



**UNIVERSIDAD JUAN AGUSTÍN MAZA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y
AMBIENTALES**

**PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS EN
BOVINOS NATURALMENTE INFECTADOS CON *FASCIOLA*
HEPATICA EN VALLE DE UCO.**

Alumno: Franco Cremaschi

Director: M.V. MSc. Roberto Mera y Sierra

Co-Director: Vet. Esp. Mariana Soledad González

FECHA: 27 de abril de 2016

ÍNDICE GENERAL

| | Pág. N° |
|--|---------|
| ÍNDICE DE ABREVIATURAS | 1 |
| RESUMEN | 2 |
| INTRODUCCIÓN | 3 |
| Generalidades | 3 |
| Ciclo | 4 |
| Situación de la Fasciolasis en Argentina | 6 |
| Situación de la Fasciolasis bovina en Mendoza | 7 |
| Fasciolasis en los rumiantes | 7 |
| Características hematológicas en bovinos | 10 |
| Características de química sérica en bovinos | 16 |
| Hematología y química sérica en bovinos y pequeños rumiantes parasitados con <i>Fasciola hepatica</i> | 22 |
| OBJETIVOS | 24 |
| MATERIALES Y MÉTODOS | 25 |
| RESULTADOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO | 29 |
| DISCUSIÓN | 41 |
| CONCLUSIÓN | 45 |
| BIBLIOGRAFÍA | 46 |

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

A/G: Relación albúmina/globulina

ALT-GPT: Alanino aminotransferasa

AST-GOT: Aspartato aminotransferasa

CHCM: Concentración de hemoglobina corpuscular media

CPK: Creatinfosfoquinasa

FAL: Fosfatasa alcalina

GDH: Glutamato deshidrogenasa

GGT: Gamma-glutamiltanspeptidasa

Hb: Hemoglobina

Hto: Hematocrito

Resumen

La fascioliasis es una parasitosis zoonótica, la cual afecta a más de 17 millones de personas en 5 continentes. En Argentina, la fascioliasis es la tercera causa de decomisos en mataderos superada tan solo por tuberculosis e hidatidosis. En Mendoza es la enfermedad parasitaria de mayor prevalencia. El trabajo tuvo como objetivo investigar cambios de los parámetros hematológicos y bioquímicos en bovinos parasitados con *Fasciola hepatica*, los cuales no están descriptos para la zona. Se obtuvieron muestras de sangre de 76 animales en un matadero en la zona de Valle de Uco, Mendoza (Argentina). Posteriormente al sacrificio se estableció que 35 de los 76 animales presentaban parásitos en hígado, con un promedio de $18,23 \pm 17,5$ duelas. Mediante técnicas de laboratorio se obtuvieron los valores de bioquímica y hematología. Con relación a los animales libres del parásito los resultados arrojan aumentos de: número de eritrocitos, VGM, proteínas totales, globulinas, GOT, GGT, amilasa sérica y CPK. En conclusión, los resultados obtenidos dieron a entender la presencia de un proceso inflamatorio crónico sobre los canaliculos biliares, lo que señala la existencia de una colangitis producida por *Fasciola hepatica*.

INTRODUCCIÓN

Generalidades

La fasciolosis es una trematodiasis zoonótica causada mayormente por el tremátodo *Fasciola hepatica* y en menor medida por *Fasciola gigantica* (CDC, 2015).

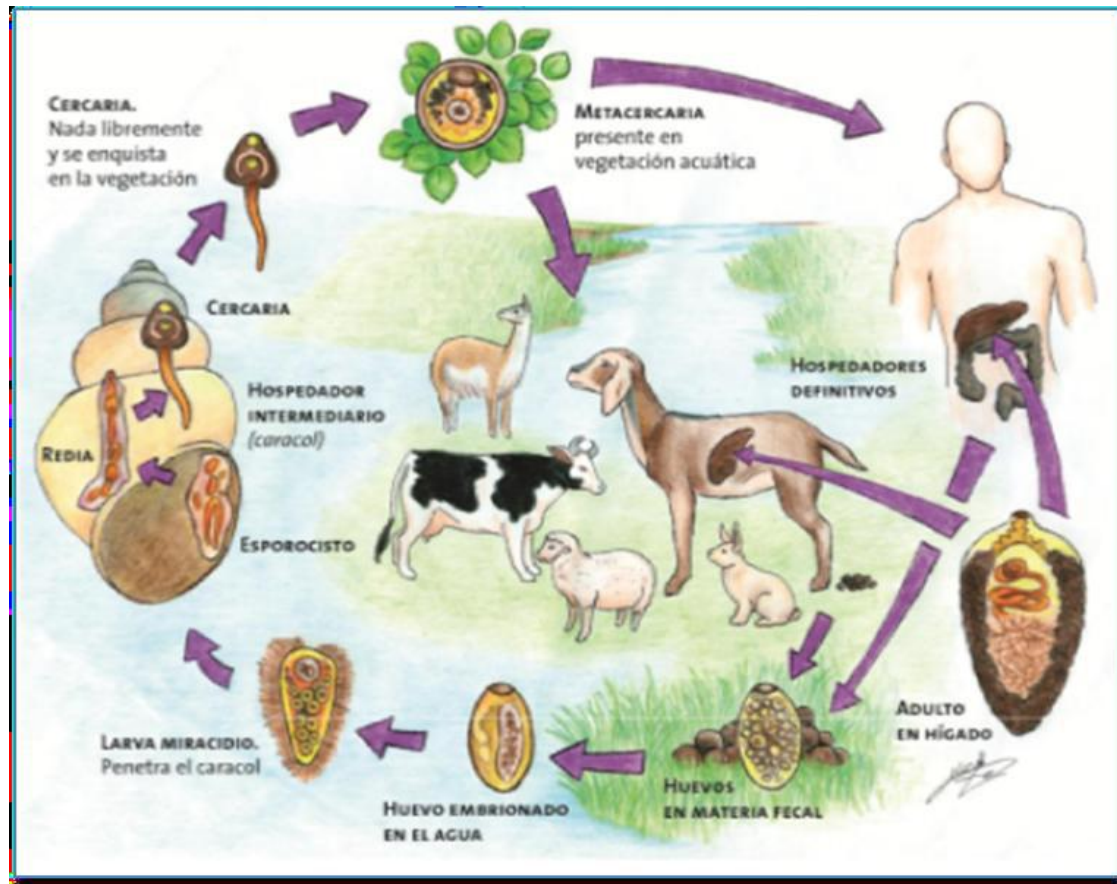
Afecta a más de 17 millones de personas en 5 continentes y está representada en Argentina por *Fasciola hepática* (Hopkins, 1992). En la actualidad se cree que el número de personas en riesgo son más de 160 millones (OMS, 2015).

Se considera como una de las enfermedades parasitarias más importantes de los rumiantes domésticos, que además afecta a gran cantidad de especies incluido el humano, lo cual favorece la diseminación generando pérdidas. (Hurtrez-Boussès y col., 2001; Kaplan, 2001). Se estima que las pérdidas económicas en rodeos vacunos a nivel mundial a causa de la fasciolosis son mayores a tres billones de dólares por año (FAO, 1994), tales pérdidas se deben mayormente al decomiso de hígados, disminución de la producción de leche (entre un 20 a un 80%), disminución de la producción de carne y gastos de antiparasitarios (González y col, 2007). En Argentina, la fascioliasis es la tercera causa de decomisos, superada tan solo por tuberculosis e hidatidosis (SENASA 2006) y, en Mendoza, es la enfermedad parasitaria en rumiantes de mayor prevalencia (Mera y Sierra y col., 2010).

La infección por *Fasciola hepatica* genera alteraciones de carácter bioquímico y hematológico, las cuales en bovinos aún no están totalmente descritas y son escasas las investigaciones que las relacionan con la carga parasitaria. Es importante la caracterización de estas alteraciones en zonas endémicas de Mendoza, como es Valle de Uco, dado que es una zona con muy altas prevalencias de fascioliasis (Mera y Sierra y col., 2005).

Ciclo

El ciclo de *Fasciola hepatica* consta de cinco fases, las cuales son: I) eliminación de huevos desde el hospedador definitivo hacia el ambiente por medio de la materia fecal y su posterior desarrollo. Para eclosionar, los huevos requieren temperaturas entre 10 y 30° C y la existencia de al menos una capa fina de agua (Teodoro Carrada-Bravo, 2007; Olaechea, 2007; Rojo Vázquez y Ferre Pérez, 1999). II) la eclosión del miracidio, búsqueda y penetración del hospedador intermediario (los caracoles lymnaeidos). III) el desarrollo y multiplicación del esporocisto, redia y cercaria en el caracol. IV) del caracol salen hacia el agua las cercarias, que luego se enquistan sobre las hierbas en el cauce, plantas acuáticas y rara vez, sucede el enquistamiento sobre la superficie del agua. Al perder la cola, se transforman en metacercarias (Teodoro Carrada-Bravo, 2007). V) ingestión de la metacercaria infectiva durante el pastoreo, al beber el agua contaminada o al ingerir hierbas, henos y ensilados mal realizados por el hospedador definitivo y el posterior desarrollo de los trematodos adultos en el hígado (Andrews, 1998).



Ciclo de *Fasciola hepatica* (Dibujo: Micaela Miranday, Umaza)

Un sólo parásito adulto puede llegar a producir entre 20.000 a 50.000 huevos por día, los cuales son arrastrados por la bilis hasta el intestino y eliminados con la materia fecal. Dependiendo de la temperatura (mayor a 10°C) y humedad ambiente, dentro del huevo se desarrolla el miracidio, que será el encargado de buscar y penetrar el caracol intermediario para evolucionar hasta el estadio de cercaria (Rojo Vázquez y Ferre Pérez, 1999; Taylor, 1965).

Las especies mayormente afectadas son ovinos y bovinos, sin embargo, puede afectar a caprinos, equinos, asnales, porcinos, camélidos, al humano e incluso se han encontrado especies de aves afectadas por *F. hepatica*, como son el emú y el choique (Martínez-Díaz y col., 2013; Soares y col., 2007; Vaughan, Charles y Boray, 1997).

Situación de fasciolosis en Argentina

Esta parasitosis es conocida desde hace mucho tiempo en Argentina, existiendo ya referencias de la misma en el siglo XIX (Durand Savoyat, 1867). En 1888 se la reconoce como un problema para el ganado ovino en la Provincia de Buenos Aires (Wernicke R, 1888).

Actualmente, es una enfermedad endémica en el país y su distribución abarca todas las provincias, excepto Tierra del fuego.

Entre 1997 y 2007, la prevalencia de fasciolosis en el ganado a nivel nacional osciló entre 0,7 y 1,3%. Las mayores prevalencias se registraron en la Región Patagónica (7,2%), seguida de la Región Noreste (3,4%), Noroeste (1,7%), Cuyo (1,4%) y Pampeana (0,7%); datos obtenidos de la oficina de estadística del SENASA en 2007.

Según la revisión bibliográfica realizada, en las publicaciones científicas se pueden constatar prevalencias muy superiores a las descritas en los registros oficiales. En la provincia de Neuquén se relata una prevalencia de 94,37% de decomiso de hígados por fascioliasis sobre un total de 1.687 hígados inspeccionados, mientras que en la provincia vecina de Río Negro se halló una prevalencia de 91,73% sobre 121 hígados inspeccionados (Kaczorkiewicz, 1983). En Chubut mediante estudios coprológicos, se encontró 184 (51,25%) animales con fascioliasis sobre 359 estudiados (Kleiman, 2007). Según datos brindados por SENASA (2006) sobre un total de 25.199 bovinos faenados, 4810 (19,08%) tenían fascioliasis.

En 1981 se realizó un estudio sobre la incidencia y distribución de la fasciolosis bovina en la provincia de San Luis sobre un total de 46.007 animales provenientes de distintos orígenes faenados en frigoríficos de la ciudad de Villa Mercedes, 1521 animales (3,30%) resultaron afectados por esta parasitosis (Rossanigo E. C., 1983).

La región Pampeana aporta alrededor del 90% de los animales faenados y entre el 60-70% de los animales decomisados, pero presenta los valores de

prevalencia más bajos del país (0,5-1,0%) (Prepelitchi L., Wisnivesky-Colli, C., 2013).

En las provincias del norte del país, como son Salta, Santiago del Estero y Jujuy se halló una prevalencia del 13% sobre 2.090 hígados inspeccionados, huevos de *F. hepatica* en 26 de 853 muestras (3%) (Dwinger, 1982).

En Entre Ríos mediante la obtención de datos en frigoríficos, sobre 237 bovinos provenientes de Federación se encontraron 44 (18,6%) con fascioliasis (Rebak, 2005).

Los datos oficiales de SENASA en el año 2006 para la provincia de Corrientes son de 17.294 animales faenados con 1.235 decomisos por fascioliasis, lo cual da una prevalencia del 7,14% (SENASA, 2006).

Situación de fascioliasis bovina en Mendoza

En Mendoza, según trabajos publicados, la prevalencia hallada en decomisos de hígados es de 67,5%, en animales que pastorean en valles de Tupungato (Mera y Sierra y col., 2005). A nivel provincial se halló una prevalencia del 34% en bovinos, concentrado principalmente en zonas andinas (Gonzalez y col., 2006; Deis et al 2009). En Perdriel, Lujan de Cuyo, se halló la presencia de un nuevo hospedador intermediario para *F. hepatica* en Argentina, *Lymnaea neotropica*, asociado a altísimas prevalencias en bovinos, caprinos y equinos (Mera y Sierra y col., 2009).

Fascioliasis en los Rumiantes

La patogenicidad de *Fasciola hepatica* depende del número de metacercarias ingeridas y su capacidad de implantación. La capacidad infectante de las metacercarias no sólo se encuentra influenciada por las condiciones climáticas que soportan las cercarias después de su enquistamiento, sino que también por la temperatura ambiental durante su desarrollo larvario dentro del molusco. Se

ha comprobado experimentalmente que las cercarias con mayor poder infectante se forman a una temperatura que oscilan los 22 a 23°C (Rojo Vázquez y Ferre Pérez, 1999).

Se pueden presentar 3 formas clínicas en los rumiantes: aguda, subaguda y crónica. Éstas, están relacionadas con la época del año, cantidad de metacercarias en los pastos y la ingestión de las mismas. La forma aguda es más común en ovinos y se caracteriza por una ingestión casi simultánea de un millar de metacercarias, lo que produce la existencia de al menos 2500 tremátodes en el parénquima hepático. Como resultado del trauma producido por los mismos, los animales presentan un cuadro de anemia hemorrágica aguda de tipo normocítica normocrómica, aunque puede observarse también cierto grado de macrocitosis. La evolución de la anemia puede ser tan rápida que se pueden observar muertes repentinas debido a la gran pérdida de sangre y fallo de la función hepática. Otro dato que podemos apreciar en estos animales es una marcada eosinofilia, aumento de la AST, hiperglobulinemia, y en casos terminales un hematocrito que oscila del 7 al 10%. Los signos clínicos que caracterizan esta forma clínica son debilidad, palidez de mucosas, taquipnea, disnea, hepatomegalia palpable junto con un gran dolor abdominal y en muy pocos casos ascitis (Behm, 1998; Cardozo y Nari, 1987; Rojo Vázquez y Ferre Pérez, 1999).

La forma clínica subaguda también con presentación más común en ovinos se debe a la ingestión de un número elevado de metacercarias durante un período de tiempo suficientemente largo como para no provocar un proceso agudo. En el hígado se pueden encontrar un promedio de 1000 tremátodes, existiendo un equilibrio entre las formas adultas y las inmaduras. Los animales pierden peso durante 1 a 2 semanas previo a la presentación de los signos clínicos. Luego el animal desarrolla palidez de mucosas, resistencia a la palpación de abdomen y rara vez hepatomegalia palpable. Los ovinos pueden presentar edema submandibular y ascitis. Gradualmente se desarrolla anemia hipocrómica macrocítica y marcada reticulocitosis. Se estima que cada tremátodo consume

entre 0,2 ml y 0,5 ml de sangre por día. En un principio se produce hiperproteinemia debido al aumento de las globulinas, que luego evoluciona a hipoproteinemia por una gran disminución de la albumina (Behm, 1998; Rojo Vázquez y Ferre Pérez, 1999).

La forma clínica crónica es la más frecuente en los bovinos. En este caso, los animales ingieren cantidades inferiores a 10 metacercarias por día, y en promedio se pueden hallar cerca de 250 a 300 tremátodes en el parénquima hepático. Su signología característica consta de pérdida de peso, retraso del crecimiento, anorexia, palidez de mucosas y letargia. El edema submandibular y la ascitis no son signos característicos en bovinos. En ningún momento se palpa el hígado ni tampoco existe la presencia de dolor a la palpación de abdomen. Durante este proceso crónico se desarrolla fibrosis hepática como consecuencia de la fase migratoria y colangitis hiperplásica por la presencia de parásitos en los conductos biliares y vesícula. En el ganado vacuno existe una intensa reacción tisular, fibrosis y calcificación de los conductos biliares, que actúa evitando futuras reinfecciones (Behm, 1998; Cardozo y Nari, 1987; Mussart y Coppo, 2009; Rojo Vázquez y Ferre Pérez, 1999).

Datos de laboratorio obtenidos en bovinos con fascioliasis

En el hemograma, está descrita una anemia de tipo macrocítica normocrómica. En el principio de la infección se produce una hiperproteinemia debido a un aumento de globulinas, que luego en el estadio crónico desciende hasta producirse una hipoproteinemia, la cual se debe a una disminución de la albúmina. Concomitante a estas características se presenta una eosinofilia marcada (Behm, 1998; Mussart y Coppo, 2009; Rojo Vázquez y Ferre Pérez, 1999).

El aumento de glutamato deshidrogenasa (GDH), enzima ubicada en las mitocondrias de hepatocitos, indica un proceso agudo reciente y disminuye su actividad cuando los tremátodes alcanzan la madurez sexual y se localizan en

los conductos biliares. Existe aumento de aspartato amino transferasa (AST) durante la migración de los tremátodes en el parénquima hepático, pero no es hepatoespecífica. También aumenta la gamma-glutamiltanspeptidasa (GGT), la cual procede del epitelio de los conductos biliares y alcanza valores plasmáticos elevados cuando los tremátodes se encuentran en los conductos biliares, su gran especificidad y estabilidad son de gran ayuda para el diagnóstico de fasciolosis (Behm, 1998; Mussart y Coppo, 2009; Rojo Vázquez y Ferre Pérez, 1999).

Características hematológicas en bovinos

Serie Blanca

El **Neutrófilo** es la célula blanca predominante en los rumiantes jóvenes, sin embargo, con el pasar del tiempo los linfocitos se transforman en la célula blanca dominante, produciéndose una proporción Neutrófilos/Linfocitos 1:2 en animales adultos (Jones y Allison, 2007).

Los neutrófilos segmentados poseen un citoplasma más eosinófilo que el de las demás especies debido a la presencia de un tercer gránulo citoplasmático (Jones y Allison, 2007).

En algunos casos pueden observarse cambios tóxicos en el recuento diferencial, lo que indica cambios en su morfología y es resultado de una producción y maduración acelerada en la medula ósea, lo que se asocia con una inflamación severa y a menudo es causada por bacterias Gram negativas y shock séptico. Algunos de los cambios tóxicos que ocurren son inclusiones citoplasmáticas, granulaciones, basofilia citoplasmática, formas gigantes, vacuolización citoplasmática y citoplasma espumoso. Es importante destacar que la exposición prolongada a EDTA produce vacuolización citoplasmática e hipersegmentación del núcleo (Jones y Allison, 2007).

La neutrofilia está causada principalmente por la presencia de inflamación leve a moderada, o durante la recuperación de un proceso inflamatorio grave. También puede ocurrir en respuesta a procesos infecciosos, lesiones tisulares, enfermedades neoplásicas y condiciones no inflamatorias. Existen 3 principales patrones de respuesta leucocitaria que pueden dar como resultado una neutrofilia: leucograma inflamatorio, leucograma de stress y una excitación o respuesta fisiológica (Jones y Allison, 2007).

Los niveles bajos de neutrófilos o neutropenia es causada por enfermedades inflamatorias agudas graves en el caso del ganado vacuno, incluyendo sepsis por bacterias Gram (-), metritis, mastitis, neumonía, infección por Salmonella entre otros. También se puede observar por injurias sobre la médula ósea, tales como las causadas por la intoxicación con helecho, la cual a menudo se acompaña de anemia y trombocitopenia no regenerativa (Jones y Allison, 2007).



Figura 1. Neutrófilo. Foto propia

Dentro de los **Linfocitos** existen 2 tipos, los B que producen inmunoglobulinas y los T que poseen función citotóxica y regulación de la inmunidad. En el

ganado bovino existen 3 tamaños de linfocitos que se pueden observar en los extendidos de sangre periférica y se clasifican como pequeños, medianos y grandes. No es raro observar gránulos azurófilos en linfocitos pequeños, se cree que éstos representan a las células Natural Killer. Los linfocitos grandes reactivos y normales en vacas pueden tener rasgos atípicos asociados a menudo con malignidad en otras especies y deben ser interpretados por patólogos con experiencia. Estas células pueden ser más irregulares en tamaño y tienen diámetros iguales a los de los neutrófilos (Weiser, 2012). Los animales mayores de 5 años de edad pueden experimentar una disminución en el número de linfocitos y por lo general mantienen la misma relación Neutrófilos/Linfocitos (Jones y Allison, 2007).

La linfocitosis patológica es inusual en los rumiantes, pero puede estar asociada con infecciones virales crónicas, enfermedades piógenas crónicas o enfermedades autoinmunes (Jones y Allison, 2007).

La linfopenia puede observarse con la presencia de stress o la administración de corticoides, infección viral o bacteriana aguda, endotoxemia, infección por el virus de la Diarrea Viral Bovina y por último las inmunodeficiencias que son muy raras de observar en bovinos (Jones y Allison, 2007).



Figura 2. Linfocito pequeño. Foto propia

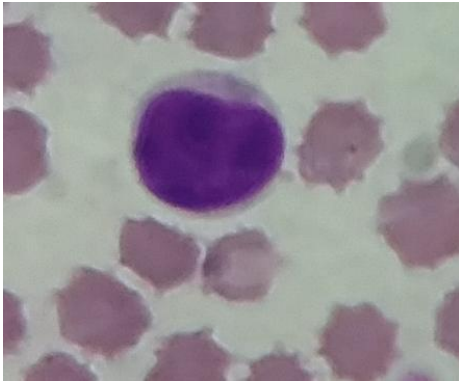


Figura 3. Linfocito mediano. Foto propia

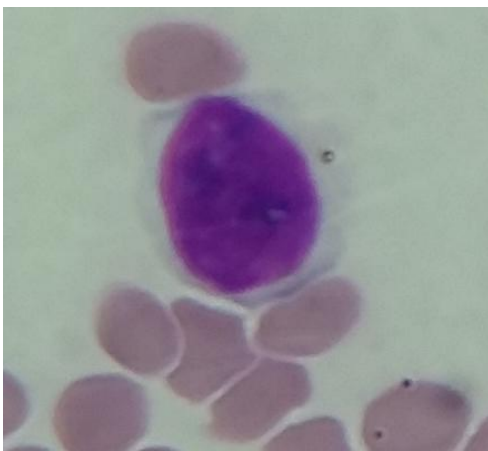


Figura 4. Linfocito grande. Foto propia

Los **Eosinófilos** poseen la función de mediar la respuesta inmune contra los parásitos, alérgenos y otros procesos inflamatorios. Sus gránulos poseen una proteína citotóxica contra una variedad de helmintos, protozoos, hongos y bacterias (Jones y Allison, 2007).

El ganado bovino normalmente posee un mayor número de eosinófilos que otras especies, pero la presencia de eosinofilia puede ser resultado de migración parasitaria (Weiser, 2012), neumonía intersticial atípica, enfisema pulmonar agudo y aún más raro por la formación de anticuerpos en la leche del ganado lechero (Jones y Allison, 2007).

La eosinopenia es difícil de apreciar en el ganado, ya que su intervalo de referencia toma como valor normal al cero; sin embargo, puede acompañar a

los procesos inflamatorios agudos, en respuesta al stress o bien puede ser relacionado con la edad porque los terneros por lo general poseen un número menor de eosinófilos que los bovinos adultos (Jones y Allison, 2007).



Figura 5. Eosinófilo. Foto propia

Los **Basófilos** normalmente están presentes en pequeñas cantidades en los rumiantes y generalmente cuesta observarlos en los extendidos de sangre. Su función es liberar mediadores de la inflamación durante procesos alérgicos o inflamatorios. Sus gránulos poseen heparina e histamina, la cuales se liberan durante reacciones de hipersensibilidad inmediata. Su número puede aumentar en el transcurso de dermatosis alérgicas y reacciones de hipersensibilidad (Jones y Allison, 2007). En algunos casos la basofilia puede acompañarse de eosinofilia (Weiser, 2012).

Los **Monocitos** participan en la respuesta inmune al entrar en los tejidos desde la circulación y así convirtiéndose en macrófagos, que poseen la capacidad de fagocitar microorganismos infecciosos, partículas y desechos celulares (Jones & Allison, 2007; Weiser, 2012). Su número es bastante variable en el ganado y no son un indicador sensible en las enfermedades. Pueden aumentar su número durante procesos inflamatorios crónicos, necrosis tisular, hemólisis o también como respuesta al stress (Weiser, 2012). Valores bajos de monocitos han sido asociados con endotoxemia y viremia (Jones y Allison, 2007).



Figura 6. Monocito. Foto propia

La agregación plaquetaria disminuye el recuento de las **Plaquetas**, lo cual es común en el ganado bovino y puede producirse por una exposición prolongada a EDTA o heparina (Jones y Allison, 2007).

Un aumento en el número de las plaquetas o trombocitosis es generalmente secundario (trombocitosis reactiva) y se puede presentar con el ejercicio, stress o condiciones inflamatorias. En los rumiantes una falsa elevación en el conteo de las plaquetas puede producirse a causa de un recuento alto de glóbulos rojos pequeños por parte de los analizadores automáticos (Jones y Allison, 2007).

Algunas causas específicas de trombocitopenia en los rumiantes incluyen septicemia, endotoxemia, vasculitis, intoxicación por consumo de helecho y tricloroetileno, infección por Salmonella, mastitis, metritis, neoplasias y coagulación intravascular diseminada (Jones y Allison, 2007).

Tabla.1 Valores hematológicos de referencia en bovinos

| Parámetros | Intervalos de referencia |
|--|--------------------------|
| Hematocrito (%) | 24-48 |
| Eritrocitos (10^6 células/mL) | 4.9-7.5 |
| VGM (fL) | 36-50 |
| Hemoglobina (g/dL) | 8.4-12.0 |
| Leucocitos totales (10^3 células/mL) | 5.1-13.3 |
| Neutrófilos en banda (10^3 células/mL) | 0.0-0.2 |
| Neutrófilos segmentados (10^3 células/mL) | 1.7-6.0 |
| Linfocitos (10^3 células/mL) | 1.8-8.1 |
| Monocitos (10^3 células/mL) | 0.1-0.7 |
| Eosinófilos (10^3 células/mL) | 0.1-1.2 |
| Basófilos (10^3 células/mL) | 0.0-0.2 |
| Plaquetas ($\times 10^3$) | 160-650 |

Valores obtenidos de Veterinary hematology and clinical chemistry. Pag 122. Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W., & Campbell, T. W. (2012). USA. Wiley~Blackwell

Características de química sérica en bovinos

Los rumiantes poseen una baja concentración de **Alanino Aminotransferasa (GPT-ALT)** en los hepatocitos, por lo que su medición no es útil para detectar enfermedades en el hígado de los mismos. Cantidades moderadas de ALT se encuentran presentes en el músculo de los rumiantes. Aumentos moderados de esta enzima en el suero se produce generalmente por lesiones musculares; sin embargo, la ALT no se encuentra incluida en los perfiles bioquímicos de los grandes animales (Russell y Roussel, 2007; Allison, 2012).

En los rumiantes la **Aspartato Aminotransferasa (GOT-AST)** se utiliza a menudo para detectar lesiones en los hepatocitos y por esto se incluye de manera rutinaria en los perfiles bioquímicos de los grandes animales. La mayor actividad de esta enzima puede ser resultado de una gran cantidad de enfermedades hepáticas, tanto subletales como necrosis (Russell y Roussel, 2007; Allison, 2012).

El gran problema que posee la AST para detección de lesiones en los hepatocitos es su falta de especificidad. Al igual que en los pequeños animales una mayor actividad de la AST no sólo puede indicar una patología hepática, sino que también puede ser resultado de una lesión muscular. Este problema puede mitigarse en cierta medida con la medición de una enzima específica de músculo como la CPK junto con la AST. Una mayor actividad de la AST con la CPK normal sugiere que ha ocurrido una lesión sobre los hepatocitos. Otro problema que sucede con estas enzimas es que la vida media de la CPK es menor que la AST y vuelve a la normalidad antes (Allison, 2012; Russell y Roussel, 2007).

La **Fosfatasa Alcalina (FAL)** es una enzima inducida que está unida a la membrana de las células y es sintetizada por muchos tejidos como el hígado, huesos, riñones, intestino, páncreas y placenta (Allison, 2012; Russell y Roussel, 2007).

La utilidad de FAL para la detección de colestasis en rumiantes, en general se considera inferior a la de la GGT, ya que sólo se producen leves aumentos de FAL en los bovinos con enfermedades hepáticas. Amplios intervalos de referencia de la FAL en rumiantes contribuyen a la reducción de la sensibilidad de esta enzima en suero para la detección de una patología en el hígado de los rumiantes (Allison, 2012; Russell y Roussel, 2007).

La **Gamma Glutamil Transpeptidasa (GGT)** también es considerada una enzima inducida. Una lesión hepática aguda, sin embargo, puede producir un rápido aumento en la actividad de la GGT en suero, probablemente debido a la

liberación de fragmentos de la membrana celular. La mayoría de los tejidos sintetizan GGT, con las concentraciones más altas en páncreas y riñones (Allison, 2012; Russell y Roussel, 2007).

Además está presente en concentración más baja en los hepatocitos, epitelio del conducto biliar y en la mucosa intestinal. Posee altas concentraciones en glándula mamaria de vacas, ovejas y perras. En el ganado vacuno la GGT generalmente se considera más sensible que la ALT para la detección de colestasis (Allison, 2012; Russell y Roussel, 2007). La fasciolosis y colelitiasis elevan los niveles séricos de GGT y FAL, por lo que son enzimas indicadoras de trastornos hepatobiliares y colestasis en los rumiantes (Russell y Roussel, 2007).

La excreción disminuida de **Bilirrubina** (colestasis) puede ser de origen hepático o poshepático y, por lo general, se da como resultado de una obstrucción parcial o completa en el sistema biliar que causa acumulación de bilis (vulgarmente llamado espesamiento de la bilis). Una obstrucción en el flujo biliar da como resultado una regurgitación de bilirrubina conjugada hacia la sangre. Estos bloqueos a menudo son causados por procesos que afectan directamente el árbol biliar, tales como infecciones, neoplasias o cálculos biliares que comprimen o dañan los canalículos. Sin embargo, las enfermedades que afectan principalmente el parénquima hepático también pueden dar como resultado colestasis gracias a la inflamación de los hepatocitos, esto provoca un bloqueo de los canalículos biliares pequeños y evita el flujo normal de bilis. Una obstrucción de la vía biliar extrahepática puede ser secundaria a pequeñas lesiones intestinales o pancreáticas y, de esa manera, se puede producir colestasis con posterior hiperbilirrubinemia. El escape de bilis hacia la cavidad abdominal puede ser causado por la ruptura de la vesícula biliar o del conducto biliar, lo que también produce una hiperbilirrubinemia (Allison, 2012).

Deben considerarse diferencias entre las especies a la hora de evaluar la concentración sérica de bilirrubina. Si la colestasis es la causa de la

hiperbilirrubinemia, la FAL y la GGT también van a aumentar y se consideran más sensibles que la concentración sérica de bilirrubina durante una colestasis en perros y ganado, pero no en gatos y caballos (Allison, 2012).

Enfermedades hepáticas difusas como la lipidosis hepática o insuficiencia hepática crónica son más propensas a causar hiperbilirrubinemia. Las enfermedades primarias del tracto biliar y la vesícula biliar son poco comunes en los rumiantes (Allison, 2012).

Cuando el ganado no presenta hemólisis o una enfermedad hepática severa, la hiperbilirrubinemia se asocia con estasis ruminal y anorexia. Es normal que en el ganado bovino en ayunas se desarrolle hiperbilirrubinemia leve ($< 1,4$ mg/dL) (Allison, 2012).

El aumento de la actividad de la **Amilasa Sérica** rara vez se ha reportado en bovinos. Aumentos de la misma pueden ser causados por lesiones en la mucosa intestinal (Meuten, 2012).

Por otra parte, el **Colesterol** puede encontrarse en forma de colesterol libre o puede estar esterificado con un ácido graso para formar un éster de colesterol. Como no es sintetizado por plantas o microbios, sólo los carnívoros o los omnívoros pueden obtener el colesterol de la dieta, mientras que los herbívoros deben sintetizar su propio colesterol (Radin, 2012).

El suero contiene muchas **Proteínas** diferentes, pero los dos principales componentes en el perfil de bioquímica sérica son la **Albúmina** y las **Globulinas**. La albúmina es sintetizada en el hígado y es la proteína responsable de la presión oncótica del plasma, su vida media es de 16,5 días. Muchas proteínas conforman la fracción de las globulinas, siendo las principales las inmunoglobulinas. Diferentes globulinas son sintetizadas en el hígado y otra pequeña cantidad son sintetizadas por algunos tejidos. La proporción de Albúmina/Globulinas (A/G) es constante en el ganado saludable (Russell y Roussel, 2007).

La hiperproteinemia es el resultado del aumento de albúmina, globulina o ambas. La única causa de hiperalbuminemia es la deshidratación. En dicho caso aumentan tanto la albúmina como las globulinas y se debe corroborar el intervalo de referencia con el grado de deshidratación presente en el animal. Cuando la hiperproteinemia cursa sin deshidratación concurrente es casi siempre resultado de hiperglobulinemia. Causas comunes de hiperglobulinemia incluyen estímulo antigénico crónico (enfermedad inflamatoria crónica) y enfermedad hepática. El estímulo antigénico crónico puede ser típicamente observado en una variedad de condiciones, tales como son la reticuloperitonitis traumática, abscesos hepáticos o neumonías crónicas (Russell y Roussel, 2007).

La concentración sérica de globulinas generalmente es uno de los valores que se pasan por alto en los perfiles de bioquímica, pero es de gran valor para detectar enfermedades inflamatorias crónicas. En los bovinos que presentan enfermedades inflamatorias, los cambios en el hemograma son a menudo muy sutiles y transitorios en comparación con otras especies, de tal manera que esta condición puede no ser observada. Con el estímulo antigénico crónico, la relación A/G suele disminuir debido a un aumento en la fracción de las globulinas, que a menudo se acompaña de una pequeña disminución de la albúmina (Russell y Roussel, 2007).

La disminución de la concentración sérica de albúmina puede ser más importante en las enfermedades hepáticas crónicas, lo que provoca una disminución más elevada de la relación A/G. La hipoalbuminemia ocurre cuando hay una pérdida o consumo excesivo de albúmina y por otro lado puede ser causado por una producción insuficiente de la misma en el hígado. Una insuficiente producción puede ocurrir en animales que poseen una severa enfermedad hepática crónica o puede ocurrir como resultado de una ingesta inadecuada de proteínas (Russell y Roussel, 2007).

La **Urea** se genera en el hígado por el ciclo de la urea, a través de la desintoxicación del amoníaco, subproducto del catabolismo proteico y, por lo

tanto, está influenciada por la dieta y la función hepática. Cabe destacar que en los rumiantes la urea se reabsorbe en rumen, un proceso que limita su utilidad para la detección de enfermedad renal (Russell y Roussel, 2007).

La concentración de **Creatinina** se ve mínimamente afectada por la dieta y el catabolismo proteico, pero puede verse afectada por el nivel de masa muscular del animal. En toros adultos clínicamente sanos, la concentración de creatinina puede ser mayor que el valor hallado en los intervalos de referencia reportados para el ganado adulto. Su concentración puede ser demasiado baja en animales emaciados con baja masa muscular. Al no verse afectada su concentración por factores externos, es la prueba de elección para evaluar la función renal en rumiantes (Russell y Roussel, 2007).

La **Creatinfosfoquinasa (CPK)** es un indicador sensible y específico de lesión muscular. Aumentos sutiles pueden ocurrir como resultado del ejercicio, peleas o incluso inyecciones intramusculares. Los bovinos que poseen el síndrome de vaca caída permanecen recostados por largo tiempo y esto puede provocar aumentos superiores a 100 veces su valor normal debido al daño secundario provocado por la presión sobre sus músculos. Debido a su corto período de tiempo en suero se puede utilizar la AST, la cual posee una vida media de 20 horas. Estas dos enzimas deben ser utilizadas en combinación para detectar daño muscular. A modo de ejemplo si el ganado se encuentra en decúbito y la actividad de AST es mayor que CPK, es probable que el daño muscular sea de varios días de antigüedad (Russell y Roussel, 2007).

Tabla 2. Parámetros de química sérica normal en bovinos.

| Parámetros | Intervalos de referencia |
|--------------------------|--------------------------|
| Proteínas Totales (g/dL) | 6,7-7,5 |
| Albumina (g/dL) | 2,5-3,8 |
| Globulinas (g/dL) | 3,0-3,5 |
| Relación A/G | 0,45-1,31 |
| Urea (mg/dL) | 10-25 |

| | |
|-------------------------------|-----------|
| Creatinina (mg/dL) | 0,5-2,2 |
| Bilirrubina total (mg/dL) | hasta 0,8 |
| Bilirrubina directa (mg/dL) | Hasta 0,2 |
| Bilirrubina indirecta (mg/dL) | Hasta 0,5 |
| FAL (U/L) | 18-153 |
| GOT-AST (U/L) | 60-125 |
| GPT-ALT (U/L) | 6,9-35 |
| GGT (U/L) | 6-17,4 |
| CPK (U/L) | 0-350 |
| Colesterol (mg/dL) | 62-193 |
| Amilasa Sérica (U/L) | 41-98 |
| Triglicéridos (mg/dL) | 10-32 |

Datos obtenidos de El Manual Merck de Veterinaria. Por Kahn C. N. 2007. Ed. Océano Difusión.

HEMATOLOGÍA Y QUÍMICA SÉRICA EN BOVINOS Y PEQUEÑOS RUMIANTES PARASITADOS CON FASCIOLA HEPÁTICA.

Los datos de alteraciones en los parámetros hematológicos y bioquímicos en bovinos que poseen fasciolosis son escasos. Debido a esto se realizó una extensa revisión bibliográfica y se incluyó en la misma a pequeños rumiantes, dada la escasez de trabajos en bovinos.

En la provincia de Corrientes se tomaron muestras de sangre en 30 bovinos positivos a fasciolosis, con escasa cantidad de parásitos adultos en hígado. Luego se realizó eritrograma, leucograma y perfil bioquímico. Los valores obtenidos arrojaron como resultado un aumento de los leucocitos totales, eosinófilos, GGT, gamma globulinas, proteínas totales y una disminución en la relación A/G (Mussart y Coppo, 2009).

Metanović y col., (2007) estudiaron un grupo de 20 ovejas infectadas naturalmente con *Fasciola hepatica* y lo compararon con otro grupo de 20

ovejas libres del parásito. Estos animales investigados fueron alojados al aire libre en pastos cubiertos de pantanos, que permanecieron inundados después de la temporada lluviosa. Algunos valores de la bioquímica y hematología se vieron alterados: Disminución del recuento de glóbulos rojos, linfocitos, hemoglobina, hematocrito, concentración de hemoglobina corpuscular media, AST, nitrógeno ureico en sangre, creatinina y albúmina. Mientras que el conteo de glóbulos blancos, eosinófilos, neutrófilos segmentados y en banda, volumen corpuscular medio (VCM), GGT, concentraciones de glucosa y globulinas fueron significativamente mayores que en el rebaño libre del parásito (Metanović y col., 2007).

Se logró infectar experimentalmente a un grupo de ovejas con metacercarias y se midieron sus parámetros hematológicos y bioquímicos a lo largo de 2 meses. Entre las 2 y 6 semanas de iniciado el experimento las ovejas mostraron una disminución de peso. Los parámetros hematológicos demostraron una disminución significativa en el recuento de glóbulos rojos, hemoglobina, hematocrito y monocitos. Por otra parte, hubo un aumento de los leucocitos, eosinófilos y neutrófilos. En tanto a la bioquímica se observó una disminución significativa de las proteínas totales, albuminas y glucosa; y aumento de globulinas, bilirrubina total, AST, ALT, FAL, LDH, GGT, urea y creatinina (Doaa, Soliman, y Abd Elkhalek, 2007).

En corderos que fueron infectados experimentalmente con una sola dosis de 150 metacercarias se observó que con el pasar del tiempo ocurrieron aumentos en la GGT y Bilirrubina total (Prache y Galtier, 1989).

Un grupo de 86 bovinos infectados y 30 no infectados con *F. hepatica* fueron muestreados durante la faena en un matadero. Los resultados arrojaron una disminución en el hematocrito, hemoglobina y concentración de hemoglobina corpuscular media en los animales infectados en comparación con los animales sanos ($p < 0.05$). También se observó disminución en la concentración sérica de hierro en los animales enfermos ($p < 0.05$). En tanto a la bioquímica se

observaron significativos aumentos de AST, GGT y FAL en comparación con los animales sanos ($p < 0.05$) (Lotfollahzadeh y col., 2008).

Se realizó el muestreo de 62 ciervos, 19 de ellos con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 43 libres del mismo. Al realizar los análisis correspondientes se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos. En los animales libres del parásito el VCM y proteínas totales fueron más altos, mientras que los animales enfermos presentaron niveles más altos de CHCM, eosinófilos, basófilos, linfocitos, monocitos, ALT, urea y glucosa (Vengust, Klinkon, Bidovec, y Vengust, 2003).

En otro estudio, 63 ovejas fueron muestreadas, 29 con presencia de duelas en hígado y 34 libres del parásito. El análisis bioquímico mostró una elevación significativa ($p < 0,05$) de GGT, bilirrubina total y bilirrubina directa en el grupo de ovejas infectadas en comparación con el grupo libre del parásito. No se observaron diferencias significativas para la actividad de la AST entre los grupos (Hodžić et al., 2013).

Objetivos

General

Describir los parámetros hematológicos y bioquímicos en bovinos naturalmente parasitados con *F. hepatica*.

Específicos

Comparar las alteraciones hematológicas y bioquímicas entre bovinos parasitados y bovinos no parasitados por *F. hepatica*.

Materiales y Métodos

Tipo de estudio

Es un estudio de tipo descriptivo, transversal y correlacional.

Caracterización de las áreas de estudio y toma de muestra

El muestreo se realizó en el Matadero de Vacunos Campo Los Andes, perteneciente al departamento de San Carlos en el municipio de La Consulta. En el lugar se contaba con previo conocimiento del arribo de tropas bovinas al establecimiento faenador, las cuales fueron provenientes de zonas de reconocida endemia de *F. hepatica* mediante la revisión del Documento de Tránsito electrónico (DT-e) emitido por SENASA, verificando al mismo tiempo la fecha de faena de los animales. Se trabajó con un número mínimo de 30 animales parasitados por *F. hepatica* y con un número mínimo de 30 animales libres del trematodo, provenientes de las mismas tropas.

El material biológico utilizado fue constituido por dos muestras de sangre, con EDTA y sin anticoagulante, las cuales se obtuvieron en el momento del degüello del animal, con previa insensibilización de los mismos por medio de corriente eléctrica. Paso siguiente al muestreo de sangre, se siguió a los animales muestreados en la línea de faena y cuando se realizaba el eviscerado de la res se procedía a la toma de muestras de materia fecal de la ampolla duodenal y en el mismo momento se inspeccionaba el hígado de la res con el objetivo de determinar los animales parasitados.

Bioseguridad

Se respetaron las medidas de bioseguridad personal y de trabajo, mediante el uso de ropa, calzado, doble guante, antiparras y casco, delantal protector y barbijo.

Las muestras se remitieron al laboratorio y fueron procesadas el mismo día de la extracción para su posterior análisis.

Estadística

Se realizó la estadística descriptiva mediante la determinación de la media aritmética, el desvío estándar y el rango. La comparación entre los dos grupos de animales se realizó mediante el test de Student para muestras no apareadas. Se consideró significativa una diferencia con $p < 0.05$.

Análisis estadístico

Comparación entre animales faenados en Valle de Uco, positivos y negativos para *F. hepatica*.

Análisis estadístico de los resultados obtenidos en la hematología y bioquímica.

Técnicas de laboratorio utilizadas

-Hematología

Las muestras con EDTA fueron procesadas con el contador hematológico Abacus Junior Vet para determinar hematocrito, volumen globular medio, n° de eritrocitos y plaquetas.

Por otra parte se realizaron frotis sanguíneos para determinar el recuento relativo y diferencial de leucocitos, los mismos fueron fijados con metanol y se colorearon con Giemsa.

Todas las muestras fueron analizadas ciegamente por un operador sin conocimiento previo de las mismas.

-Técnicas Bioquímicas

Los parámetros bioquímicos se obtuvieron mediante el análisis del suero en el autoanalizador INCCA, mediante los siguientes métodos:

Urea: Método enzimático UV 340 nm (GT Lab, Rosario, Argentina).

Creatinina: Método color cinético UV (GT Lab, Rosario, Argentina).

Aspartato Aminotransferasa (GOT/AST): Método Cinético UV IFFC modificado 340 nm (GT Lab, Rosario, Argentina).

Alanina Aminotransferasa (GPT/ALT): Método Cinético UV IFFC modificado 340 nm (GT Lab, Rosario, Argentina).

Fosfatasa Alcalina (FAL): Método cinético 405 nm (GT Lab, Rosario, Argentina).

Gamma glutamil transferasa (GGT): Método cinético 405 nm (GT Lab, Rosario, Argentina).

Proteínas totales: Método de Biuret, Colorimétrico 540 nm (ByoSistemas, Barcelona, España).

Albúminas: Método colorimétrico 630 nm (ByoSistemas, Barcelona, España).

Globulinas: Diferencia entre proteínas totales menos albúminas.

Relación Albumina/Globulinas: División de albúminas por las globulinas.

Bilirrubina Total (BT): Método colorimétrico Diazo reacción 640 nm (ByoSistemas, Barcelona, España).

Bilirrubina Directa (BD): Método colorimétrico Diazo reacción 640 nm (ByoSistemas, Barcelona, España).

Bilirrubina Indirecta (BI): Diferencia de BT menos BD.

Colesterol: Método colorimétrico CHOD/PAP reacción 505 nm (GT Lab, Rosario, Argentina).

Triglicéridos: Método colorimétrico GPO/PAP 505 nm (GT Lab, Rosario, Argentina).

Creatina Kinasa (CPK): Método por Inmunoinhibición; cinético U.V. 340 nm (GT Lab, Rosario, Argentina).

Amilasa Sérica: Método cinético 405 nm (GT Lab, Rosario, Argentina).

El trabajo fue realizado dentro del marco del proyecto de investigación titulado Cambios hematológicos y bioquímicos en bovinos naturalmente infectados con *Fasciola hepatica* y su relación con la carga parasitaria, el cual fue evaluado por el CICUAL en la Universidad Juan Agustín Maza.

RESULTADOS

Presencia de *Fasciola hepatica*

De 76 animales inspeccionados, se observó la presencia de *Fasciola hepatica* en 35 animales y en los 41 restantes no se observó la presencia de *F. hepatica*. En los animales parasitados, se observó un rango de 1 a 54 fasciolas en hígado, con una media de $18,23 \pm 17,5$.

Tabla 3. Cantidad de *F. hepatica* presentes en hígados.

| Rangos | Cantidad de animales |
|---------------------|----------------------|
| 1 a 10 fasciolas | 18 |
| 11 a 20 fasciolas | 6 |
| 21 a 30 fasciolas | 3 |
| 31 a 40 fasciolas | 1 |
| 41 a 50 fasciolas | 4 |
| Más de 51 fasciolas | 3 |

Hematología

Hematocrito

Se procesaron 35 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 39 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 36.0 a 67.0, media 46.54, desvío estándar 6.4. En los animales negativos se observó un rango de 26.0 a 63.0, media 48.9, desvío estándar

6.44. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas. ($p=0.1977$)

Eritrocitos

Se procesaron 35 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 39 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 5.780.000 a 10.970.000, media 7.966.857, desvío estándar 1.425.669. En los animales negativos se observó un rango de 5.120.000 a 11.040.000, media 8.833.333, desvío estándar 1.337.915. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas. ($p=0.0087$)

Volumen Globular Medio

Se procesaron 35 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 39 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 46.0 a 73.0, media 59.63, desvío estándar 7.18. En los animales negativos se observó un rango de 45.0 a 70.0, media 55.46, desvío estándar 6.72. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas. ($p=0.0120$)

Hemoglobina

Se procesaron 35 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 39 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 10.7 a 21.3, media 14.81, desvío estándar 2.04. En los animales negativos se observó un rango de 7.3 a 19.0, media 15.12, desvío estándar 2.41. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas. ($p=0.5485$)

Plaquetas

Se procesaron muestras 35 correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 39 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 276.000 a 866.000, media 505.857, desvío estándar 143.965. En los animales negativos se observó un rango de 70.000 a 915.000, media 438.846, desvío estándar 177.133. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas. (p=0.0804)

Leucocitos totales

Se procesaron 35 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 38 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 1190 a 12960, media 6171.71, desvío estándar 2980.65. En los animales negativos se observó un rango de 1490 a 9100, media 4869.74, desvío estándar 1959.24. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas. (p=0.0328)

Neutrófilos segmentados

Se procesaron 35 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 38 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 10368 a 333, media 2369.94, desvío estándar 2044.03. En los animales negativos se observó un rango de 341 a 4368, media 1625.84, desvío estándar 966.23. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas. (p=0.0557)

Neutrófilos en banda

Se procesaron 35 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 38 muestras correspondientes a animales sin

presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 0 a 1163, media 86.57, desvío estándar 201.98. En los animales negativos se observó un rango de 0 a 227.5, media 30.64, desvío estándar 52.8. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas. ($p=0.1204$)

Linfocitos

Se procesaron 35 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 38 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 702 a 7087, media 3110.87, desvío estándar 1373.02. En los animales negativos se observó un rango de 745 a 6058, media 2795.53, desvío estándar 1059.14. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas. ($p=0.2735$)

Monocitos

Se procesaron 35 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 38 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 0 a 1609.6, media 371.02, desvío estándar 345.74. En los animales negativos se observó un rango de 0 a 728, media 202.55, desvío estándar 185.89. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas. ($p=0.0134$)

Eosinófilos

Se procesaron 35 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 38 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 0 a 1057, media 231.3, desvío estándar 235.17. En los animales negativos se observó un rango de 0 a 1240, media 196.27, desvío estándar

241.01. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas. ($p=0.5323$)

Basófilos

Se procesaron 35 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 38 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. Tanto en animales positivos como negativos no se encontró la presencia de basófilos.

Tabla 4. Resultados de hematología.

| Parámetros | Intervalo de referencia | Muestras con presencia de <i>F. hepatica</i> | Muestras sin presencia de <i>F. hepatica</i> | Valor de p (Student) |
|--|-------------------------|--|--|----------------------|
| Hematocrito (%) | 24-48 | 46.54±6.4 | 48.9±6.44 | 0,1977 |
| Eritrocitos por mm ³ (10 ⁶) | 4.9-7.5 | 7.967±1.426 | 8.83±1.34 | 0,0087 |
| VGM (fL) | 36-50 | 59.63±7.18 | 55.46±6.72 | 0,0120 |
| Hemoglobina (g/dL) | 8.4-12 | 14.81± 2.04 | 15.12± 2.41 | 0,5485 |
| Plaquetas por mm ³ (10 ³) | 160-650 | 506±144 | 439±177 | 0,0804 |
| Leucocitos por mm ³ (10 ³) | 5.1-13.3 | 6171±2980 | 4869±1959 | 0,0328 |
| Neutrófilos segmentados | 1.7-6 | 2367±2044 | 1626±966 | 0,0557 |

| | | | | |
|---|---------|-----------|-----------|--------|
| por mm ³ (10 ³) | | | | |
| Neutrófilos en banda por mm ³ (10 ³) | 0.0-2.0 | 87±202 | 31±53 | 0,1204 |
| Linfocitos por mm ³ (10 ³) | 1.8-8.1 | 3111±1373 | 2796±1059 | 0,2735 |
| Monocitos por mm ³ (10 ³) | 0.1-0.7 | 371±346 | 203±186 | 0,0134 |
| Eosinófilos por mm ³ (10 ³) | 0.1-1.2 | 231±235 | 196±241 | 0,5323 |

Bioquímica sanguínea

Urea

Se procesaron 35 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 41 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 16 a 46, media 26.17, desvío estándar 7.3. En los animales negativos se observó un rango de 11 a 67, media 25.76, desvío estándar 10.22. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas. (p=0.8375)

Creatinina

Se procesaron 35 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 41 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 0.6 a 2.7, media 1.65, desvío estándar 0.47. En los animales negativos se observó un rango de 0.9 a 3, media 1.53, desvío estándar 0.44.

Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas. ($p=0.2584$)

Bilirrubina Total

Se procesaron 34 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 40 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 0.06 a 0.57, media 0.16, desvío estándar 0.11. En los animales negativos se observó un rango de 0.04 a 0.49, media 0.19, desvío estándar 0.11. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas. ($p=0.1588$)

Bilirrubina Directa

Se procesaron 30 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 33 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 0.02 a 0.17, media 0.06, desvío estándar 0.04. En los animales negativos se observó un rango de 0.03 a 0.9, media 0.11, desvío estándar 0.15. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas. ($p=0.0946$)

Bilirrubina Indirecta

Se procesaron 30 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 33 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 0.01 a 0.4, media 0.09, desvío estándar 0.09. En los animales negativos se observó un rango de 0.01 a 0.7, media 0.13, desvío estándar 0.13. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas. ($p=0.2052$)

GOT

Se procesaron 35 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 41 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 18 a 420, media 122.86, desvío estándar 72.75. En los animales negativos se observó un rango de 12 a 201, media 61.71, desvío estándar 34.81. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas. ($p < 0.0001$)

FAL

Se procesaron 35 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 40 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 40 a 424 media 151.43, desvío estándar 83.63. En los animales negativos se observó un rango de 43 a 314, media 153.9, desvío estándar 69.63. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas. ($p = 0.8893$)

GGT

Se procesaron 33 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 40 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 14 a 116, media 42.24, desvío estándar 24.56. En los animales negativos se observó un rango de 7 a 149, media 34.43, desvío estándar 24.46. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas. ($p = 0.1792$)

Proteínas Totales

Se procesaron 35 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 41 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un

rango de 3.58 a 11.4, media 7.86, desvío estándar 1.39. En los animales negativos se observó un rango de 2.59 a 9.45, media 6.49, desvío estándar 1.46. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas. ($p < 0.0001$)

Albúmina

Se procesaron 35 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 41 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 1.57 a 4.23, media 2.87, desvío estándar 0.55. En los animales negativos se observó un rango de 1.19 a 4.7, media 3.08, desvío estándar 0.78. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas. ($p = 0.1697$)

Globulinas

Se procesaron 35 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 41 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 2.01 a 7.88, media 4.99, desvío estándar 1.25. En los animales negativos se observó un rango de 1.4 a 6.11, media 3.42, desvío estándar 1.18. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas. ($p < 0.0001$)

Relación Alb/Glob

Se procesaron 35 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 41 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 0.31 a 1.56, media 0.61, desvío estándar 0.23. En los animales negativos se observó un rango de 0.37 a 2.16, media 1.0, desvío estándar 0.45. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas. ($p < 0.0001$)

Colesterol

Se procesaron 35 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 40 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 15 a 391, media 135.37, desvío estándar 93.8. En los animales negativos se observó un rango de 20 a 314, media 135.8, desvío estándar 60.62. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas. ($p=0.9816$)

Amilasa sérica

Se procesaron 34 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 41 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 15 a 155, media 60, desvío estándar 28.55. En los animales negativos se observó un rango de 10 a 82, media 38.71, desvío estándar 16.38. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas. ($p=0.0003$)

Triglicéridos

Se procesaron 35 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 41 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un rango de 10 a 96, media 27.31, desvío estándar 18.20. En los animales negativos se observó un rango de 10 a 104, media 36, desvío estándar 27.01. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas. ($p=0.1005$)

CPK

Se procesaron 35 muestras correspondientes a animales con presencia de *Fasciola hepatica* en hígado y 41 muestras correspondientes a animales sin presencia del parásito en hígado. En los animales positivos se observó un

rango de 71 a 6516, media 689.17, desvío estándar 1170.24. En los animales negativos se observó un rango de 43 a 1022, media 389.1, desvío estándar 214.59. Entre ambos grupos según el test de Student se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas. ($p=0.1434$)

Tabla 5. Resultado de bioquímica sérica.

| Parámetros | Intervalo de referencia | Muestras con presencia de <i>F. hepatica</i> | Muestras sin presencia de <i>F. hepatica</i> | Test de Student |
|-------------------------------|-------------------------|--|--|-----------------|
| Proteínas totales (g/dL) | 6.7-7.5 | 7.86±1.39 | 6.49±1.46 | 0,0001 |
| Albumina (g/dL) | 2.5-3.8 | 2.87±0.55 | 3.08±0.78. | 0,1697 |
| Globulinas (g/dL) | 3.0-3.5 | 4.99±1.25 | 3.42±1.18 | <0,0001 |
| Relación Alb/Glob | 0.45-1.31 | 0.61±0.23 | 1.0±0.45 | <0,0001 |
| Bilirrubina total (mg/dL) | Hasta 0.8 | 0.16±0.11 | 0.19±0.11 | 0,1588 |
| Bilirrubina directa (mg/dL) | Hasta 0.2 | 0.06±0.04 | 0.11±0.15 | 0,0946 |
| Bilirrubina indirecta (mg/dL) | Hasta 0.5 | 0.09±0.09 | 0.13±0.13 | 0,2052 |
| Urea (mg/dL) | 10-25 | 26.17±7.3 | 25.76±10.22 | 0,8375 |

| | | | | |
|-----------------------|---------|----------------|--------------|---------|
| Creatinina (mg/dL) | 0.5-2.2 | 1.65± 0.47 | 1.53±0.44 | 0,2584 |
| GOT (U/L) | 60-125 | 122.86±72.75 | 61.71±34.81 | <0,0001 |
| FAL (U/L) | 18-153 | 151.43±83.63 | 153.9±69.63 | 0,8893 |
| GGT (U/L) | 6-17.4 | 153.9±69.63 | 34.43±24.46 | 0,1792 |
| CPK (U/L) | 0-350 | 689.17±1170.24 | 389.1±214.59 | 0,1434 |
| Colesterol (mg/dL) | 62-193 | 135.37±93.8 | 135.8±60.62 | 0,9816 |
| Amilasa sérica (U/L) | 41-98 | 60±28.55 | 38.71±16.38 | 0,0003 |
| Triglicéridos (mg/dL) | 10-32 | 27.31±18.20 | 36± 27.01 | 0,1005 |

DISCUSIÓN

Las cargas de parásitos adultos en hígado fueron bajas, con tan sólo 3 animales con más de 50 fasciolas adultas y la mayoría con menos de 10. A causa de ello los valores pueden verse alterados a tal nivel de que no se presenten variaciones.

Los parámetros de la serie roja se mantuvieron dentro de los valores de referencias estipulados. Sin embargo, según Doaa y col., (2007), Lotfollahzadeh y col., (2008), Metanović y col., (2007) y Mussart y Coppo, (2009) los valores de hematocrito, eritrocitos y hemoglobina fueron más bajos en los animales con la presencia del parásito en hígado. A pesar de que en el presente estudio los animales parasitados tenían valores inferiores de hematocrito y eritrocitos, la magnitud de estos valores bajos no estaba por debajo de los rangos de referencia.

Llama la atención el no observar cuadros anémicos en los animales parasitados, lo cual puede deberse a la deshidratación, la cual por disminución del volumen plasmático, falsamente eleva el valor del hematocrito y/o la altitud en la que se encuentran estos animales, lo cual, fisiológicamente, produce una elevación en el número de glóbulos rojos (Reece W. O. y Swenson M. J., 2004).

En cuanto al VGM los animales positivos presentaron valores más altos que los negativos, pero ambos grupos de animales permanecen dentro de los valores de referencia, al igual que relatan Metanović y col., (2007) y Vengust y col., (2003). La presencia de valores elevados de VGM da evidencia de una mayor producción de glóbulos rojos inmaduros en sangre (Jones y Allison, 2007).

Las plaquetas también permanecen dentro de los valores de referencia sin presentar diferencias significativas entre ambos grupos, pero dado que los animales estarían en una fase crónica de la enfermedad, siendo la aguda donde se producen cuadros de hemorragia a nivel hepático (Behm, 1998).

El leucograma señaló que los animales positivos presentaron un número de leucocitos mayor que los negativos, pero estos se mantienen dentro de los valores de referencia. No se observaron las mismas alteraciones que describen Doaa, y col., (2007), Mussart y Coppo, (2009) y Vengust y col., (2003), las cuales son leucocitosis con neutrofilia, eosinofilia, linfopenia y monocitopenia. Los autores destacan la eosinofilia, la cual es normal en las parasitosis migratorias, cabe destacar que en los animales positivos había mayor número de eosinófilos pero no superaban el valor máximo de referencia como se estimó en un principio. Esto se puede deber a la baja carga parasitaria y la cronicidad de los casos, en los cuales ya ocurrió la migración intrahepática (Mussart y Coppo, 2009).

En los animales libres del parásito, las proteínas totales se mantienen dentro del rango de referencia, sin embargo, presentan valores más altos de albumina. Contrariamente los animales parasitados demostraron la presencia de valores más elevados en sus proteínas totales y globulinas, lo que conlleva a una disminución de la relación albumina/globulina, lo mismo relatan Doaa y col., (2007), Metanović y col., (2007) y Vengust y col., (2003). Los aumentos de globulinas pueden deberse a un proceso inflamatorio crónico como es el caso de fasciolosis en bovinos que produce un aumento de las inmunoglobulinas (Russell y Roussel, 2007).

Los valores de urea y creatinina se mantuvieron dentro su rango normal. Es necesario destacar que los rumiantes absorben la urea en rumen y además es parte del catabolismo proteico en el hígado, por lo que la utilidad de la urea en las enfermedades renales de los rumiantes es limitada (Russell y Roussel, 2007). Sin embargo Metanović y col., (2007) registró niveles bajos de urea y creatinina en ovinos parasitados, mientras que Doaa y col., (2007) y Vengust y col., (2003) registraron niveles elevados de urea y creatinina.

Bilirrubina total, directa e indirecta se mantuvieron dentro los rangos normales. A pesar de ello los animales negativos presentaron los valores levemente más altos de bilirrubina total que los animales positivos, la diferencia tuvo escasa

significancia estadística, mientras que en los trabajos de Doaa y col., (2007), Prache y Galtier, (1989) se describen aumentos de la bilirrubina total.

En tanto a la medición de las enzimas se observó que los animales parasitados presentaron un aumento de la GOT al igual que en los trabajos de Doaa y col., (2007) y Lotfollahzadeh y col., (2008). Tal aumento se debe a que ésta enzima se encuentra dentro de los hepatocitos y aumenta durante la presencia lesiones en el parénquima. El principal problema es que no es una enzima hepatoespecífica, ya que también se ubica en los músculos. Por ésta razón se debe medir en conjunto con la CPK para diferenciar si la patología es proveniente de hígado o musculo (Allison, 2012).

En los animales parasitados, se observó valores de GGT muy superiores en relación a los no parasitados. Esto se debe a que la enzima es liberada por las células del canalículo biliar a causa de la migración de los parásitos por el mismo (Allison, 2012; Russell y Roussel, 2007). Los autores Doaa, y col., (2007), Mussart y Coppo, (2009) y, Prache y Galtier, (1989) también relatan aumentos en los niveles séricos de GGT a causa de la migración de los trematodos en los canalículos biliares.

La FAL se mantuvo estable en los 2 grupos de animales sin haber superado el rango de referencia, mientras que Doaa y col., (2007) y Lotfollahzadeh y col., (2008) en sus trabajos relatan aumentos. Dichos valores pudieron mantenerse estables por la cronicidad de los casos. Además cabe destacar que los bovinos presentan leves aumentos de FAL en patologías que afectan el hígado (Allison, 2012).

En los trabajos revisados, en ninguno se relata medición de amilasa sérica, colesterol y triglicéridos, por lo tanto este sería el primer relato. Los resultados arrojaron que el colesterol se mantiene igual en los dos grupos de animales, triglicéridos levemente más altos en los animales sanos. Llama la atención los niveles elevados de amilasa sérica en los animales parasitados, ya que no es normal ver elevaciones de la misma en los bovinos. Esto puede ser producido

secundariamente por compresión del páncreas a causa del aumento de tamaño del hígado, por una pancreatitis donde se liberan enzimas en el abdomen y producen una hepatitis secundaria o también por obstrucción del conducto colédoco (Meuten, 2012).

Al medir CPK en ambos grupos de animales se demostró que ambos tenían un aumento de esta enzima sobre el valor máximo de referencia, lo cual se podría explicar por el viaje en camión hasta el matadero y las contusiones producidas en el transporte. Esto se puede deducir midiendo AST, porque la vida media de la CPK es inferior en comparación a ésta y disminuye al poco tiempo de producida la lesión muscular (Russell y Roussel, 2007).

CONCLUSIONES

Como era de esperar se halló la presencia de fasciolosis bovina en los animales provenientes de la región de Valle de Uco, debido a que esta es una zona endémica para esta parasitosis. Presentándose bajas cargas parasitarias y casos crónicos principalmente. Los resultados obtenidos señalaron la presencia de un proceso inflamatorio crónico, en este caso existía la presencia de colangitis principalmente.

En cuanto a la hematología se obtuvieron algunos valores distintos a los obtenidos por los diferentes autores descriptos para esta enfermedad. Se hallaron valores normales en el hematocrito, eritrocitos, hemoglobina y leucocitos, sin presentarse la característica anemia y leucocitosis con neutrofilia, eosinofilia, linfopenia y monocitopenia. Y a nivel bioquímico los animales parasitados presentan similitudes con los valores que obtuvieron algunos autores en los niveles altos de globulinas, GOT, GGT, no así con la FAL que se mantuvo estable en ambos grupos de animales. De esta manera se podría decir que tanto la hematología como la bioquímica son pruebas de laboratorio orientativas y no diagnósticas. Para diagnosticar certeramente existen pruebas de laboratorio más específicas y sensibles.

Un dato importante es que en el presente trabajo se realizó la medición de amilasa sérica y no se encontró bibliografía que relate lo mismo. Llamó la atención que los animales parasitados presentaron valores más altos de la misma que los animales libres del parásito. Esto probablemente es de gran ayuda a la hora de pedir exámenes complementarios para el diagnóstico de fasciolosis en bovinos.

BIBLIOGRAFIA

Allison R. W. (2012). Laboratory Evaluation of the Liver. En Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W., & Campbell, T. W. (eds.) *Veterinary hematology and clinical chemistry* (2nd ed.).p 401- 424. . Ames, Iowa: Wiley~Blackwell.

Andrews S.J., (1998). The life cycle of *Fasciola hepatica*. En: Dalton JP (ed) *Fasciolosis*. CAB International, New York, USA. 1-21

Behm C.A., Sangster N.C. (1998). The Pathology, Pathophysiology and Clinical Aspects. En: Dalton JP (ed) *Fasciolosis*. CAB International, New York, USA. 185-217

Carrada-Bravo, T. (2007). *Fasciola hepatica*: Ciclo biológico y potencial biótico. *Revista Mexicana de Patología Clínica*, Volumen 54.

Deis E., Mera y Sierra R., Sidoti L., Cuervo P. (2009). Epidemiology of livestock fasciolosis in Mendoza province, Argentina. Austria. FAO/IAEA International Symposium on Sustainable Improvement of Animal Production and Health. Viena, Austria. 391-392

Doaa, F. T., Soliman, E. K., & Abd Elkhalek, T. M. (2007). Effect of Fascioliasis on hematological, serum biochemical and histopathological changes in sheep. *Egyptian Journal of Sheep and Goat Sciences*. Giza, Egipto. 18–36.

Durand Savoyat M. El saguaipé. Epizootía causada por el Saguaipé vulg. *Duva* o *Fasciola* de Linnéo. *An Soc Rural Argent* 1867; 173-176.

Dwinger R.H., Le Riche P.D., Kuhne G.I.(1982) Fascioliasis in beef cattle in north-west Argentina. *Trop Anim Health Pro*; 14: 167-171.

Food and Agricultural Organization of the United Nations. (1994) *Diseases of domestic animals caused by liver flukes: epidemiology, diagnosis and control of Fasciola, paramphistome, Dicrocoelium, Eurytrema and schistosome infections*

of ruminants in developing countries. Rome: FAO. Recuperado el 10 de julio de 2015 <http://www.fao.org/wairdocs/ilri/x5492e/x5492e04.htm>

González M.S., Di Nucci D., Sidoti L., Mera y Sierra R.L., 2006. Decomiso en frigorífico de hígados provenientes de Mendoza debido a *Fasciola hepatica*. XII Jornadas de Microbiología, I Jornadas Conjuntas de Microbiología, Infectología y Alergia e Inmunología de Cuyo, III Jornadas Mendocinas de Zoonosis. 14 – 17 de junio de 2006 Mendoza, Argentina.

González, R., Pérez Ruano, M., & Brito, S. (2007). Fasciolosis bovina. Evaluación de las principales pérdidas provocadas en una empresa ganadera. *Revista de Salud Animal*, 29(3), 167–175.

Hodžić, A., Zuko, A., Avdić, R., Alić, A., Omeragić, J., & Jažić, A. (2013). Influence of *Fasciola hepatica* on Serum Biochemical Parameters and Vascular and Biliary System of Sheep Liver. *Iranian Journal of Parasitology*, 8(1), 92–98.

Hopkins D.R. (1992). Homing in on helminths. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 46, 626–634.

Hurtrez-Bousses, S.; Meunier, C.; Durand, P.; Renaud, F. 2001. Dynamics of host–parasite interactions: the example of population biology of the liver fluke (*Fasciola hepatica*). Review Article. *Microbes and Infection*, 3 (10): 841-849.

Jones, M. L., & Allison, R. W. (2007). Evaluation of the Ruminant Complete Blood Cell Count. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 23(3), 377–402.

Kaczorkiewicz A.J. (1983) Distomatosis en la provincia de Neuquén. *Rev Med Vet*; 64: 354-356.

Kahn, C. M. (2007). Rangos de referencia de Bioquímica Serica. 6ta edición. El manual merk de veterinaria. Editorial Oceano Difusion.

Kaplan, R.M. (2001). *Fasciola hepatica*: a review of the economic impact in cattle and considerations for control. *Vet. Ther.*, 2, 40-50.

Kleiman F., Pietrokovsky S., Prepelitchi L., Carbajo A.E. Wisnivesky-Colli C. (2007). Dynamics of *Fasciola hepatica* transmission in the Andean Patagonian valleys, Argentina. *Veterinary Parasitology*, 145, 274 – 286.

Lotfollahzadeh, S., Mohri, M., Bahadori, S. R., Dezfouly, M. R. M., & Tajik, P. (2008). The relationship between normocytic, hypochromic anaemia and iron concentration together with hepatic enzyme activities in cattle infected with *Fasciola hepatica*. *Journal of Helminthology*, 82(01), 85–88

Martínez-Díaz, R. A., Martella, M. B., Navarro, J. L., & Ponce-Gordo, F. (2013). Gastrointestinal parasites in greater rheas (*Rhea americana*) and lesser rheas (*Rhea pennata*) from Argentina. *Veterinary Parasitology*, 194(1), 75–78.

Metanović, K., Severin, K., Martinković, F., Simpraga, M., Janicki, Z., & Barisić, J. (2007). Hematological and biochemical changes in organically farmed sheep naturally infected with *Fasciola hepatica*. *Parasitology Research*, 101(6), 1657–1661.

Mera y Sierra R, Artigas P, Cuervo P, Deis E, Sidoti L, Mas-Coma S, Bargues MD, 2009. – Fascioliasis transmission by *Lymnaea neotropica* confirmed by nuclear rDNA and mtDNA sequencing in Argentina. *Veterinary Parasitology* 166, 73 – 79.

Mera y Sierra R., Schaten K., Martinez Avedaño E., Zumaquero Rios J.L., Espinoza Babilon J. R., Gayo V., Rojas Riero L., Gonzalez L.C. (2010). Integrated control of fascioliasis in latin america: results of an international atomic energy agency Project. XII International Congress of Parasitology. World Federation of Parasitologists

Mera y Sierra R.L., Scibilia C., Pasbt A., Irrazabal G. & Senar M. (2005). Abattoir condemnation of bovine livers due to *Fasciola hepatica* in Tupungato, Mendoza. *Biocell* 29 (3): Abstract 92, pg 317. XXIII Reunión Científica Anual 2005, Sociedad Biológica de Cuyo.

Meuten D. (2012). Laboratory Evaluation and Interpretation of the Urinary System. En Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W., & Campbell, T. W. (eds.) *Veterinary hematology and clinical chemistry* (2nd ed.).p 323- 377. . Ames, Iowa: Wiley~Blackwell.

Mussart, N. B. & Coppo J.A. (2009). Indicadores sanguíneos de daño hepático en novillos cruzados con *Fasciola hepatica*: *Revista Veterinaria* 20:2, 81 – 85.

Nari, A y Cardozo, H. (1987). Enfermedades causadas por parásitos internos. Nematodos gastrointestinales. En: Bonino, J, Durán del Campo, A y Mari, JJ. *Enfermedades de los lanares*. Editorial Hemisferio Sur. pp. 1-137. Montevideo. Uruguay

Olaechea, F. V., & Suarez, V. H. (2007). Enfermedades parasitarias de los ovinos y otros rumiantes roedores en el cono sur de América. Retrieved May 4, 2015, from <http://inta.gob.ar/documentos/enfermedades-parasitarias-de-los-ovinos-y-otros-rumiantes-roedores-en-el-cono-sur-de-america>.

Prache, S., & Galtier, P. (1989). Changes in blood bilirubin and plasma activity of gamma-glutamyl transferase in lambs experimentally infested with *Fasciola hepatica*. *Reproduction, nutrition, development*, Suppl 2, 233s–234s.

Prevention, C.-C. for D. C. and. (n.d.). CDC - *Fasciola* - Biology. Retrieved April 21, 2015, de <http://www.cdc.gov/parasites/fasciola/biology.html>

Prepelitchi L., Wisnivesky-Colli, C. (2013). *Fasciola hepatica*: Epidemiología y control en la región noreste de Argentina. Ed. Salomon D.O. *Moluscos de interés sanitario en la Argentina*. P 54-83. Editorial Puerto Iguazu.

Radin M. J. (2012). Laboratory Evaluation of Lipids. En Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W., & Campbell, T. W. (eds.) *Veterinary hematology and clinical chemistry* (2nd ed.), p 480 - 496. . Ames, Iowa: Wiley~Blackwell.

Rebak G.I., Brenn G., Sanchez S., Molina K., Cedres J.F. (2005) Hallazgos de distomatosis hepática (Fascioliasis) post mortem en Corrientes. XXVI Sesión de Comunicaciones Científicas 2005, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste. Corrientes. Resumen N° 48.

Rojo Vázquez F.A. Y Ferre Pérez I.(1999). Parasitosis hepáticas: Fasciolosis En: Cordero del Campillo M, Rojo & Vázquez FA. *Parasitología Veterinaria* 2da edición Madrid, España. 260-271

Rossanigo, C. E., Avila, J. D., Vasquez, R., & Sager, R. L. (1983). Incidencia y distribución de la Distomatosis bovina en la provincia de San Luis. Identificación del huésped intermediario. *Gac. Vet., T, XLV*, (382), 739-746.

SENASA. Anuario 2006. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, Secretaria de Agricultura, Ganadería y Pesca.

Soares, M. P., da Silva, S. S., Nizoli, L. Q., Felix, S. R., & Schild, A. L. (2007). Chronic fascioliasis in farmed and wild greater rheas (*Rhea americana*). *Veterinary Parasitology*, 145(1–2), 168–171

Taylor, El. (1965). La fascioliasis y el distoma hepático. Organización de las Naciones Unidas. Para la Agricultura y la Alimentación. Nro 64.

Reece William O. y Swenson Melvin J. (2004). Composición y funciones de la sangre. En Reece William O. (eds.). *Dukes Fisiología de los animales domésticos*, (12a ed.) p. 29 – 59. Zaragoza, España: Acribia S.A

Russell, K. E., & Roussel, A. J. (2007). Evaluation of the Ruminant Serum Chemistry Profile. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 23(3), 403–426.

Vaughan, J., Charles, J., & Boray, J. (1997). Fasciola hepatica infection in farmed emus (*Dromaius novaehollandiae*). *Australian Veterinary Journal*, 75(11), 811–813.

Vengust, G., Klinkon, M., Bidovec, A., & Vengust, A. (2003). Fasciola hepatica: effects on blood constituents and liver minerals in fallow deer (*Dama dama*). *Veterinary Parasitology*, 112(1-2), 51–61.

Weiser G. (2012). Introduction to Leukocytes and the Leukogram. En Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W., & Campbell, T. W. (eds.) *Veterinary hematology and clinical chemistry* (2nd ed.) p 118-122. Ames, Iowa: Wiley~Blackwell.

Weiss, D. J., & Wardrop, K. J. (2011). *Schalm's Veterinary Hematology* (6th ed.). 2121 State Avenue, Ames, Iowa 50014-8300, USA: John Wiley & Sons. 829-834.

Wernicke R. Informe sobre los trabajos llevados a cabo en el laboratorio para el estudio de las enfermedades contagiosas. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Buenos Aires: 1888. Informe N° 16599.

World Health Organization. (s.f.). Foodborne trematode infections

Recuperado el 8 de junio de 2015, de http://www.who.int/foodborne_trematode_infections/fascioliasis/en/