

.UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



**Caracterización morfométrica e
histológica de los parásitos trematodos
hallados en el rumen de los bovinos
beneficiados en el Camal Municipal de
San Marcos – Cajamarca**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

Presentada por

EMELY ANABEL HERRERA CABANILLAS

Asesores

Dr. TEÓFILO SEVERINO TORREL PAJARES

M.Cs. CRISTIAN ÁNGEL HOBÁN VERGARA

Cajamarca – Perú

2023

COPYRIGHT © 2023 por
EMELY ANABEL HERRERA CABANILLAS
Todos los derechos reservados



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
NORTE DE LA UNIVERSIDAD PERUANA
Licenciada el 13 de julio del 2018, Resolución N° 080-
2018-SUNEDU/CD

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN

Av. Atahualpa 1050–Ciudad Universitaria Edificio 2F205



CERTIFICADO DE ORIGINALIDAD

EL QUE SUSCRIBE DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA.

CERTIFICA:

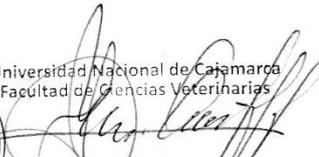
Que, la tesis titulada: “**Caracterización Morfométrica e Histológica de los parásitos Trematodos hallados en el Rumen de los Bovinos beneficiados en el Camal Municipal de San Marcos-Cajamarca**”, corresponde a la Autoría de la Bachiller en Medicina Veterinaria, **Emely Anabel Herrera Cabanillas**, en base al reporte de **ORIGINALIDAD**, como puede corroborarse en el documento de información analizado por el **Software Antiplagio-URKUND**, bajo el código D172060295, el cual arroja 6% de coincidencias, al amparo del numeral 9, inciso 904 de la directiva N° 01-2020-VRI-UNC, aprobado con Resolución de Consejo Universitario N° 0937-2020-UNC de fecha 25 de junio del 2020.

Cajamarca, 18 de julio del 2023

Atentamente.



Universidad Nacional de Cajamarca
Facultad de Ciencias Veterinarias


Dr. Wilder Quispe Uzcátegui
Director de la Unidad de Investigación



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
NORTE DE LA UNIVERSIDAD PERUANA
Fundada Por Ley N°14015 del 13 de febrero de 1962
UNIVERSIDAD LICENCIADA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
DECANATO

Av. Atahualpa 1050 – Ciudad Universitaria Edificio 2F – 205 Fono 076 365852



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Cajamarca, siendo las doce horas del día veinte de julio del dos mil veintitrés, se reunieron en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Veterinarias “**Cesar Bazán Vásquez**” de la Universidad Nacional de Cajamarca, los integrantes del Jurado Calificador, designados por el Consejo de Facultad de Ciencias Veterinarias, con el objeto de evaluar la sustentación de la tesis titulada “**CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA E HISTOLÓGICA DE LOS PARÁSITOS TREMATODOS HALLADOS EN EL RUMEN DE LOS BOVINOS BENEFICIADOS EN EL CAMAL MUNICIPAL DE SAN MARCOS - CAJAMARCA**”, presentada por la Bachiller de Medicina Veterinaria **EMELY ANABEL HERRERA CABANILLAS** y asesorada por los docentes Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares y el M.Sc. Cristian Ángel Hobán Vergara.

Acto seguido el Presidente del Jurado procedió a dar por iniciada la sustentación, y para los efectos del caso invitó a la sustentante a exponer su trabajo.

Concluida la exposición de la tesis, los miembros del Jurado Calificador formularon las preguntas que consideraron convenientes, relacionadas con el trabajo presentado; asimismo, el Presidente invitó al público asistente a formular preguntas concernientes al tema.

Después de realizar la calificación de acuerdo a las pautas de evaluación señaladas en el Reglamento de Tesis, el Jurado Calificador acordó: **APROBAR** la sustentación de tesis para optar por el Título Profesional de **MÉDICO VETERINARIO**, con el Calificativo de **DIECISIETE 17**).

Siendo las trece horas con cinco minutos del mismo día, el Presidente del Jurado Calificador dio por concluido el proceso de sustentación.


Dr. ABEL MELCHOR GARCÍA BAZÁN
PRÉSIDENTE


Dr. JOSÉ FERNANDO CORONADO LEÓN
SECRETARIO


DR. JUAN DE DIOS ROJAS MONCADA
VOCAL


Dr. TEÓFILO SEVERINO TORREL PAJARES
ASESOR


M.Sc. CRISTIAN ÁNGEL HOBÁN VERGARA
ASESOR

Dedicatoria

Con mucha devoción el presente trabajo se lo dedico a Dios; por brindarme la vida, la fe y la perseverancia en el cumplimiento de mis metas. A mi madre, Carmela Cabanillas Guevara por sus constantes esfuerzos en mi formación profesional, por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía, de no temer a las adversidades. A mi hermano, Juan Carlos, por su cariño y el apoyo moral en todo momento. Y en general, a todos mis amigos y amigas por su apoyo incondicional.

Emely A. Herrera Cabanillas

Agradecimientos

A la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, por haberme brindado la formación profesional y a todos los docentes que se preocuparon por obsequiarme sus conocimientos y sabios consejos.

A mis asesores, Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares y M.Cs. Cristian Ángel Hobán Vergara, quienes me brindaron la oportunidad de recurrir a sus capacidades y conocimientos científicos, y su apoyo desinteresado en el asesoramiento del presente trabajo de investigación.

A mis amigos y compañeros de nuestra Facultad.

Emely A. Herrera Cabanillas

Índice general

<i>Dedicatoria</i> _____	<i>i</i>
<i>Agradecimiento</i> _____	<i>ii</i>
<i>Índice general</i> _____	<i>iii</i>
INTRODUCCIÓN _____	1
MARCO TEÓRICO _____	2
1.1. Antecedentes de la investigación _____	2
1.2. Bases teóricas _____	8
1.3. Definición de términos básicos _____	16
MARCO METODOLÓGICO _____	18
1.4. Ubicación geográfica _____	18
1.5. Diseño de la investigación _____	19
1.6. Métodos de investigación _____	21
1.7. Población, muestra y unidad de análisis _____	22
1.8. Técnicas e instrumentos de recolección de información _____	22
1.9. Técnicas para el procesamiento y análisis de la información _____	22
1.10. Equipos y materiales _____	23
RESULTADOS Y DISCUSIÓN _____	25
1.11. Presentación de resultados _____	25
1.12. Análisis, interpretación y discusión de resultados _____	32
1.13. Contrastación de hipótesis _____	37
CONCLUSIONES _____	38
SUGERENCIAS _____	39
REFERENCIAS _____	40

Índice de tablas

Tabla 1. Medidas de los parásitos y huevos de los trematodos adultos en fresco colectados de los bovinos beneficiados en el Camal Municipal de San Marcos, Cajamarca, 2022.	25
Tabla 2. Medidas de las estructuras internas de los parásitos del rumen de los bovinos beneficiados en el Camal Municipal de San Marcos, Cajamarca.	28

Índice de figuras

Figura 1. Vista sagital de <i>Calicophoron microbothrioides</i>	11
Figura 2. Medidas y observación de paramphistomidos en fresco	26
Figura 3. Huevos de paramphistomidos	26
Figura 4. Caja de bigotes de largo y ancho del acetábulo del parásito	29
Figura 5. Caja de bigotes de las fibras del acetábulo del parásito	29
Figura 6. Corte histológico de la sección medial del parásito	31
Figura 7. Corte histológico de las fibras del acetábulo del parásito	31
Figura 8. Corte histológico de las medidas del acetábulo del parásito	31
Figura 9. Corte histológico de la boca del parásito	31

Resumen

La observación de parásitos trematodos en el rumen es frecuente en los bovinos beneficiados en los diferentes centros de sacrificio de la región de Cajamarca. El presente estudio se realizó con el objetivo de caracterizar e identificar a los parásitos trematodos hallados en la pared ruminal de los bovinos beneficios en el Camal Municipal de San Marcos – Cajamarca. Se escogieron 230 parásitos adultos adheridos a las papilas del rumen de los bovinos beneficiados los que se observaron en estereoscopio a 2X. Con el método de Dinnik se incubaron parásitos adultos para obtener huevos. Adicionalmente se escogieron 50 parásitos adultos y se incluyeron en parafina para los cortes histológicos y tinción con hematoxilina-eosina. Los parásitos adultos en fresco tuvieron $5,09 \pm 2,50$ mm de largo y $2,50 \pm 0,72$ mm de ancho. Los huevos midieron $114,18 \pm 0,99$ μ m de largo y $70,14 \pm 1,15$ μ m de ancho. El acetábulo dio un promedio de $1,798 \pm 0,029$ mm de largo y $1,251 \pm 0,016$ mm de ancho. La faringe mostró un valor promedio de $0,400 \pm 0,000$ mm de largo y $0,425 \pm 0,002$ mm de ancho. El esófago se determinó en $0,364 \pm 0,005$ mm de largo. Según las características morfométricas e histológicas del parásito trematodo hallado en la pared ruminal de los bovinos beneficiados en el Camal Municipal de San Marcos - Cajamarca, se concluye que, el trematodo pertenece a la Familia Paramphistomidae y al género *Calicophoron*.

Palabras clave: identificación morfológica, histología, trematodo ruminal, pared ruminal, bovinos beneficiados.

Abstract

The observation of trematode parasites in the rumen is common in cattle slaughtered at various slaughter centers in the Cajamarca region. This study aimed to characterize and identify the trematode parasites found in the rumen wall of cattle slaughtered at the Camal Municipal of San Marcos - Cajamarca. A total of 230 adult parasites adhered to the rumen papillae of the bovine subjects were selected and observed under stereoscopy at 2X magnification. Dinnik's method was used to incubate the adult parasites for egg extraction. Additionally, 50 adult parasites were selected and embedded in kerosene for histological sections stained with hematoxylin-eosin. The fresh adult parasites measured 5.09 ± 2.50 mm in length and 2.50 ± 0.72 mm in width. The eggs had measurements of 114.18 ± 0.99 μm in length and 70.14 ± 1.15 μm in width. The acetabulum had an average length of 1.798 ± 0.029 mm and a width of 1.251 ± 0.016 mm. The pharynx showed an average length of 0.400 ± 0.000 mm and a width of 0.425 ± 0.002 mm. The esophagus was determined to be 0.364 ± 0.005 mm long. Based on the morphometric and histological characteristics of the trematode parasite found in the rumen wall of cattle slaughtered at the Camal Municipal of San Marcos - Cajamarca, it can be concluded that the trematode belongs to the family Paramphistomidae and the genus *Calicophoron*.

Keywords: morphological identification, histology, rumen trematode, rumen wall, cattle that have benefited.

INTRODUCCIÓN

Los animales en crianza extensiva son los más susceptibles a la infección por parásitos (1). En el valle de Cajamarca se ha identificado a *Calicophoron microbothrioides* como causante de paramphistomosis en los vacunos (2). Sin embargo, no se han realizado estudios en otras provincias de la región Cajamarca. No se reportan estudios que determinen con precisión la familia, género y especie del trematodo ruminal que afecta a los bovinos de la provincia de San Marcos, por esta razón es importante establecer los datos taxonómicos que faltan precisar, pudiendo lograrlo mediante estudio morfométrico e histológico.

Los trematodos Paramphistomidae están distribuidos alrededor de todo el mundo, principalmente en zonas tropicales o subtropicales. En un estudio realizado en el 2006 en los camales de Los Baños del Inca y Cajamarca, mediante observación directa se halló una prevalencia de 10,86% de paramphistomidos en rumen de 138 vacunos beneficiados (3).

Por la ausencia de estudios e información detallada en diversos lugares, el presente estudio se enfoca en un lugar específico dentro de la región Cajamarca, teniendo como objetivo, caracterizar e identificar a los parásitos trematodos hallados en la pared ruminal de los bovinos beneficiados en el Camal Municipal de San Marcos – Cajamarca, se planteó la hipótesis: las características morfométricas e histológicas de los parásitos trematodos hallados en la pared ruminal de los bovinos beneficiados en el Camal Municipal de San Marcos, Cajamarca, indican que el parásito pertenece a la Familia Paramphistomidae y al género *Calicophoron*.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes de la investigación

1.1.1. Internacionales

Eduardo (4) en su trabajo “The taxonomy of the family Paramphistomidae Fiscoeder, 1901 with special reference to the morphology of species occurring in ruminants. II. Revision of the genus Paramphistomum Fiscoeder, 1901”, establece algunas dimensiones de *Calicophoron microbothrium* en bovinos: cuerpo cónico de 3,80 a 12,50 mm de largo por 1,60 a 4,20 mm de ancho, más amplia en la dirección dorso ventral; superficie con gran cúpula, papilas densamente dispuestas alrededor de la apertura oral y que se extiende ventralmente hasta aproximadamente mediados del cuerpo. El acetábulo subterminal con un diámetro exterior de 1,14 a 2,60 mm en el dorso dirección ventral, el número de unidades musculares: dorsal circular externa 1 (DEC1) de 11 a 18, dorsal circular externa 2 (DEC2) de 26 a 42, dorsal circular interna (DIC) de 34 a 56, ventral circular externa (VEC) de 13 a 20, ventral circular interna (VIC) de 40 a 61, media circular externa (MEC) de 10 a 15. La faringe posee forma de pera, amplio posteriormente y estrecho hacia delante con 0,47 mm a 1,38 mm de largo. El esófago con 0,47 mm a 0,85 mm de largo, casi en línea recta, la musculatura moderada y uniforme de espesor, sin bombilla o posterior del esfínter, lumen recubierto por hialina, ciegos en los lados laterales del cuerpo, formando dorso ventral, hasta alcanzar el nivel de acetábulo.

Alarcón y Velásquez (5) en la investigación “Descripción morfológica de *Cotylophoron calicophorum* (Digenea: Paramphistomidae) hallado en bovinos de Rionegro, Antioquia, Colombia”, concluye que los digeneos tienen un cuerpo grueso, cónico, y curvado ventralmente. Cuando están vivos presentan color rojizo, siendo más intenso en los extremos del cuerpo. Miden de 6,21 mm (5,58 a 7,31) de largo por 2,08 mm (2,01 a 2,19) de ancho. La faringe es de tipo *Calicophoron*, mide 0,47 mm (0,23 a 0,62) de largo por 0,56 mm (0,43 a 0,73) de ancho. El esófago mide 0,74 mm (0,70 a 0,80) de largo por 0,24 mm (0,20 a 0,30) de ancho, ciegos intestinales laterales, sinuosos, formando cerca de cinco curvaturas dorso ventrales que terminan a nivel del acetábulo, dirigidos dorsalmente. El acetábulo mide 1,44 mm (1,10 a 1,60) de largo por 1,45 mm (1,35 a 1,80) de ancho. Con 7 a 14 unidades musculares en la DEC, 13 a 17 unidades musculares en la VEC, 41 unidades musculares en la DIC, 45 a 54 unidades musculares en la VIC y 14 unidades musculares en la MEC. Los huevos presentan forma ovoide y coloración grisácea, miden de 115,40 a 141,30 μm de largo por 67,70 a 75,6 μm de ancho.

Do Amaral *et al.* (6), analizó a 10 especímenes adultos del rumen de búfalos de agua y observó parásitos de cuerpo en forma de pera, liso, ligeramente recurvado en sentido ventral, que mide 6,30 (3,42 – 7,54) \times 2,98 (2,62 – 3,42) mm, anchura máxima hasta el nivel de los testículos. Ventosa oral, adornada con innumerables papilas ciliadas en la extremidad anterior del trematodo. Faringe con porción muscular bien definida y evidenciando papilas de tamaños variados en su mucosa, característica de la faringe del género *Liorchis*, midiendo 0,56 (0,43 – 0,65) \times 0,63 (0,33 – 0,80) mm. Esófago muscular de 0,58 (0,42 – 0,79) \times 0,68 (0,15 – 0,45)

mm, con estrías musculares en una capa uniformemente fina, bulbo ausente. Ciegos con ondulaciones, terminando al nivel del borde anterior del acetábulo. Acetábulo en la fracción posterior del cuerpo, subterminal adornado con numerosas papilas ciliadas en una disposición concéntrica bien desarrollada, mostrando bandas musculares transversales definidas, así como banda muscular oblicua externa, caracterizándolo como un acetábulo de *Cotylophoron*, midiendo $1,40 (0,74 - 1,77) \times 1,15 (0,43 - 1,67)$ mm. Ventosa genital, situada en la fracción anterior del cuerpo, las papilas genitales y la ventosa por debajo de la ventosa oral, con papila genital conspicua, característica de *Cotylophoron*, que mide $0,59 (0,43 - 0,78) \times 0,74 (0,46 - 1,66)$ mm. Testículos oblicuos, segmentados en lóbulos, más pequeños en relación con el ovario, situados en la fracción media del cuerpo, anteriores midiendo $0,38 (0,29 - 0,56) \times 0,39 (0,32 - 0,55)$, posteriores midiendo $0,36 (0,26 - 0,50) \times 0,42 (0,31 - 0,74)$ mm. Ovario situado después de los testículos en la fracción media del cuerpo con $0,76 (0,32 - 0,95) \times 0,49 (0,37 - 0,63)$ mm. Asas uterinas repletas de huevos ascendentes, situadas en la fracción media, en el centro del parásito. Glándula de Mehlis (Ootipo) de $0,46 (0,33 - 0,59) \times 0,38 (0,27 - 0,43)$ mm. Glándulas vitelogénicas, situadas en las partes laterales desde la fracción anterior hasta la posterior, a veces invaden la zona intracecal. Huevos operculados $0,130 (0,08 - 0,14) \times 0,05 (0,04 - 0,06)$ mm.

1.1.2. Nacionales

A nivel nacional son pocos los estudios que hayan caracterizado mediante morfometría a los trematodos del rumen en rumiantes. Un estudio realizado por Rojas (7) en bovino lechero de seis distritos de la provincia de Moyobamba (San Martín). Colectaron muestras de heces de 411 bovinos, se procesaron mediante

sedimentación natural y los huevos se identificaron por la forma ovoide, presencia de opérculo, cáscara estriada, color amarillo brillante, y medidas cercanas a 120 x 70 μm . Los resultados determinaron la presencia de huevos de *Cotylophoron sp* con una prevalencia de 55%.

Aranda (8), en el año 2017 realizó un estudio en el matadero particular de abastos “San Francisco” (Salaverry, Trujillo) con el objetivo de determinar la presencia de paramphistomosis bovina, así como su morfología y morfometría de los paramphistomideos. Se inspeccionaron rumen y retículo de 300 vacunos, de los cuales 20 (6,7%) fueron positivos. Dieciocho de los animales positivos provenían de las provincias de Cajamarca, un animal positivo fue de Paiján y el último de Chao. Para el examen morfométrico interno se tomaron 30 adultos frescos y se colocaron con hematoxilina de Delafield y luego se montaron con Bálsamo de Canadá. El esófago midió 332,3 μm de largo por 211,5 μm de ancho, la ventosa oral 264,2 μm de diámetro, el poro genital 86,2 μm de diámetro, el ovario 112,2 μm de diámetro, el testículo anterior 83,5 μm x 65,0 μm , el testículo posterior 123,8 μm x 79,0 μm , el útero 437,6 μm de largo y acetábulo 115,2 μm de diámetro. Los hallazgos sugirieron que el parásito estudiado pertenecía a la familia Paramphistomidae, género *Calicophoron*, y especie *microbothrioides*.

Cueva-Rodríguez *et al.* (9), en el año 2017 realizaron un estudio con el objetivo determinar las dimensiones morfológicas de paramphistomidos adultos recolectados del rumen de vacunos beneficiados en el Centro de Beneficio Municipal de Chachapoyas, Amazonas, Perú. Tomaron 40 parásitos adultos y se ovopositaron en el que se seleccionaron 30 huevos. Las observaciones correspondieron a un parásito adulto en estado fresco de color rojizo, con mayor

intensidad en los extremos anterior y posterior, además presentó cuerpo cónico y curvado ventralmente. Los parásitos midieron 8,85 mm de largo por 2,27 mm de ancho, la ventosa anterior midió 0,32 mm y la ventosa posterior 0,60 mm. Los huevos midieron 126,91 μm de largo por 63,7 μm de ancho. Los autores concluyeron que los valores obtenidos pertenecen a un parásito de la familia Paramphistomidae, compatibles con *Calicophoron microbothrioides*.

1.1.3. Regionales

Ortiz *et al.* (10), en el trabajo “*Calicophoron microbothrioides*: un agente causal de la Paramphistomosis en Cajamarca, Perú” realizado en el 2010, detalla que en Cajamarca (Perú) se reporta la infección por estos parásitos sin que se haya establecido el estatus taxonómico.

Posteriormente en el año 2012, Mendoza (11), realizó otro estudio con el objetivo de conocer las características morfométricas de los huevos y de los paramphistomidos adultos hallados en rumen de ovinos beneficiados en el Camal Municipal de Cajamarca. En el estudio morfométrico se determinó que los paramphistomidos adultos tuvieron un promedio de $3,58 \pm 0,7$ mm de largo, $1,36 \pm 0,3$ mm de ancho, $0,75 \pm 0,2$ mm de extremo anterior, $1,13 \pm 0,2$ mm de extremo posterior, $0,1 \pm 0,0$ mm de ventosa oral y $0,15 \pm 0,04$ mm de ventosa ventral. El promedio de los huevos de paramphistomidos fue $121,51 \pm 7,4$ μm de largo, $62,77 \pm 4$ μm de ancho, $40,13 \pm 5,6$ μm extremo anterior y $60,79 \pm 6,7$ μm extremo posterior. El promedio en corte histológico del acetábulo fue de $0,52 \pm 0,06$ mm de largo, $0,31 \pm 0,09$ mm de ancho, las fibras del acetábulo fueron 13 DEC, 25 DIC, 30 DEC, 14 VIC y 20 VEC, de la faringe tuvo un promedio de $0,48 \pm 0,02$

mm de largo y $0,51 \pm 0,06$ mm de ancho y el esófago tuvo un promedio de $0,34 \pm 0,01$ mm de largo y $0,26 \pm 0,006$ mm de ancho. En lámina directa los paramphistomidos midieron $5,45 \pm 0,44$ mm de largo, $3,8 \pm 0,58$ mm de ancho, $1,8 \pm 0,25$ mm de extremo anterior, $2,75 \pm 0,26$ mm de extremo posterior, $0,24 \pm 0,02$ mm de ventosa oral, $0,44 \pm 0,03$ mm de ventosa ventral. La morfología externa e interna del parásito adulto permitió determinarlo como género a *Calicophoron sp.*

Llanos (12), en el 2018 hizo otro estudio y su objetivo fue identificar mediante morfometría el género de paramphistomidos en ovinos beneficiados en el Camal Municipal de Cajabamba. Midió 100 parásitos adultos en fresco y luego realizó cortes histológicos. Adicionalmente midió 100 huevos a partir de los parásitos colectados. Los parásitos en fresco presentaron un color rojo cárnico, forma cónica no aplanada, cuerpo arqueado, una medida de $4,32 \pm 0,68$ mm de largo y $1,80 \pm 0,25$ mm de ancho, el extremo anterior fue $0,78 \pm 0,28$ mm y el posterior $1,31 \pm 0,29$ mm. Los huevos midieron $131,1 \pm 6,6$ μm de largo y $63,6 \pm 2,8$ μm de ancho. En la observación de los cortes histológicos el acetábulo alcanzó una medida de $0,47 \pm 0,11$ mm de largo y $0,46 \pm 0,10$ mm de ancho, sus unidades musculares presentaron en promedio 18 (DEC), 29 (DIC), 21 (MEC), 41 (VIC) y 14 (VEC). La faringe $0,42 \pm 0,09$ mm de largo y $0,33 \pm 0,06$ mm de ancho y el esófago $0,30 \pm 0,04$ mm de largo. El autor concluyó que el Paramphistomido observado en el rumen de ovinos sacrificados en el camal municipal de Cajabamba corresponde al género *Calicophoron*. También se ha reportado la presencia de huevos fecales de paramphistomidos en diversos lugares dentro de la región Cajamarca, aunque no se han hecho estudios de identificación

morfológica. Torrel *et al.* (13), en el 2011 en el valle de Cajamarca hallaron una prevalencia de $59 \pm 5\%$ a paramphistomidos de un total de 377 vacunos lecheros. Silva (14), halló una prevalencia de 53,16% a *Calicophoron microbothrioides* de un total de 380 vacunos en la zona de Huacariz, Cajamarca. En el mismo año 2017, Gallardo (15), reportó una prevalencia de 38,5% a paramphistomidos de un total de 296 vacunos en la zona de Tartar.

Además del valle de Cajamarca, en otros lugares dentro de la región se ha reportado la presencia de huevos de paramphistomidos. Saldaña (16), encontró una prevalencia de 17,9% a paramphistomidos de un total 352 vacunos en el distrito La Encañada en el año 2017. Cadenillas (17), observó una prevalencia de 5,79% a paramphistomidos de un total de 380 muestras en el distrito San Juan en el año 2017. En el mismo año, Alfaro (18), reportó una prevalencia de 15,9% a paramphistomidos de un total de 377 vacunos muestreados en la provincia de Celendín.

1.2. Bases teóricas

1.2.1. Taxonomía

Los trematodos ruminales tienen una amplia clasificación taxonómica. Según el Centro Nacional para la Información Biotecnológica (en inglés: National Center for Biotechnology Information [NCBI]), una rama de los Institutos Nacionales de Salud (en inglés: National Institute of Health [NIH]) de Los Estados Unidos, se clasifican de la siguiente manera (19):

- Reino: Animalia
- Phylum: Platyhelminthes
- Clase: Trematoda
- Subclase: Digenea
- Orden: Plagiorchiida
- Suborden: Pronocephalata
- Super familia: Paramphistomoidea
- Familia: Paramphistomidae
- Géneros y especies:
 - *Calicophoron calicophorum*
 - *Calicophoron clavula*
 - *Calicophoron daubneyi*
 - *Calicophoron microbothrioides*
 - *Calicophoron microbothrium*
 - *Calicophoron phillerouxi*
 - *Calicophoron raja*
 - *Calicophoron shillongensis*
 - *Calicophoron sukari*
 - *Cotylophoron cotylophorum*
 - *Cotylophoron marajoensis*
 - *Explanatum explanatum*
 - *Gastrodiscoides hominis*
 - *Gigantocotyle bathycotyle*
 - *Gigantocotyle formosana*
 - *Gigantocotyle gigantocotyle*
 - *Indosolenorchis hirudinaceus*
 - *Leiperocotyle meghalayensis*
 - *Nilocotyle praesphinctris*
 - *Orthocoelium dicranocoelium*
 - *Orthocoelium orthocoelium*
 - *Orthocoelium parvipapillatum*
 - *Orthocoelium streptocoelium*

- *Paramphistomum cervi*
- *Paramphistomum epiclitum*
- *Paramphistomum leydeni*
- *Stichorchis subtriquetrus*

1.2.2. Morfología

Característicamente los paramphistomidos adultos se caracterizan por ser de forma periforme (cilíndricos cónicos), con cuerpo carnoso, rojo claro a rosado y pueden ser de 2 a 5 mm de ancho y 1 cm de largo, variando según la especie, y presentan un color rojo claro a rosado (20, 22).

Presentan acetábulo muy desarrollado en posición terminal (ventosa ventral). La ventosa oral se muestra estrecha y se ubica en posición craneal. La cutícula no presenta espinas, en su lugar presenta papilas tegumentales. El poro genital se abre en la cara ventral sobre la línea media del tercio anterior (23, 24).

Mediante microscopía de parásitos adultos de *Calicophoron microbothrioides* se observaron estructuras internas que se muestran en las siguientes figuras (10, 24):

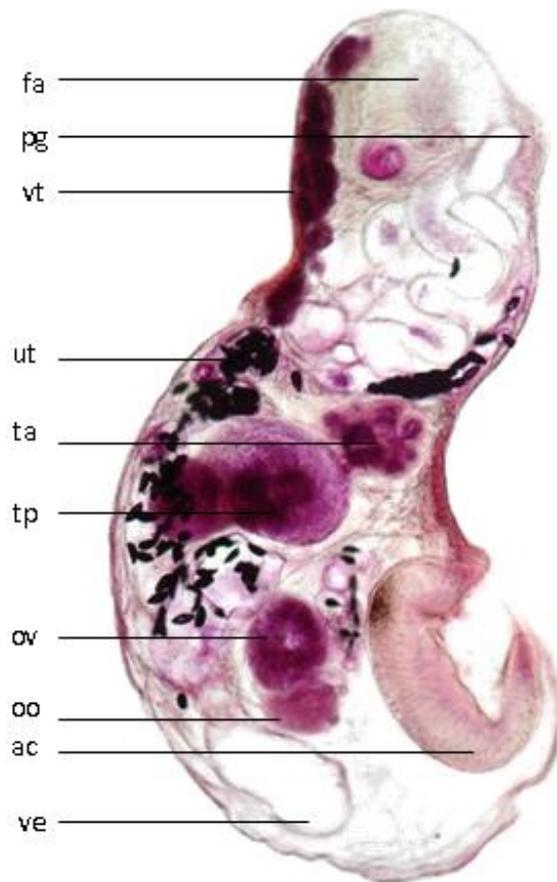


Figura 1. Vista sagital de *Calicophoron microbothrioides*. Faringe (fa), poro genital (pg), viterarios (vt), útero (ut), testículo anterior (ta), testículo posterior (tp), ovario (ov), ootipo (oo), acetábulo (ac), vesícula excretora (ve).

1.2.3. Ciclo biológico

El ciclo biológico es similar entre los géneros de los trematodos de la familia Paramphistomidae. Los huevos se eliminan junto a las heces del hospedador definitivo y se desarrollan en miracidio en el ambiente. Los miracidios nadan en el agua y penetran en el hospedador intermediario, caracoles pulmonados de los géneros *Lymnaea*, *Bulinus*, *Fossaria*, *Glyotanusis*, *Pseudosuccinea*, *Indoplanorbis*, *Norbis*, *Glyptanusis* y *Phygmanisus* (24).

Los miracidios se transforman en esporocistos (93 por 53 μm) que maduran en 11 días aproximadamente y pueden contener hasta ocho redias que se liberan y aumentan de tamaño al día 21 en el que pueden contener de 15 a 30 cercarias. Las cercarias se eliminan de las redias aun siendo inmaduras por lo que maduran dentro del caracol en un tiempo de 13 días a 27 °C (24).

La luz estimula la eliminación de las cercarias del caracol. Cuando se eliminan al ambiente son activas durante unas pocas horas y luego se enquistan completamente en un tiempo de 10 minutos en la materia orgánica o vegetación acuática. Una vez enquistados se denominan metacercarias (la forma infectiva), se oscurecen completamente y se mantienen viables por un tiempo aproximado de tres meses (24).

Cuando los animales ingieren las metacercarias junto a los vegetales o agua, estas se desenquistan en el duodeno y abomaso en los que se fijan y se alimentan por un tiempo promedio de seis semanas. Luego, migran hacia el omaso, retículo y rumen en los que alcanzan la madurez y comienzan a poner huevos que se expulsan en las heces (24).

1.2.4. Epidemiología

Los diversos géneros y especies de trematodos de la familia Paramphistomidae afectan a todo tipo de rumiante alrededor del mundo. En Europa se ha reportado en vacunos, caprinos, ovinos (25, 28). Este parásito también afecta a ciervos (29) e incluso a camélidos sudamericanos (30).

En el Este y Sur de África se ha demostrado una alta presencia de los géneros *Calicophoron*, *Carmyerius* y *Cotylophoron* en rumiantes domésticos (vacunos, caprinos y ovinos) y en rumiante salvajes (Ñu azul, búfalo, antílopes, órice, kudú, búfalo común, impala, kafue, nyala, gacela, etc.) (31).

Los países de América del Sur no han sido ajenos a la presencia del parásito. Diversos estudios reportan en Colombia (5), Brasil (6), Chile (32), Venezuela (33), Argentina (34), Uruguay (35).

En Perú también se ha observado la presencia de paramphistomidos en el ganado, principalmente en regiones del norte del país, como en San Martín (7), Loreto (36), Amazonas (9), La Libertad (8). En Cajamarca se ha reportado principalmente en vacunos y ovinos (24).

1.2.5. Patogenia

En caso de infecciones agudas, una gran cantidad de trematodos inmaduros migran a través del tracto intestinal causando gastroenteritis parasitaria aguda, especialmente en rumiantes jóvenes (21, 37).

Los parásitos adultos causan inflamación en el rumen, desprendimiento de las papilas ruminales y fibrosis, además, en el retículo generan áreas endurecidas carentes de rugosidad (38). Por ejemplo, *Paramphistomum ichikawai*, según el número de trematodos presentes, genera cambios desde enteritis localizada y atrofia de las vellosidades en el duodeno en infecciones leves hasta destrucción severa de la mucosa que se extiende a la mayor parte del yeyuno en infecciones graves. A medida que avanza la infección, los cambios se caracterizan por un

extenso engrosamiento y fibroplasia en la mucosa y la submucosa. También se observa daño severo a la mucosa del rumen en infecciones severas. Las infecciones intensas se asocian con una mayor infiltración de eosinófilos. Los mastocitos generalmente se agotan y los glóbulos de leucocitos solo aparecen después de que los trematodos abandonan el intestino delgado. La migración de los trematodos desde el intestino delgado se retrasa en las infecciones graves, lo que exagera el efecto de la infección (39).

1.2.6. Signos y síntomas

Los trematodos del rumen adultos no general signos o síntomas visibles en los animales. Únicamente se muestran signos clínicos en la fase de migración juvenil y además cuando la carga parasitaria es alta (40). Cuando la carga parasitaria en el rumen es alta, los animales disminuyen sus parámetros productivos debido a los cambios patológicos generados en el rumen (21,38).

En el caso de infección por *Calicophoron microbothrioides* las primeras manifestaciones clínicas se presentan a las dos semanas de infección y se traduce en diarrea fétida y profusa, disorexia, pérdida de peso, abundante ingesta de agua, disminución de la producción de leche en vacas en producción, hemorragia rectal en ciertos casos, mucosas pálidas, pelo erizado, edemas (hidropericardio, hidrotórax, edema submandibular, ascitis), atrofia muscular y en ocasiones la muerte (24).

1.2.7. Diagnóstico

En la actualidad no existe un método diagnóstico con alta sensibilidad y con aplicación práctica en el campo en animales vivos. Un diagnóstico transitorio de paramphistomosis se basa en la historia y signos clínicos de la enfermedad (41).

El método más usado es mediante la observación de huevos de los parásitos en las heces de los animales. Sin embargo, las diversas variantes de los métodos de observación de huevos fecales dan resultados erróneos por la baja sensibilidad de la prueba, infección con baja carga parasitaria o en periodo prepatente o pospatente de los trematodos (42, 43).

En algunos estudios el inmunodiagnóstico ha dado buenos resultados. Por ejemplo, se sugiere que en el diagnóstico de *P. cervi* la técnica de inmunotransferencia es la prueba de serodiagnóstico útil (41, 44). También la amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) en tira reactiva de flujo lateral (LFD) ha demostrado alta especificidad y un bajo límite de detección (sensibilidad) de trematodos. LAMP-LFD puede detectar un huevo de paramphistomido incluso en heces contaminadas a las que se les añade el huevo en condiciones de laboratorio (45).

1.2.8. Control y tratamiento

Las coinfecciones de la duela hepática (*Fasciola hepatica*) y las duelas del rumen pueden presentarse en ovejas y bovinos lo que ha generado confusión entre los ganaderos que usan productos inadecuados en el tratamiento de

paramphistomidos, pero el único fármaco con eficacia reportada contra la duela del rumen es la oxiclozanida que se usa desde 10 mg/kg hasta 20 mg/kg sin efectos adversos (46, 48).

1.3. Definición de términos básicos

Ciclo biológico: Fases por los que atraviesa un ser vivo a lo largo de su vida.

Control: Medidas y acciones para evitar la propagación o diseminación de los parásitos.

Diagnóstico diferencial: Procedimiento por el cual se identifica una determinada enfermedad mediante la exclusión de otras posibles causas que presenten un cuadro clínico semejante al que el paciente padece.

Diagnóstico: Proceso en el que se identifica una enfermedad, afección o lesión por sus signos y síntomas.

Epidemiología: Estudia el desarrollo epidémico y la incidencia de las enfermedades en la población.

Especie: Es el grupo de organismos que pueden reproducirse y producir descendencia fértil.

Familia: Es una unidad sistemática y una categoría taxonómica situada entre el orden y el género; o entre la superfamilia y la subfamilia si estuvieran descritas.

Fisiopatología: Estudia el funcionamiento de un organismo o de un tejido durante el curso de una enfermedad.

Género: Alude a una de las clasificaciones taxonómicas de los seres vivos, situada entre la familia y la especie.

Hospedadores intermediarios: Son aquellos en los que el parásito no alcanza la madurez sexual, albergan formas intermedias donde se multiplica asexualmente.

Lesiones: Injurias o daños generados en pared del rumen.

Morfometría: Estudio de la variación del tamaño y la forma de los organismos, de esta manera se midieron los trematodos del rumen.

Parásito: Organismo que vive sobre otra especie o en su interior. Cumple ciclos de vida directo o indirecto, incapaz de generar su propio alimento el cual substraer de su hospedador sin realizar simbiosis, generando a cambio daños a la salud de mencionado hospedador por las múltiples acciones patológicas que produce como: acción toxica, expoliatriz, mecánica y alérgica.

Prevalencia: Proporción de individuos de un grupo o una población, que presentan una característica o evento determinado.

Sintomatología: Conjunto de síntomas que son característicos de una enfermedad determinada o que se presentan en un enfermo.

Tratamiento: Conjunto de medios cuya finalidad es la curación o el alivio de las enfermedades o síntomas.

Encastrado: Consiste en infiltrar la muestra con sustancias líquidas que tras un proceso de polimerización o enfriamiento se solidifican, sin afectar a las características del tejido.

CAPÍTULO II

MARCO METODOLÓGICO

2.1. Ubicación geográfica

La colección de parásitos de la pared ruminal de los bovinos beneficiados se realizó en el Camal Municipal de San Marcos, ubicado en la provincia de San Marcos, región Cajamarca, Perú. Las características geográficas y meteorológicas de la Provincia de San Marcos son las siguientes (*):

-	Altitud	: 2 251 msnm
-	Latitud Sur	: 7° 10' 3''
-	Longitud Oeste	: 78° 29' 35''
-	Temperatura máxima promedio	: 22,9 °C
-	Temperatura mínima promedio	: 6,7 °C
-	Precipitación Promedio Anual	: 801 mm
-	Humedad Relativa Media Anual	: 68,92 %
-	Clima	: Templado seco

(*) Fuente: Datos convenio Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú, Cajamarca (2021)

2.2. Diseño de la investigación

- Se colectaron aleatoriamente 230 trematodos adultos localizados en el rumen únicamente, con el uso de una pinza anatómica, uniformidad de tamaño y se colocaron en tubos Falcon de 45 mL de capacidad con solución fisiológica salina 0,9% a 37 °C con la finalidad de mantenerlos vivos e incubarlos para su ovoposición.
- Dentro de una caja térmica y en un lapso de 2 horas se tuvieron a los parásitos en el Laboratorio de Parasitología Veterinaria y Enfermedades Parasitarias de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca.
- Características Morfométricas: Utilizando una regla milimétrica y un estereoscopio (2X), se tomaron medidas de largo y ancho de los parásitos en fresco y de sus huevos (factor de proporción 6,4).
- Culminada la medición morfológica externa, se tomaron 50 parásitos uniformes en tamaño y se colocaron con formol 10% para su inclusión en parafina, cortes histológicos y medición de endoestructuras (acetábulo, fibras del acetábulo, faringe y esófago).
- Mediante la técnica Inclusión en Parafina y tinción hematoxilina-eosina, la muestra se encastra pasando el molde a una pequeña zona fría del dispensador y con unas pinzas presionamos suavemente para que quede sujeta al molde. Los cortes histológicos se realizaron en laboratorio del hospital Regional de Cajamarca.
- Proceso de deshidratación: El procesamiento se realiza mediante baños sucesivos para acabar en una inclusión de parafina líquida.

- 2 baños de formol al 10%.
 - 1 baño de etanol 70°.
 - 1 baño de etanol 80°.
 - 1 baño de etanol 96°.
 - 3 baños de etanol 100°.
 - 2 baños de Xilol.
 - 2 baños de parafina líquida.
- Corte en Microtomo: Se introduce el bloque en el cabezal del microtomo y montamos la cuchilla de desbaste.
- Desparafinación e Hidratación:
 - Elimina la parafina del tejido: Xilol 10' y Xilol 10'.
 - Proceso descendente de hidratación: Alcohol 100° 5' y Alcohol 100° 5', Alcohol 96° 5' y Alcohol 70° 5', Agua 5'.
- Deshidratación y Aclaración:
 - Alcohol 96° 5', Alcohol 100° 5' y Alcohol 100° 5'.
 - Aclaración: Xilol 5' y Xilol 5'.
- Tinción: Se utilizó Hematoxilina – Eosina.
 - Hematoxilina 20'.
 - Lavado de muestra con agua.
 - Decolorar con Alcohol clorhídrico.
 - Lavado de muestra con agua 5' (rehidratación).
 - Eosina 10'.
- Montaje de muestra:
 - Se realiza sobre una superficie limpia, cubierta con papel del filtro depositando sobre el papel un cubreobjetos.
 - Se colocan sobre éste un par de gotas de medio montaje.
- Láminas histológicas:
 - Medición y observación de los cortes histológicos.

- Adicionalmente, para obtener huevos de los parásitos se siguió el protocolo de Dinnik modificado (49). Se seleccionaron 50 parásitos adultos uniformes en tamaño y cada uno se colocó en Tubos Falcon (45 mL de capacidad) con solución salina fisiológica 0,9% y se colocaron en una estufa a 38°C por un periodo de 4 horas. Se seleccionaron huevos de cada tubo, se observaron en microscopio a 10X con un ocular micrométrico de 10X y los valores se multiplicaron por el factor de corrección 6,4.
- La identificación del parásito y los huevos fecales se basó en las características morfológicas descritas por diversos autores en los diferentes géneros de trematodos de la familia Paramphistomidae, tales como los de Dube (20, 50, 51), Eduardo (4), Alarcón y Velásquez (5), López y Velásquez (52), Do Amaral *et al.* (6), Torrel y Paz (24) y Cueva-Rodríguez *et al.* (9).
- La medición y observación de los cortes histológicos se realizó con el uso del Software ImageJ (Wayne Rasband, National Institutes of Health, EE.UU. V. 1.8.0).

2.3. Métodos de investigación

La presencia/ausencia de los parásitos adultos en el rumen se constató mediante observación directa *in situ*. Las medidas de los parásitos en fresco se realizaron bajo estereoscopia óptica. Los huevos se observaron en microscopio óptico. La histología se llevó a cabo con la técnica de inclusión en parafina y la medición de los cortes histológicos fue con el Software ImageJ (Wayne Rasband,

National Institutes of Health, EE.UU. V. 1.8.0). Los valores obtenidos se ordenaron en hojas de cálculo.

1.4. Población, muestra y unidad de análisis

Población: Parásitos trematodos adultos de bovinos beneficiados en Camal Municipal de San Marcos, Cajamarca.

Muestra: Doscientos treinta (230) parásitos trematodos adultos.

Unidad de análisis: Un parásito trematodo adulto. Técnicas e instrumentos de recolección de información

La ubicación de los parásitos en rumen de los bovinos beneficiados se dio mediante observación macroscópica directa después de la apertura por parte del personal de trabajo del Camal Municipal de San Marcos.

Se usó estereoscopía para la medición y observaron de los parásitos adultos en fresco. Los huevos se observaron en microscopio óptico. La medida de las estructuras internas del parásito se realizó con el Software ImageJ (Wayne Rasband, National Institutes of Health, EE.UU. V. 1.8.0).

La histología se llevó a cabo siguiendo los pasos de la técnica de Inclusión en Parafina. Finalmente, los datos se ordenaron en hojas de Microsoft Excel 2016.

1.5. Técnicas para el procesamientos y análisis de la información

Tanto los valores morfométricos de los parásitos adultos en fresco como los valores histológicos de las estructuras internas se sometieron a una estadística

descriptiva. Los resultados se compararon y contrastaron con los estudios de otros autores para poder ubicar la familia y género del parásito.

1.6. Equipos y materiales

Equipos

- Horno
- Estereoscopio
- Microscopio
- Micrótopo

Materiales biológicos

- Doscientos treinta (230) parásitos ruminales adultos

Materiales de campo

- Mameluco
- Botas de jebe
- Guantes de látex
- Cuaderno de apuntes y fichas de trabajo
- Cámara fotográfica digital
- Frascos Falcon de 45 mL de capacidad
- Caja térmica y termo con agua caliente
- Termómetro ambiental
- Placas Petri de vidrio
- Solución de formol al 10%
- Solución fisiológica salina 0.9%

Materiales de laboratorio

- Mandil
- Guantes de látex
- Regla milimétrica

- Ocular micrométrico
- Láminas porta y cubre objetos
- Alcohol 70°
- Placas Petri
- Parafina
- Eosina – Hematoxilina

Software

- Imagen J.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Presentación de resultados

a. Medición externa de los parásitos en fresco y de sus huevos

Los parásitos adultos ruminales en fresco tuvieron una longitud promedio de $5,09 \pm 1,34$ mm y ancho de $2,50 \pm 0,72$ mm (Tabla 1, Figura 1). Los huevos mostraron una medida promedio de largo $114,18 \pm 6,38$ μm y de ancho $70,14 \pm 7,42$ μm (Tabla 1, Figura 2).

Tabla 1. Medidas de los parásitos y huevos de los trematodos adultos en fresco colectados de los bovinos beneficiados en el Camal Municipal de San Marcos, Cajamarca, 2022.

Estado	Cantidad	Parámetro	Largo	Ancho	Unidad
Parásito adulto en fresco	230	Promedio	5,09	2,50	mm
		Desviación estándar	1,34	0,72	
		Mínimo	2,00	1,00	
		Máximo	9,00	4,00	
Huevo	50	Promedio	114,18	70,14	μm
		Desviación estándar	0,99	1,15	
		Mínimo	102,40	57,60	
		Máximo	121,60	83,20	

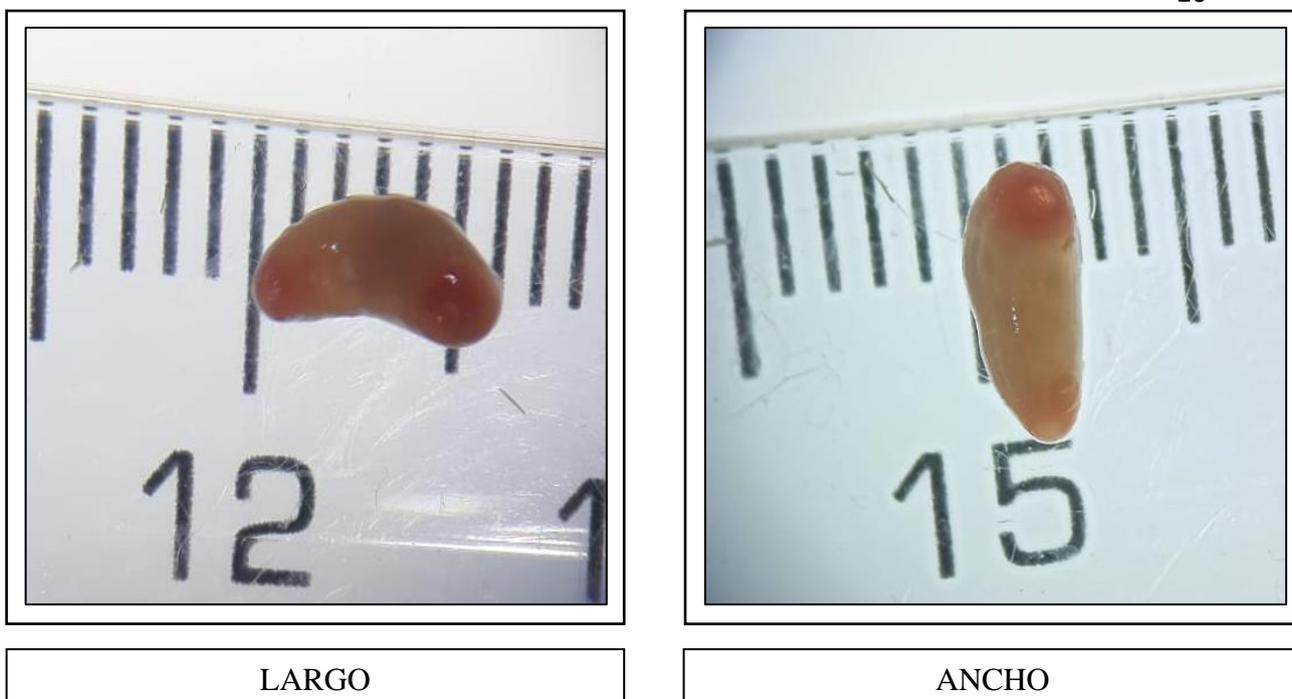


Figura 2. Medidas y observación de paramphistomidos en fresco, vista en estereoscopio a 20x. Izquierda: largo 6 cm. Derecha: ancho 2.5 cm.



Figura 3. Huevos de paramphistomidos con vista en microscopio ocular 10X, objetivo 10X. Obtenidos por incubación. Izquierda: Largo $20 \times 6,4 = 128 \mu\text{m}$. Derecha: Ancho: $10 \times 6,4 = 64 \mu\text{m}$.

b. Medición de las estructuras internas de los parásitos en fresco

Los cortes histológicos mostraron las medidas:

- Acetábulo de $1,798 \pm 0,029$ mm x $1,251 \pm 0,016$ mm.
- Las fibras del acetábulo:
 - UMCD $16,5 \pm 1,0$
 - UMCID $34,083 \pm 1,311$
 - UMCM $21,583 \pm 1,240$
 - VEC $16,250 \pm 0,965$
 - UMCIV $32,333 \pm 1,497$
- La faringe fue de $0,400 \pm 0,000$ mm x $0,425 \pm 0,002$ mm y en la sección media $0,117 \pm 0,002$ mm x $0,481 \pm 0,000$ mm.
- El esófago mostró una longitud de $0,364 \pm 0,005$ mm (Tabla 2 y Figuras 4 y 5). Los cortes histológicos se muestran en las Figuras 6 y 9.

Tabla 2. Medidas de las estructuras internas de los parásitos del rumen de los bovinos beneficiados en el Camal Municipal de San Marcos, Cajamarca.

N°	Acetábulo (mm)		Fibras del acetábulo					Faringe (mm)		Faringe mitad (mm)		Esófago (mm)
	Largo	Ancho	UMCD	UMCID	UMCM	VEC	UMCIV	Largo	Ancho	Largo	Ancho	Longitud
1	1,81	1,246	17	34	21	16	33	0,4	0,426	0,178	0,481	0.367
2	1,80	1,246	17	34	21	16	33	0,4	0,423	0,178	0,481	0.364
3	1,81	1,245	16	35	22	16	32	0,4	0,426	0,178	0,481	0.364
4	1,81	1,252	17	34	21	14	30	0,4	0,419	0,178	0,481	0.367
5	1,81	1,246	17	34	21	16	33	0,4	0,426	0,178	0,481	0.37
6	1,73	1,3	17	31	24	17	33	0,4	0,426	0,178	0,481	0.36
7	1,83	1,246	17	34	22	17	33	0,4	0,422	0,178	0,481	0.355
8	1,8	1,246	15	34	22	16	34	0,4	0,428	0,178	0,481	0.367
9	1,81	1,245	14	36	22	16	34	0,4	0,426	0,178	0,481	0.355
10	1,79	1,249	17	33	19	18	30	0,4	0,426	0,175	0,481	0.37
11	1,82	1,246	17	34	21	17	30	0,4	0,426	0,175	0,481	0.366
12	1,75	1,243	17	36	23	16	33	0,4	0,426	0,172	0,481	0.367
Promedio	1,798	1,251	16,500	34,083	21,583	16,250	32,333	0,400	0,425	0,177	0,481	0.364
DE	0,029	0,016	1,000	1,311	1,240	0,965	1,497	0,000	0,002	0,002	0,000	0.005
CV (%)	1,611	1,251	6,061	3,848	5,746	5,940	4,631	0,000	0,576	1,104	0,000	1.406

UMCD (DEC): Unidades Musculares Circulares Dorsales; UMCID: Unidades Musculares Circulares Interiores Dorsales; UMCM: Unidades Musculares Circulares Mediales; VEC: Unidades Musculares Circulares Exteriores Ventrales; UMCIV: Unidades Musculares Circulares Interiores Ventrales.

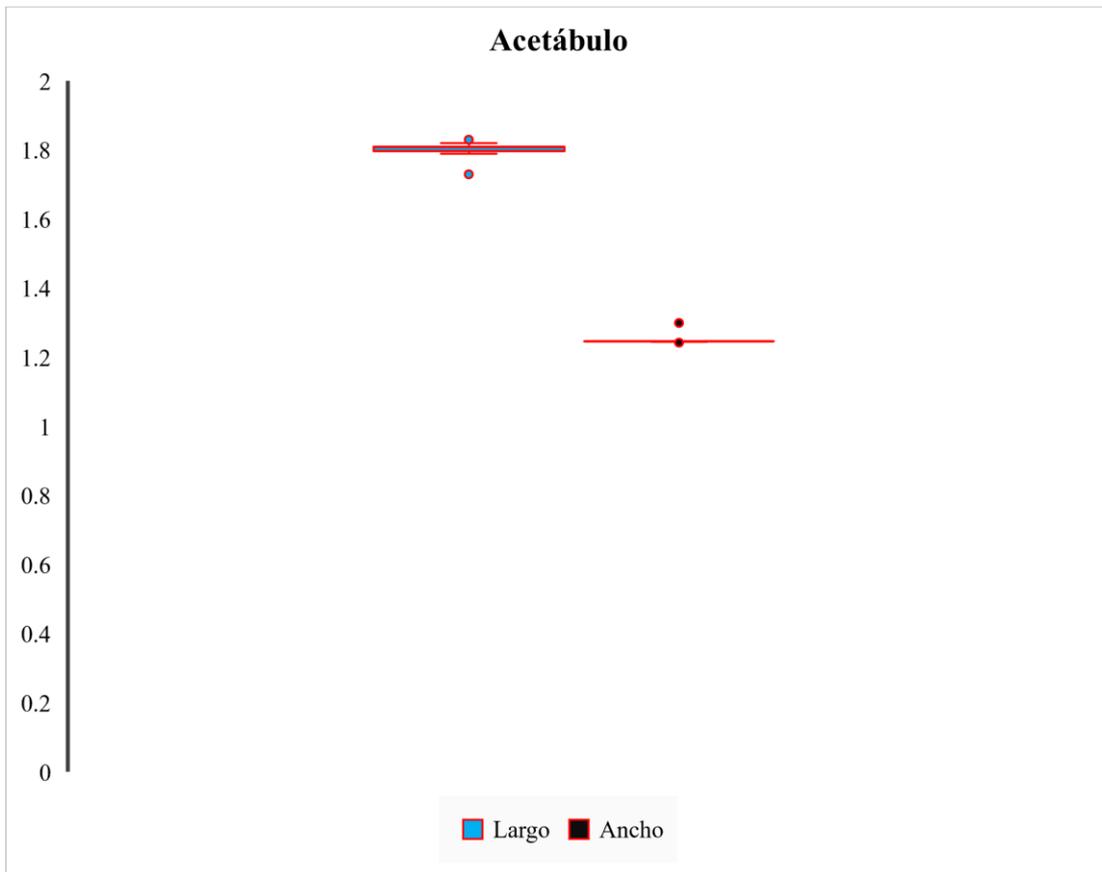


Figura 4. Caja de bigotes. Se muestran las desviaciones atípicas en las medidas de largo y ancho del acetábulo.

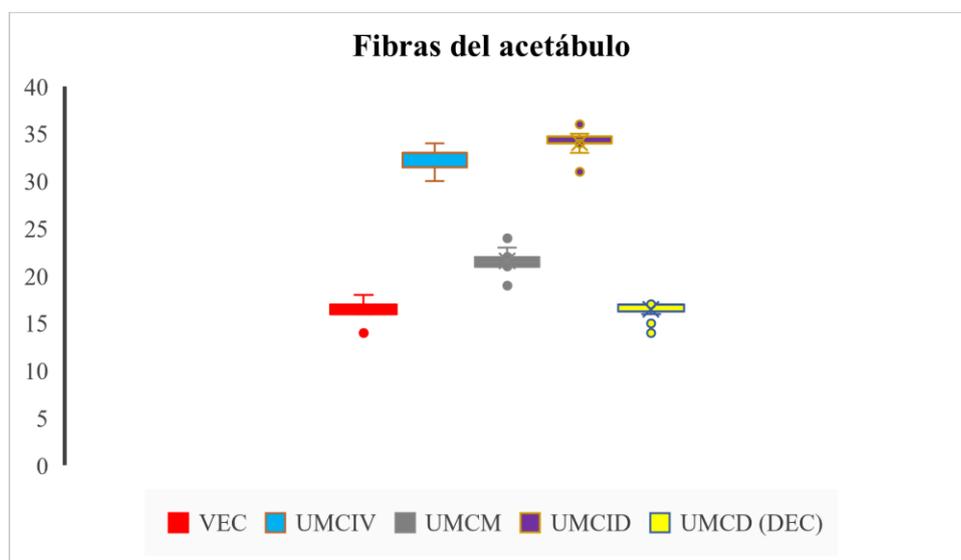


Figura 5. Caja de bigotes. Se muestran las desviaciones atípicas en las medidas de las fibras del acetábulo.

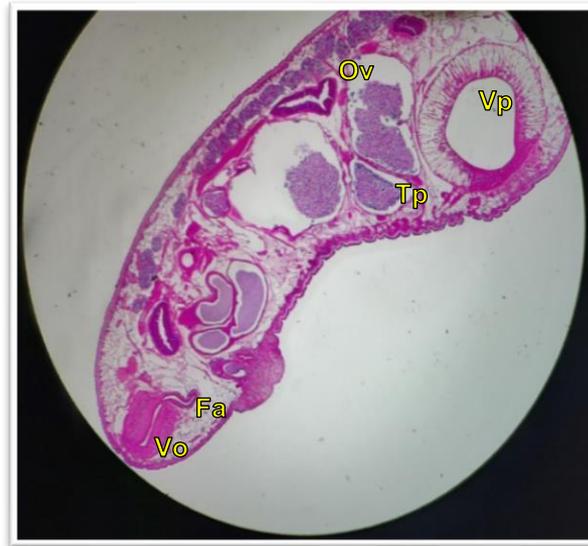


Figura 6. Corte histológico de la sección medial del parásito. Se muestra todo el cuerpo y órganos. Ventosa posterior (Vp), testículo posterior (Tp), ovario (Ov), faringe (Fa) y ventosa oral (Vo). Aumento 100X. Tinción: Hematoxilina-Eosina.

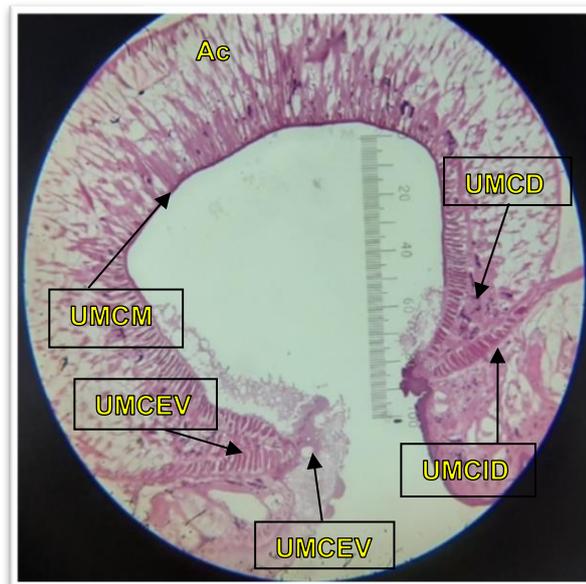


Figura 7. Corte histológico del parásito. Se observa el acetábulo (Ac). Además, la presencia de unidades musculares circulares dorsales (UMCD), unidades musculares circulares interiores dorsales (UMCID), unidades musculares circulares mediales (UMCM), unidades musculares circulares interiores ventrales (UMCIV) y unidades musculares circulares exteriores ventrales (UMCEV). Aumento: 400X. Escala: 1= 6.6 μ m. Tinción: Hematoxilina-Eosina.



Figura 8. Corte histológico del parásito. El largo del acetábulo es 1.78 mm y el ancho 1.25 mm. Aumento: 400X. Escala: 1 = 0.0066 mm. Tinción: Hematoxilina-Eosina.



Figura 9. Corte histológico del parásito en el que se observa longitudinalmente el tracto digestivo que muestra la boca (Bo), [ventosa anterior], faringe (F), esófago (E), tiene de longitud 0.364 mm y canal genital (G). El largo de la faringe es 0.400 mm de largo y el ancho 0.426 mm. Aumento: 400X. Escala: 1= 0.0066 μ m. Tinción: Hematoxilina-Eosina.

1.7. Análisis, interpretación y discusión de resultados

Los valores obtenidos se aproximan a diferentes géneros de la familia Paramphistomidae descritos en diversos estudios. Sin embargo, se debe tener en cuenta que, debido a la diversidad de las medidas entre los diferentes estudios, no se consideran como carácter decisivo en la determinación específica del parásito ya que estas variaciones están dadas por variables como técnicas de relajación, fijación, coloración y montaje, además de la variabilidad intraespecífica (52).

En este estudio las medidas de los parásitos adultos en fresco fueron $5,09 \pm 1,34$ mm largo x $2,50 \pm 0,72$ mm ancho, valores cercanos a los del género *Calicophoron*, estos datos son similares a los reportados por Cueva-Rodríguez *et al.* (9), quien indica que los trematodos *Calicophoron microbothrioides* en estado fresco se presentan con cuerpo cónico curvado ventralmente y miden 8,85 mm de largo por 2,27 mm de ancho; además muy similares en promedio de largo y ancho con lo mencionado por Mendoza (11), el cuerpo de *Calicophoron* mide en promedio de $5,45 \pm 0,44$ mm de largo, $3,8 \pm 0,58$ mm de ancho. Por su parte, Llanos (12), recalca que los parásitos *Calicophoron* en fresco presentaron, forma cónica no aplanada, cuerpo arqueado, una medida de $4,32 \pm 0,68$ mm de largo y $1,80 \pm 0,25$ mm de ancho. *Calicophoron microbothrium* mide 3,80 a 12,50 mm de largo por 1,60 a 4,20 mm de ancho, más amplia en la dirección dorso ventral (4).

Los trematodos del género *Cotylophoron* también se presentan, de cuerpo cónico y curvado ventralmente. Sin embargo, varían en sus medias.

Cotylophoron panamensis mide 6,63 a 8,84 mm de largo por 2,31 a 3,25 mm de ancho (52). *Cotylophoron calicophorum* mide 6,21 mm (5,58 a 7,31) de largo por 2,08 mm (2,01 a 2,19) de ancho (5). *Cotylophoron marajoensis* mide 6,30 mm (3,42 – 7,54) de longitud, por 2,98 (2,62 – 3,42) mm de anchura (6).

Las especies de *Cotylophoron* (*C. cotylophorum*, *C. fuelleborni*, *C. indicum*, *C. jacksoni*) en el ganado de Nigeria cuando están extendidos en lámina oscilan desde $10,2 \pm 0,75$ hasta $10,75 \pm 0,28$ mm de longitud y $2,68 \pm 0,15$ hasta $4,1 \pm 0,39$ mm de anchura (50).

Los huevos observados en el presente estudio midieron $114,18 \pm 0,99$ μm de longitud por $70,14 \pm 1,15$ μm de ancho, valores cercanos a los del género *Cotylophoron* y *Calicophoron*. En las diferentes especies de *Cotylophoron* evaluados por Dube *et al.* (50), hallaron que los huevos de *C. cotylophorum* midieron 59 μm de ancho por 102 μm de longitud. Los huevos de *C. indicum* midieron 63 μm de ancho por 199 μm de longitud. Otra especie, *C. jacksoni* midió 52 μm de ancho por 132 μm de longitud.

Alarcón y Velásquez (5) describen que los huevos de *Cotylophoron calicophorum* son ovoides, grisáceos y miden de 115,40 a 141,30 μm de largo por 67,70 a 75,6 μm de ancho. De manera similar, Do Amaral *et al.* (6), observó huevos de *Cotylophoron*, con 130 (0,08 – 0,14) μm de longitud por 50 (0,04 – 0,06) μm de anchura.

Cueva-Rodríguez *et al.* (9), determinó valores de 126,91 μm de largo por 63,7 μm de ancho en los huevos de *Calicophoron microbothrioides*. Según Mendoza (11), los huevos de los parásitos del género a *Calicophoron* miden

121,51 ± 7,4 µm de largo, 62,77 ± 4 µm de ancho. Llanos (12), halló valores similares, huevos que midieron 131,1 ± 6,6 µm de largo y 63,6 ± 2,8 µm de ancho.

Con respecto al corte histológico, la medida del acetábulo fue 1,798 ± 0,029 mm de largo x 1,251 ± 0,016 mm de ancho, estos valores difieren de los hallados por Mendoza (18), en paramphistomidos de ovinos en Cajamarca, con un promedio de 0,52 ± 0,06 mm de largo, 0,31 ± 0,09 mm de ancho, dimensiones que caracterizaron a *Calicophoron sp.*, pero coincidentes con los descritos por Eduardo (4), en las que el largo del acetábulo mide 1,13 – 1,81 mm, así también de manera similar lo reportado en Cajabamba, con medidas de 0,47 ± 0,11 mm de largo y 0,46 ± 0,10 mm de ancho del acetábulo (19). Otras especies como *Cotylophoron calicophorum* tienen un acetábulo de 1,44 mm (1,10 a 1,60) de largo por 1,45 mm (1,35 a 1,80) de ancho (12).

Los cortes histológicos las fibras del acetábulo: UMCD 16,5 ± 1,0, UMCID 34,083 ± 1,311, UMCM 21,583 ± 1,240, VEC 16,250 ± 0,965 y UMCIV 32,333 ± 1,497. La faringe fue de 0,400 ± 0,000 mm x 0,425 ± 0,002 mm y en la sección media 0,117 ± 0,002 mm x 0,481 ± 0,000 mm, medidas similares a lo reportado por Eduardo (4). El esófago mostró una longitud de 0,364 ± 0,005 mm., en el rango de lo reportado por Eduardo (4) con valores de 0,22 – 0,88 mm. Valores que se han reportado en *Calicophoron* aislados de ovinos en Cajamarca, en los que se observaron 13 DEC, 25 DIC, 30 DEC, 14 VIC y 20 VEC (18). De manera similar, en *Calicophoron* de Cajabamba se observaron en promedio 18 (DEC), 29 (DIC), 21 (MEC), 41 (VIC) y 14 (VEC) (19).

Otros parásitos de la misma familia como *Cotylophoron panamensis* contiene de 9-17 unidades musculares en la capa dorsal circular externa (DEC), 2-15 unidades musculares en la capa ventral circular externa (VEC), 21-41 unidades musculares en la capa interna dorsal circular (DIC), 22-45 unidades musculares en la capa ventral circular interna (VIC) y 25 unidades musculares en la capa media circular externa (MEC) (52).

Calicophoron microbothrium cuenta con una unidad muscular circular externa (DEC1) de 11 a 18, dorsal circular externa 2 (DEC2) de 26 a 42, dorsal circular interna (DIC) de 34 a 56, ventral circular externa (VEC) de 13 a 20, ventral circular interna (VIC) de 40 a 61, media circular externa (MEC) de 10 a 15 (4).

Cotylophoron calicophorum cuenta con 7 a 14 unidades musculares en la DEC, 13 a 17 unidades musculares en la VEC, 41 unidades musculares en la DIC, 45 a 54 unidades musculares en la VIC y 14 unidades musculares en la MEC (5).

La longitud de la faringe al corte histológico del parásito en el presente estudio fue 0,4 mm de largo y $0,425 \pm 0,002$ mm de ancho y en la sección media $0,177 \pm 0,002$ mm de largo y 0,481 mm de ancho. Valores similares reportaron otros autores para el género *Calicophoron*. La faringe de *Calicophoron microbothrium* tiene una forma de pera y mide de 0,47 mm a 1,38 mm de largo (4). La faringe de *Calicophoron* reportado en ovinos de Cajamarca midió $0,48 \pm 0,02$ mm de largo y $0,51 \pm 0,06$ mm ancho (11). La faringe de los *Calicophoron* reportado en ovinos de Cajabamba midió $0,42 \pm 0,09$ mm de largo y $0,33 \pm 0,06$ mm de ancho (12).

Celonocotyle spp tiene una faringe de $1,45 \pm 0,03$ mm de longitud en sección media, *Bothriophoron spp* 0,42 mm (51). *Cotylophoron panamensis* tiene una faringe de 0,72 x 0,96 de largo y 0,64 x 0,86 de anchura (52). La faringe de las diferentes especies del género *Cotylophoron* del ganado en Nigeria oscilan entre 0,42 mm hasta $0,73 \pm 0,01$ mm de longitud en la sección media (50). *Cotylophoron calicophorum* tiene una faringe de 0,47 mm (0,23 a 0,62) de largo por 0,56 mm (0,43 a 0,73) de ancho (5). *Cotylophoron marajoensis* tiene una faringe de $0,56 (0,43 - 0,65) \times 0,63 (0,33 - 0,80)$ mm (6).

El esófago tuvo una longitud promedio de $0,364 + 0,005$ mm. Valores cercanos han establecido otros autores en estudios dentro de la región Cajamarca. En ovinos sacrificados en el Camal de Cajamarca Mendoza (11) determinó que el esófago de *Calicophoron* es de $0,34 \pm 0,01$ mm de largo y $0,26 \pm 0,006$ mm de ancho. Llanos (12), determinó que el esófago del género *Calicophoron* hallado en ovinos en Cajabamba mide $0,30 \pm 0,04$ mm de largo. En trematodos de vacunos beneficiados en Trujillo, el esófago de *Calicophoron* midió $332,3 \mu\text{m}$ de largo por $211,5 \mu\text{m}$ de ancho (8).

El esófago de *Calicophoron microbothrium* cuenta con 0,47 mm a 0,85 mm de largo (4). El esófago de *Cotylophoron calicophorum* mide 0,74 mm (0,70 a 0,80) de largo por 0,24 mm (0,20 a 0,30) de ancho (5). El esófago de *Cotylophoron marajoensis* mide 0,58 mm (0,42 – 0,79) de ancho y 0,68 (0,15 – 0,45) mm de longitud (6).

Otros valores como $0,39 \pm 0,09$ mm de longitud corresponde a *Celonocotyle*, 0,3 mm de longitud en *Bothriophoron* (51). El esófago de las especies del

género *Cotylophoron* en el ganado en Nigeria oscilan entre $0,32 \pm 0,3$ mm de longitud hasta $0,96 \pm 0,25$ mm de ancho (50). *Cotylophoron panamensis* tiene un esófago de 0,42 a 0,86 mm de longitud (52).

1.8. Contrastación de hipótesis

Se acepta la hipótesis. Las características morfométricas e histológicas de los parásitos trematodos hallados en la pared ruminal de los bovinos beneficiados en el Camal Municipal de San Marcos, Cajamarca, indican que el parásito pertenece a la Familia Paramphistomidae y género *Calicophoron*.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES

Según las características morfométricas e histológicas del parásito trematodo hallado en la pared ruminal de los bovinos beneficiados en el Camal Municipal de San Marcos, Cajamarca, se concluye que:

- El trematodo pertenece a la Familia Paramphistomidae y al género *Calicophoron*.
Las características morfométricas de los parásitos adultos ruminales en fresco tuvieron una longitud promedio de $5,09 \pm 1,34$ mm y ancho de $2,50 \pm 0,72$ mm.

CAPÍTULO V

SUGERENCIAS

Se recomienda realizar más estudios que permitan la identificación morfológica de estos trematodos y en lo posible la identificación molecular de las especies del *Calicophoron sp.* identificado mediante características morfológicas. La identificación mediante claves morfológicas no son 100% confiables para determinar la especie de un parásito, por lo que se requieren validar los resultados a través de técnicas moleculares, además de replicar en otras provincias del departamento de Cajamarca donde se han reportado la presencia de parásitos en rumen de bovinos.

REFERENCIAS

1. Bazsalovicsová E, Králová-Hromadová I, Špakulová M, Reblánová M, Oberhauserová K. Determination of ribosomal internal transcribed spacer 2 (ITS2) interspecific markers in *Fasciola hepatica*, *Fascioloides magna*, *Dicrocoelium dendriticum* and *Paramphistomum cervi* (Trematoda), parasites of wild and domestic ruminants. *Helminthologia*. 2010; 47(2):76–82.
2. Manrique A, Sanabria R, Cabrera M, Ortiz P. Molecular identification of Paramphistomes from cattle in Cajamarca, Peru. | Request PDF. In: World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, editor. 24th International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology. Perth, Australia: World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology; 2013.
3. Vasquez E. Prevalencia de paramphistomosis en ganado vacuno beneficiado en los camales municipales de Cajamarca y Baños del Inca. Universidad Nacional de Cajamarca. [Baños del Inca]: Universidad Nacional de Cajamarca; 2007.
4. Eduardo SL. The taxonomy of the family Paramphistomidae Fiscoeder, 1901 with special reference to the morphology of species occurring in ruminants. III. Revision of the genus *Calicophoron* Näsmark, 1937. *Syst Parasitol*. 1983;5(1):25–79.
5. Alarcón EP, Velásquez LE. Descripción morfológica de *Cotylophoron cotylophorum* (Digenea: Paramphistomidae) hallado en bovinos de Rionegro, Antioquia, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 2009;22(2):168–77.
6. do Amaral VS, de Sousa DF, Benigno RNM, Pinheiro RH da S, Gonçalves EC, Giese EG. *Cotylophoron marajoensis* n. sp. (Digenea: Paramphistomidae) a parasite of *Bubalus bubalis* on Marajó Island, Pará, Brazilian Amazon. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2020;29(4):e018320.
7. Rojas K, Serrano-Martínez E, Tantaleán M, Casas G, Quispe M. Presencia de *Cotylophoron* sp en Bovinos de la Provincia de Moyobamba, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 2015;26(3):519–24.

8. Aranda CB. Análisis morfométrico de los Paramphistomideos en bovinos beneficiados en el matadero San Francisco, distrito de Salaverry – Trujillo, Perú. Universidad Privada Antenor Orrego. [Trujillo]: Universidad Privada Antenor Orrego; 2017.
9. Cueva-Rodríguez M, Torrel S, Mejía F, Vargas-Rocha L. Morfometría de paramfistomidos en fresco (Trematoda: Digenea) recolectados del Centro de Beneficio Municipal de Chachapoyas, Amazonas, Perú. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. 2022 Oct 27;33(5):e21994.
10. Ortiz P, Cabrera M, Lopez M, Lennis V, Velásquez T. Calicophoron microbothrioides: un agente causal de la Paramphistomosis en Cajamarca, Perú. In: XXII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias (PANVET). Perú; 2010.
11. Mendoza L. Caracterización morfométrica de paramphistómidos encontrados en el rumen de ovinos (*Ovis aries*) beneficiados en el Camal Municipal de Cajamarca, 2012. Vol. 34, Revista Veterinaria. [Cajamarca]: Universidad Nacional de Cajamarca; 2013.
12. Llanos FH. Caracterización morfométrica de paramphistomidos encontrados en el rumen de ovinos sacrificados en el camal municipal de Cajabamba, departamento de Cajamarca, 2016. Universidad Nacional de Cajamarca.
13. Torrel S, Rojas J, Vera J, Huamán O, Plascenica O, Oblitas I. Prevalencia de paranfistomidosis y fasciolosis en ganado bovino lechero del Valle de Cajamarca, Perú. In: Gómez Urviola NC, Curillo Tacuri ML, editors. XXXVII REUNIÓN CIENTÍFICA ANUAL DE LA ASOCIACIÓN PERUANA DE PRODUCCIÓN ANIMAL. Abancay: Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac; 2014. p. 323–5.
14. Silva MJ de los M. Prevalencia de tremátodos en ganado vacuno en la zona de Huacaríz del valle de Cajamarca, 2016. Universidad Nacional de Cajamarca. [Cajamarca]: Universidad Nacional de Cajamarca; 2017.
15. Gallardo I. Prevalencia de trematodos en el ganado vacuno lechero en la zona de Tartar - valle de Cajamarca. Universidad Nacional de Cajamarca. [Cajamarca]: Universidad Nacional de Cajamarca; 2017.

16. Saldaña K. Prevalencia de trematodos en ganado vacuno en cuatro caseríos del distrito de La Encañada de la provincia de Cajamarca, 2015. Universidad Nacional de Cajamarca. [Cajamarca]: Universidad Nacional de Cajamarca; 2017.
17. Cadenillas R del P. Prevalencia de trematodos en ganado vacuno de la campiña del distrito de San Juan - Cajamarca, 2017. Universidad Nacional de Cajamarca. [Cajamarca]: Universidad Nacional de Cajamarca; 2017.
18. Alfaro D. Prevalencia de trematodos en ganado vacuno en la campiña del distrito de Celendín - Cajamarca, 2017. Universidad Nacional de Cajamarca. [Cajamarca]: Universidad Nacional de Cajamarca; 2017.
19. Schoch CL, Ciufo S, Domrachev M, Hotton CL, Kannan S, Khovanskaya R, NCBI Taxonomy: A comprehensive update on curation, resources and tools. Database. 2020;2020.
20. Dube S, Obiamiwe BA, Aisein MSO. Descriptive studies of the Genus paramphistomum Fiscoeder, 1901 in some Nigerian cattle. Discov Innov. 2006;17(3):186–92.
21. Zintl A, Garcia-Campos A, Trudgett A, Chryssafidis AL, Talavera-Arce S, Fu Y. Bovine paramphistomes in Ireland. Vet Parasitol. 2014;204(3–4):199–208.
22. Rojo-Vázquez FA, Meana A, Valcárcel F, Martínez-Valladares M. Update on trematode infections in sheep. Vet Parasitol. 2012 Sep 30;189(1):15–38.
23. Cueva-Rodríguez M, Torrel Pajares S, Mejía Risco F, Vargas-Rocha L. Morfometría de paramfistomidos en fresco (Trematoda: Digenea) recolectados del Centro de Beneficio Municipal de Chachapoyas, Amazonas, Perú. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. 2022 Oct 27;33(5):e21994.
24. Torrel T, Paz A. Paramphistomosis en bovinos y ovinos en Cajamarca. 1st ed. Universidad Nacional de Cajamarca, editor. Cajamarca: Martínez Compañón Editores S.R.L.; 2015. 15–109 p.
25. Huson KM, Oliver NAM, Robinson MW. Paramphistomosis of Ruminants: An Emerging Parasitic Disease in Europe. Trends Parasitol. 2017 Nov 1;33(11):836–44.

26. Ferreras MC, González-Lanza C, Pérez V, Fuertes M, Benavides J, Mezo M. *Calicophoron daubneyi* (Paramphistomidae) in slaughtered cattle in Castilla y León (Spain). *Vet Parasitol.* 2014 Jan 31;199(3–4):268–71.
27. Forstmaier T, Knubben-Schweizer G, Strube C, Zablotski Y, Wenzel C, Manfredi MT. Rumen (*Calicophoron/Paramphistomum* spp.) and Liver Flukes (*Fasciola hepatica*) in Cattle—Prevalence, Distribution, and Impact of Management Factors in Germany. *Animals* 2021, Vol 11, Page 2727. 2021;11(9):2727.
28. Sanna G, Varcasia A, Serra S, Salis F, Sanabria R, Pipia AP. *Calicophoron daubneyi* in sheep and cattle of Sardinia, Italy. *Helminthologia* (Poland). 2016;53(1):87–93.
29. Cauquil L, Hüe T, Hurlin JC, Mitchell G, Searle K, Skuce P. Prevalence and Sequence-Based Identity of Rumen Fluke in Cattle and Deer in New Caledonia. *PLoS One.* 2016;11(4).
30. Millar M, Foster A, Mitchell G, Skuce P, Wessels J, Elena VR. Rumen fluke in South American camelids in Great Britain. *Veterinary Record.* 2017;181(5):123–4.
31. Pfukenyi DM, Mukaratirwa S. Amphistome infections in domestic and wild ruminants in East and Southern Africa: A review. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research.* 2018;85(1):13.
32. Cerda C, Veloso-Frías J, Lobos-Chávez F, Oyarzún-Ruiz P, Henríquez A, Loyola M. Morphological and molecular identification with frequency analysis of *Calicophoron microbothrioides* in central Chile. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.* 2019;28(4):582–91.
33. Morales G, Pino LA, Moreno L. *Cotylophoron fülleborni* Nasmark, 1937 (Trematoda: Paramphistomidae). Primer Reporte para Venezuela. *ACI Avances en Ciencias e Ingenierías.* 2015;7(2).
34. Sanabria REF, Martorelli SR, Romero JR. First report of *Paramphistomum leydeni* Näsmark, 1937 (Trematoda: Paramphistomidae) in Argentina, and re-examination of *Cotylophoron cotylophorum* sensu Racioppi et al. (1994). *Helminthologia.* 2009;46(4):225–9.

35. Sanchís J, Sánchez-Andrade R, Macchi MI, Piñeiro P, Suárez JL, Cazapal-Monteiro C, et al. Infection by Paramphistomidae trematodes in cattle from two agricultural regions in NW Uruguay and NW Spain. *Vet Parasitol.* 2013;191(1–2):165–71.
36. Pinedo V. R, Chávez V. A, Casas A. E, Suárez A. F, Sánchez P. N, Huamán U. H. Prevalencia de trematodes de la familia Paramphistomatidae en bovinos del distrito de Yurimaguas, provincia de Alto Amazonas, Loreto. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú.* 2010;21(2):161–7.
37. Ilha MRS, Loretto AP, Reis ACF. Wasting and mortality in beef cattle parasitized by *Eurytrema coelomaticum* in the State of Paraná, southern Brazil. *Vet Parasitol.* 2005;133(1):49–60.
38. Fuertes M, Pérez V, Benavides J, González-Lanza MC, Mezo M, González-Warleta M, et al. Pathological changes in cattle naturally infected by *Calicophoron daubneyi* adult flukes. *Vet Parasitol.* 2015 Apr 30 [cited 2023;209(3–4):188–96.
39. Rolfe PF, Boray JC, Collins GH. Pathology of infection with *Paramphistomum ichikawai* in sheep. *Int J Parasitol.* 1994;24(7):995–1004.
40. Jyoti Prasad A, Singh NK. Evaluation of antibody response to various developmental stage specific somatic antigens of *Paramphistomum epiclitum* in goats. *Biomed Res Int.* 2014;2014.
41. Anuracpreeda P, Poljaroen J, Chotwiwatthanakun C, Tinikul Y, Sobhon P. Antigenic components, isolation and partial characterization of excretion–secretion fraction of *Paramphistomum cervi*. *Exp Parasitol.* 2013 Mar 1;133(3):327–33.
42. Horak IG. Paramphistomiasis of Domestic Ruminants. *Adv Parasitol.* 1971 Jan 1;9(C):33–72.
43. Bida SA, Schillhorn van Veen T. Enteric Paramphistomiasis in Yankasa sheep. *Trop Anim Health Prod.* 1977 Mar;9(1):21–3.
44. Anuracpreeda P, Wanichanon C, Sobhon P. *Paramphistomum cervi*: Antigenic profile of adults as recognized by infected cattle sera. *Exp Parasitol.* 2008;118(2):203–7.

45. Nak-on S, Tejangkura T, Chontanarath T. Multi-detection for paramphistomes using novel manually designed PAR-LAMP primers and its application in a lateral flow dipstick (LAMP-LFD) system. *Vet Parasitol.* 2023 May 1;317:109905.
46. Sanabria R, Moreno L, Alvarez L, Lanusse C, Romero J. Efficacy of oxyclozanide against adult *Paramphistomum leydeni* in naturally infected sheep. *Vet Parasitol.* 2014 Dec 15;206(3–4):277–81.
47. García-Dios D, Díaz P, Viña M, Remesar S, Prieto A, López-Lorenzo G. Efficacy of Oxyclozanide and Closantel against Rumen Flukes (*Paramphistomidae*) in Naturally Infected Sheep. *Animals (Basel).* 2020 Nov;10(11):1–9.
48. Rojas-Moncada J, Sotelo-Camacho J, Torrel-Pajares S, Vargas-Rocha L. Oxyclozanide in dairy cattle in the Cajamarca valley, as an alternative in the control of *Calicophoron microbothrioides*. *Journal of the Selva Andina Animal Science.* 2022 ;9(2):90–6.
49. Dinnik JA. *Paramphistomum daubneyi* sp.nov. from cattle and its snail host in the Kenya Highlands. *Parasitology.* 1962;52(1–2):143–51.
50. Dube S, Obiamiwe BA, Aisen MSS. Studies of the genus *Cotylophoron* Fiscoeder, 1910 (*Paramphistomidae*), recovered from Nigerian Cattle. *Folia Vet.*2003;47(1):42–7.
51. Dube S, Onyedineke NE, Aisien MSO. *Ceylonocotyle*, *Bothriophoron*, and *Calicophoron* species Parasitic in some Nigerian Cattle. *Adv Biores.* 2013;4(2):38–43.
52. López J, Velásquez L. *Cotylophoron panamensis* (Digenea: *Paramphistomidae*) en bovinos del Meta y del Guaviare, Colombia. *Acta Biolo Colomb.* 2012;17(2):419–28.