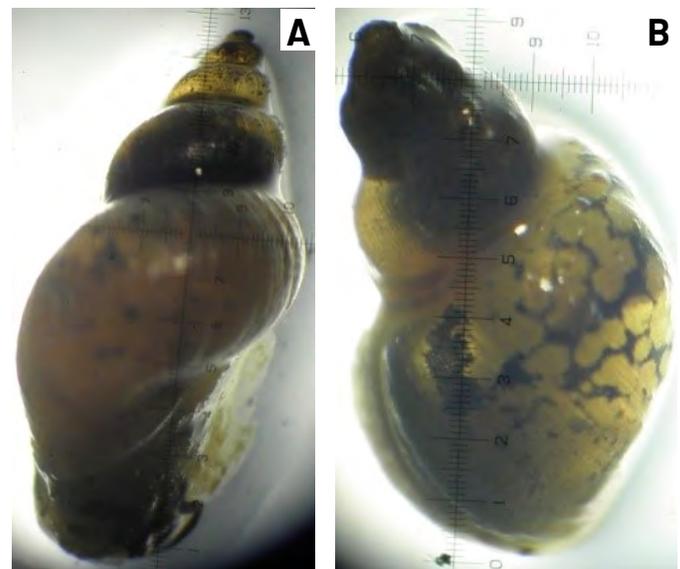


FIGURA 6. Morfotipos resistente/susceptible en cuanto a variable de longitud del caracol. Morfotipo resistente (A) y morfotipo susceptible (B). EE. Baños del Inca

Morfotipos resistente/susceptible en cuanto a variable de pigmentación del manto

Patrón de pigmentación del manto: mediante estereomicroscopio (CDS DAíascopic, Stand S SMZ645, NIKON, Japón) permitió diferenciar caracoles resistentes, siendo más concentrados de los susceptibles que tienen pigmentos más aislados, resultados similares se obtuvieron en otras especies como el género *Pseudosuccinea columella* presenta diferenciación en el patrón del manto en cepas resistentes frente a susceptibles [2]. Como se puede apreciar en la FIG. 7.

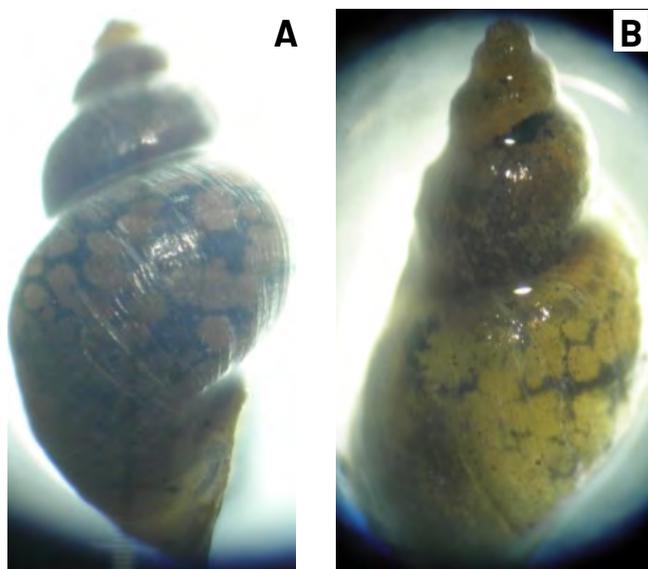


FIGURA 7. Morfotipos resistente/susceptible en cuanto a variable de pigmentación del manto. Morfotipo resistente (A) y morfotipo susceptible (B). EE. Baños del Inca

Conducta de ovoposición

La infección artificial de morfotipos F1 teniendo en cuenta su conducta ovopositoria de sus progenitores fue estudiada y observada, siendo en *L. schirazensis* los huevos mostraron tendencia de riñón a banana y *L. viatrix* forma oval [3]. Se pudo observar que morfotipos F1 eran resistentes de los provenientes de caracoles con conducta ovopositoria a depositar los clúster de huevos sobre la tierra de los acuarios; mientras que los susceptibles ponen los clúster de huevos adheridos a las paredes; caso parecido se menciona en el género *Pseudosuccinea columella* [2]. Como se muestran en las FIG 8 y 9, respectivamente.

Con la finalidad de encontrar una metodología de multiplicación de hospedadores intermediarios de *F. hepatica* que permita obtener morfotipos se evaluaron dos metodologías de crianza: método 1, donde se utilizó arena estéril, agua y lechuga *ad libitum*; método 2, se utilizó tierra estéril, agua y algas verdes (*Chlorophyta sensu lato*) *ad libitum*; observándose que el método 1 (mortalidad promedio $11 \pm 2,44$) tiene menor mortalidad de hospedadores intermediarios en comparación con el método 2 (mortalidad promedio $16 \pm 2,32$). Como se puede apreciar en el FIG. 10 y TABLAS I y II.



FIGURA 8. Variabilidad de clúster de huevos en hospederos intermediarios de *Fasciola hepatica*

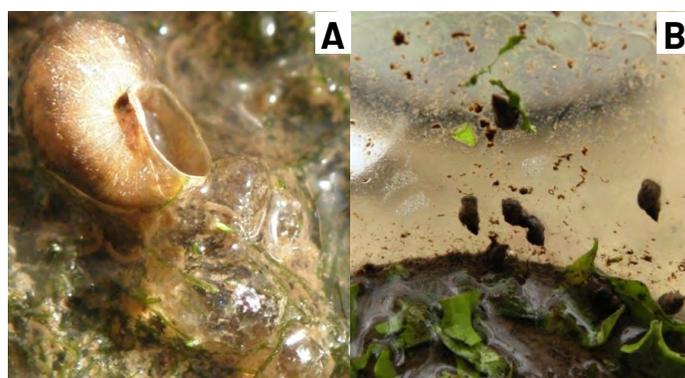


FIGURA 9. Conducta ovopositoria de hospederos intermediarios de *Fasciola hepatica*. Ovoposición en tierra (A) y ovoposición en la pared (B)

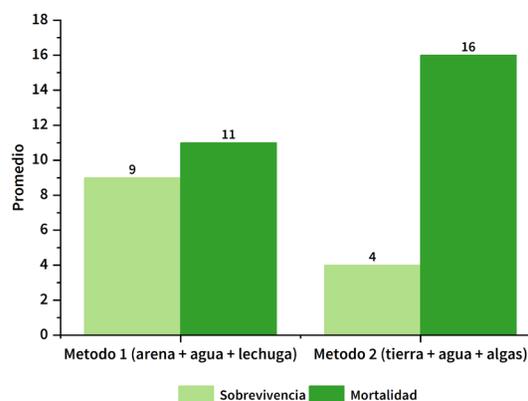


FIGURA 10. Evaluación de métodos de crianza de caracoles

La fecundidad de los caracoles en cuanto al número de ovisacos al comparar los métodos en estudio fue mayor en el método 1 ($n=8$) en relación al método 2 ($n=3$); mientras que la viabilidad de las masas de huevos se observó que, los huevos puestos por el lote 1 fue de 60% y la de los huevos puestos por el lote 2 fue 48,4%. El tiempo de incubación de los huevos fue de 19 días a 18°C.

TABLA I
Evaluación de sobrevivencia / mortalidad de caracoles criados en laboratorio método 1

Lote de crianza	N° caracoles	sobrevivencia caracoles	mortalidad caracoles
1	20	10	10
2	20	7	13
3	20	13	7
4	20	9	11
5	20	13	7
6	20	10	10
7	20	8	12
8	20	5	15
9	20	8	12
10	20	7	13
Promedio mortalidad $11 \pm 2,44$			

TABLA II
Evaluación de sobrevivencia / mortalidad de caracoles criados en laboratorio método 2

Lote de crianza	N° caracoles	sobrevivencia caracoles	mortalidad caracoles
1	20	5	15
2	20	3	17
3	20	6	14
4	20	7	13
5	20	2	18
6	20	1	19
7	20	3	17
8	20	4	16
9	20	8	12
10	20	2	18
Promedio mortalidad $16 \pm 2,32$			

Al comparar los resultados obtenidos con otras investigaciones realizadas, donde se emplearon diversas dietas alternativas bajo condiciones de laboratorio en caracoles de agua dulce como en *L. columella*, el cual fue cultivado artificialmente bajo dos clases de dietas: lechuga fresca y pellets para roedores + 10 % de CaCO₃ + lechuga fresca, no observándose diferencias muy marcadas en el número de huevos producidos por masa en ambas dietas [20, 25, 26], como es el caso de lo observado en el presente experimento.

En cuanto a la viabilidad observada de los huevos, está dentro del rango que otros autores determinaron como es en *Lymnaea truncatula*, que mostró una viabilidad de los huevos entre 59,2–68,5 % [17].

Se evaluó la densidad poblacional de hospedadores intermediarios en 8 rebaños de productores con presencia de resistencia antihelmíntica de *F. hepatica* a los principales fármacos utilizados en su control de los distritos de Baños del Inca y de La Encañada, para lo cual se realizaron 4 colectas por rebaño observándose una densidad promedio de hospedadores intermediarios. Al analizar la

densidad de hospedadores intermediarios de los rebaños analizados entre Distritos, existe mayor densidad poblacional en el distrito de Baños del Inca con un promedio de $77,5 \pm 26,80$ en comparación a los rebaños de La Encañada ($n = 51,25 \pm 18,15$) durante la época de lluvias, de igual manera sucede en la época seca (Baños del Inca, $n = 48,75 \pm 14,30$), (La Encañada, $n = 27,5 \pm 7,5$); posiblemente se deba a las condiciones medio ambientales diferentes entre localidades; coincidiendo con lo reportado en Cajamarca, la cual fue mayor durante la época de lluvias si se relaciona con la densidad poblacional de caracoles durante la época seca, como se puede apreciar en la FIG.11.

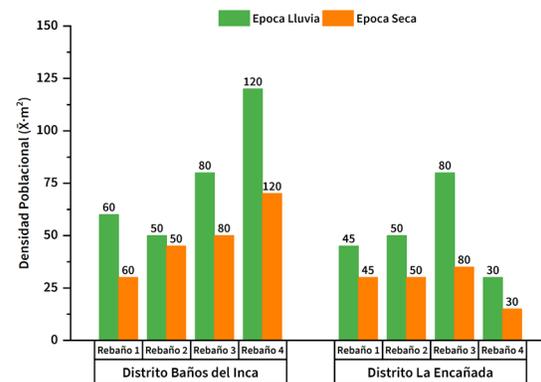


FIGURA 11. Rebaños muestreados en época de lluvia y seca. Densidad poblacional promedio/m² hospedadores intermediarios

Al analizar la densidad de hospedadores intermediarios de los rebaños analizados entre Distritos, existe mayor densidad poblacional en el distrito de Baños del Inca con un promedio de $77,5 \pm 26,80$ en comparación a los rebaños de La Encañada ($n = 51,25 \pm 18,15$) durante la época de lluvias, de igual manera sucede en la época seca (Baños del Inca, $n = 48,75 \pm 14,30$), (La Encañada, $n = 27,5 \pm 7,5$); posiblemente se deba a las condiciones medio ambientales diferentes entre localidades; coincidiendo con lo reportado en Cajamarca, que los hospedadores intermediarios de *F. hepatica* se pueden recoger en aguas superficiales, estancadas, con movimiento y curso lento, localizados en lugares fangosos, acequias, charcos, pantanos, canales de regadío y arroyos [18]. Por otro lado, la diferencia en el número de hospedadores intermediarios entre localidades y época son diferentes ya que las condiciones son diferentes proporcionando suficiente calor y humedad para la presentación de caracoles [7].

La población del caracol del género *Lymnaea* colectada fue de 850, observándose que, de acuerdo a los muestreos realizados en el año de estudio en los rebaños de La Encañada como de Baños del Inca se reportó que, el mayor número de caracoles fue en los meses de lluvia si se compara con los meses de seca siendo mayor en los meses de febrero y marzo habiéndose encontrado menos caracoles en los meses de julio–agosto [4], como se puede apreciar en FIG. 12.

Al analizar la temperatura diaria ésta puede variar en el día hasta 24°C, y por la noche descender hasta 0°C y a pesar de estas variaciones existe la presencia de *F. hepatica* en la zona en estudio, posiblemente esto se deba a que durante el invierno los caracoles (hospedadores intermediarios) hibernan durante 3 a 4 meses hasta que mejoran las condiciones climáticas de temperatura y humedad.

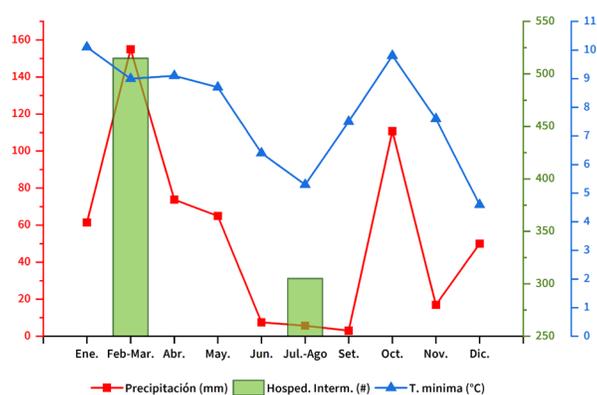


FIGURA 12. Evaluación de dinámica poblacional de hospedadores intermedios. SENAMI – 2013

Es decir que los esporocistos, redias y cercarias, buscan un lugar cómodo que les permita superar las bajas temperaturas y asegurar la supervivencia de la especie [21, 25].

La carga parasitaria encontrada en los rebaños en estudio se observó que fue mayor durante la época de lluvia con una carga promedio de $7 \pm 2,8$ huevos por g de heces con respecto a la época de seca donde fue menor con una carga promedio de $4,8 \pm 1,88$ huevos por g de heces; en la región de Cajamarca, la fasciolosis ocasiona serios problemas a la ganadería además de ser una zona endémica, lo que favorece la prevalencia de esta parasitosis [21], lo que es evidenciado por diferentes reportes de autores que afirman que el ganado de la Sierra Norte del país, muestra valores muy altos de infección; por ejemplo en Cajamarca, al examen *post mortem* se reportaron valores de 80,18 % de distomatosis bovina [22], las que se realizaron todas ellas realizadas a partir de inspección visual de vísceras en centros de beneficio de la zona. Otros estudios realizados en el norte del país muestran valores menores a lo encontrado en Cajamarca, así en Lambayeque y Ancash se reportan un 22 y 38 % de infección, respectivamente [23, 24].

Si se relacionan los resultados obtenidos con respecto a la sierra sur del país, los porcentajes de infección resultan inferiores pero importantes como en Puno, donde los porcentajes de distomatosis bovina reportados en el camal municipal fueron de 15 y 18 %; en Cusco se reportan 43 % y en Apurímac, 42 % [23, 26].

La resistencia encontrada y observada de estos morfotipos donde se evaluó la resistencia preliminar frente a miracidio en condiciones de laboratorio fue de 5 % en el género *Lymnaea*, la que se puede extrapolar a condiciones de campo teniendo en cuenta las observaciones realizadas en cuanto a adaptabilidad, densidad poblacional, adaptabilidad y sobrevivencia durante la época de del año y la carga parasitaria se puede tener como control alternativo al control químico inadecuado causante del fenómeno de resistencia de *F. hepatica*.

CONCLUSIONES

El método de crianza 1 favorece la fecundidad de caracoles y viabilidad de ovisacos con relación al método 2. Por otro lado, se concluye que existe alta densidad de caracoles durante época de

lluvia (febrero-marzo) con relación a la época seca (julio-agosto) coincidiendo con la carga parasitaria (hgh), con un 5 % de morfotipos resistentes a formas infectivas (miracidio) de *F. hepatica* en condiciones de laboratorio. Considerando que la resistencia de los caracoles a *F. hepatica* se asocia a la longitud y abertura del caracol, pigmentación del manto y conducta de ovoposición.

AGRADECIMIENTO

El presente experimento fue realizado por investigadores del Programa Nacional de Bovinos de la Estación Experimental Baños del Inca – INIA; con financiamiento del Consejo Regional de Ciencia y Tecnología – CORECITI, del Gobierno Regional de Cajamarca.

Conflicto de interés

Los autores declaran, que no existen conflicto de interés en el presente trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Solana MV, Mera-Sierra R, Scarcella S, Neira G, Solana HD. *In vivo* assessment of closantel ovicidal activity in *Fasciola hepatica* eggs. *Experim. Parasitol.* [Internet]. 2016; 160:49–53. doi: <https://doi.org/k4jm>
- [2] Beesley NJ, Caminade C, Charlier J, Flynn RJ, Hodgkinson JE., Martínez-Moreno A, Martínez-Valladares M, Perez J, Rinaldi L, Williams DJL. *Fasciola* and fasciolosis in ruminants in Europe: Identifying research needs. *Transb. Emerg. Dis.* [Internet]. 2018; 65:199–216. doi: <https://doi.org/gb2qqd>
- [3] Cwiklinski K, O'Neill SM, Donnelly S, Dalton JPA. Prospective view of animal and human Fasciolosis. *Parasite Immunol.* [Internet]. 2016; 38(9):558–568. doi: <https://doi.org/gqc57n>
- [4] Zerna G, Spithill TW, Beddoe T. Current Status for Controlling the Overlooked Caprine Fasciolosis. *Anim.* [Internet]. 2021; 11(6):1819. doi: <https://doi.org/k4jn>
- [5] Palacio-Collado D, Bertot-Valdés JA, Beltrao-Molento M. Fasciolosis en Cuba y el mundo. *Rev. Prod. Anim.* [Internet] 2020 [Consultado 20 May 2023]; 32(3):e3658. Disponible en: <https://bit.ly/3Or5kva>
- [6] Hodgkinson JE, Cwiklinski K, Beesley N, Hartley C, Allen K, Williams DJL. Clonal amplification of *Fasciola hepatica* in *Galba truncatula*: Within and between isolate variation of triclabendazole-susceptible and-resistant clones. *Parasit. Vectors.* [Internet]. 2018; 11(1):1–9. doi: <https://doi.org/k4j7>
- [7] Amanda CV, Lilian SR, Carlos AD, Francisco SA. Resistance to anthelmintics and prevalence of bovine fasciolosis in dairy farms in jauja, Peru. *Rev. Investig. Vet. Peru.* 2012; 23(1):90–97.
- [8] Beesley NJ, Cwiklinski K, Allen K, Hoyle RC, Spithill TW, James La Course E, Williams DJL, Paterson S, Hodgkinson JE. A major locus confers triclabendazole resistance in *Fasciola hepatica* and shows dominant inheritance. *PLoS Pathog.* [Internet]. 2023; 19(1):1–28. doi: <https://doi.org/k4j8>

- [9] López-Villacís IC, Artieda-Rojas JR, Mera-Andrade RI, Muñoz-Espinoza MS, Rivera-Guerra VE, Cuadrado-Guevara AC, Zurita-Vásquez JH, Montero-Recalde MA. *Fasciola hepática*: aspectos relevantes en la salud animal. J. the Selva Andina Anim. Sci. [Internet]. 2017; 4(2):137-146. doi: <https://doi.org/k4j9>
- [10] Brockwell YM, Elliott TP, Anderson GR, Stanton R, Spithill TW, Sangster NC. Confirmation of *Fasciola hepatica* resistant to triclabendazole in naturally infected Australian beef and dairy cattle. Intern. J. Parasitol: Drugs Drug Resist. [Internet]. 2021; 4(1):48-54. doi: <https://doi.org/htj8>
- [11] Hickman Jr. CP, Roberts LS, Hickman FM. Zoología Principios Integrales. México: Editorial Interamericana. 1986; p. 204-237.
- [12] Urquhart GM, Armour J, Duncan JC, Dunn A.M. Parasitología Veterinaria. Zaragoza, España: Editorial Acribia. 2001; p. 116-127
- [13] Soulsby EJ. Parasitología y Enfermedades en los animales domésticos. México: Editorial Interamericana. 1987; 823 p.
- [14] Alba A, Vázquez AA, Sánchez J, Lounnas M, Pointier JP, Hurtrez-Boussès S, Gourbal B. Patterns of distribution, population genetics and ecological requirements of field-occurring resistant and susceptible *Pseudosuccinea columella* snails to *Fasciola hepatica* in Cuba. Sci. Rep. [Internet]. 2019; 9(1):14359. doi: <https://doi.org/k4kb>
- [15] Alba A, Tetrau G, Chaparro C, Sánchez J, Vázquez AA, Gourbal B. Natural resistance to *Fasciola hepatica* (Trematoda) in *Pseudosuccinea columella* snails: A review from literature and insights from comparative "omic" analyses. Dev. Comp. Immunol. [Internet]. 2019; 101:103463. doi: <https://doi.org/gmx48b>
- [16] De NV, Le TH, Agramunt VH, Mas-Coma S. Early Postnatal and Preschool-Age Infection by *Fasciola* spp.: Report of Five Cases from Vietnam and Worldwide Review. Ame. J. Trop. Med. Hyg. [Internet]. 2020; 103(4):1578-1589. doi: <https://doi.org/ghxpc9>
- [17] Dreyfuss G, Rondelaud D, Vareille-Morel C. Oviposition of *Lymnaea truncatula* infected by *Fasciola hepatica* under experimental conditions. Parasitol. Res. 1999; 85:589-593
- [18] Bardales-Valdivia JN. Caracterización molecular y estudio ecológico del entorno de los moluscos hospederos intermediarios de *Fasciola hepatica* en las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba - Perú. [tesis doctoral en Internet]. Perú: Universidad Nacional de Cajamarca; 2017 [consultado 25 May 2023]; 135 p. Disponible en: <https://bit.ly/30TCh56>.
- [19] Statistical Analysis System Institute (SAS). User's Guide Statistic. Release 9.4. Cary, NC, USA: SAS Institute. 2013; 646 p.
- [20] Pereira De SC, Magalhaes KG: Rearing of *Lymnaea columella* (Say, 1817), intermediate host of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758). Mem. Inst. Oswaldo Cruz. [Internet]. 2000; 95(5):739-741. doi: <https://doi.org/d8vnws>
- [21] Vallena R. Prevalencia de fasciolosis en animales beneficiados en el camal municipal de Cajamarca. [tesis de grado]. Perú: Universidad Nacional de Cajamarca; 1986; 70 p.
- [22] Díaz E, Rojas J. Helminthosis que causan pérdidas económicas por decomisos en animales beneficiados en el camal de Cajamarca. En: Libro Resumen XXVII Reunión científica APPA. 20-24 de septiembre de 2004, Piura, Perú. 2004; p. 150.
- [23] Cuadros-Medina S, Manrique-Meza J. Fasciolosis: Buscando Estrategias de Control. Arequipa, Perú: Editorial Universidad Católica de Santa María. 2002; 126 p.
- [24] Ministerio de Salud. Anales de Seminario Internacional de Zoonosis y Enfermedades de Transmisión Alimentaria. Programa Nacional de Zoonosis. Ministerio de Salud. Lima, Perú. 1989; 90 p.
- [25] Lapage G. Parasitología Veterinaria. México: Editorial Continental. 1983; 790 p.
- [26] Vilca F. Fasciolosis en bovinos beneficiados en el camal municipal de Puno mediante dos métodos de diagnóstico. Puno, Perú: Oficina Unidad de Investigación, UNA. 2000; 3 p.