

## Detección de *Fasciola hepatica* por medio de ELISA indirecto en ovinos y caprinos de Boavita, Colombia

### Detection of *Fasciola hepatica* by indirect ELISA in sheep and goats from Boavita, Colombia

Sharon E. Cruz- Estupiñan<sup>1</sup>, Diana M. Bulla-Castañeda<sup>1\*</sup>, Deisy J. Lancheros-Buitrago<sup>1</sup>, Diego J. Garcia-Corredor<sup>1</sup>, Julio C. Giraldo Forero<sup>2,3</sup>, Martín O. Pulido-Medellín<sup>1</sup>

#### RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la seroprevalencia de *Fasciola hepatica* por medio de ELISA indirecto en ovinos y caprinos de Boavita (Boyacá, Colombia). Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal con muestreo aleatorio simple. Se colectaron 297 muestras de sangre de ovinos y 337 de caprinos de varios grupos raciales y etarios. Los sueros fueron analizados mediante la técnica ELISA indirecta con el kit comercial ELISA BIO K 211 - Monoscreen AbELISA *F. hepatica*. Adicionalmente se realizó una encuesta epidemiológica. La seroprevalencia de *F. hepatica* fue de 67.34% (200/297) en

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Medicina Veterinaria y Zootecnia – GIDIMEVETZ, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Investigación en Ecoepidemiología y Salud Colectiva, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad Militar Nueva Granada Bogotá, Colombia

<sup>3</sup> Grupo de Investigación en Parasitología y Microbiología Tropical – GIPAMT, Programa de Biología, Facultad de Ingenierías, Administración y Ciencias Básicas, Universidad INCCA de Colombia, Bogotá, Colombia

\* E-mail: [diana.bulla@uptc.edu.co](mailto:diana.bulla@uptc.edu.co)

El artículo es parte del Proyecto: «Identificación y estrategias de control de *Fasciola hepatica* en ovinos y caprinos de Boyacá» financiado por Patrimonio Autónomo Fondo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación Francisco José de Caldas

Recibido: 18 de febrero de 2023

Aceptado para publicación: 10 de septiembre de 2023

Publicado: 31 de octubre de 2023

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

ovinos y de 59.94% (202/337) en caprinos. Asimismo, la seroprevalencia fue mayor en los machos (ovinos: 77.78%, 21/27; caprinos: 63.89%, 23/36), en ovinos mayores de 3 años (83.33%, 50/60) y en caprinos menores de 1 año (69.77%, 60/86), así como en los de raza criolla (ovinos: 69.84%; caprinos: 61.79%). Los ovinos mayores de 3 años se determinaron como factor de riesgo, en tanto que en los caprinos las variables raza criolla y el pastoreo extensivo se identificaron como factores de riesgo. El estudio demuestra una alta seropositividad de la enfermedad en la zona.

**Palabras clave:** *Fasciola hepatica*, ovejas, cabras, ELISA indirecto, seroprevalencia

## ABSTRACT

The aim of this study was to determine the seroprevalence of *Fasciola hepatica* by indirect ELISA in sheep and goats from Boavita (Boyaca, Colombia). A descriptive cross-sectional study with simple random sampling was carried out. A total of 297 blood samples from sheep and 337 from goats of different breeds and age groups were collected. The sera were analyzed by the indirect ELISA technique with the commercial ELISA kit BIO K 211 - Monoscreen AbELISA *F. hepatica*. Additionally, an epidemiological survey was carried out. The seroprevalence of *F. hepatica* was 67.34% (200/297) in sheep and 59.94% (202/337) in goats. Likewise, seroprevalence was higher in males (sheep: 77.78%, 21/27; goats: 63.89%, 23/36), in sheep older than 3 years (83.33%, 50/60) and in goats less than 1 year of age. (69.77%, 60/86), as well as in Creole breed (sheep: 69.84%; goats: 61.79%). Sheep over 3 years of age were determined as a risk factor, while in goats the Creole breed variables and extensive grazing were identified as risk factors.

**Key words:** *Fasciola hepatica*, sheep, goats, indirect ELISA, seroprevalence

## INTRODUCCIÓN

*Fasciola hepatica* es un trematodo que afecta la producción en la industria ganadera (Charlier *et al.*, 2020). El ciclo de vida incluye una migración abdominal y hepática de trematodos juveniles antes de que los adultos se asienten en los conductos biliares (Beesley *et al.*, 2018). La enfermedad puede ser (sub)aguda, con reducción de la ingesta de alimento, letargo, anemia y muerte súbita, o crónica la cual se asocia con pérdida de peso, menor respuesta productiva, pudiendo además asociarse con fallas reproductivas secundarias (Munita *et al.*, 2019).

Clínicamente, la fasciolosis se considera una enfermedad debilitante crónica; sin embargo, en el ovino es más frecuente la enfermedad aguda o subaguda (Hayward *et al.*, 2021), debido a una menor resistencia a este parásito, lo cual posibilita una mayor infestación y daño hepático, causando muerte súbita en estos animales (Munita *et al.*, 2019). Por otro lado, la infección en el caprino generalmente evoluciona como una enfermedad crónica, aunque pueden ocurrir casos de fasciolosis subaguda y aguda con altas tasas de mortalidad (Hashemnia *et al.*, 2015; Radostis *et al.*, 2017). En general, la función hepática comprometida conduce a trastornos del metabolismo de carbohidratos, proteínas

y grasas, lo que afecta la salud, el bienestar y la productividad de las ovejas y cabras infectadas (Sargison y Scott, 2011; Rokni, 2014).

Otro inconveniente con la fasciolosis es que es una enfermedad subdiagnosticada, ya que el método más usado es la identificación de huevos en las heces, técnica que solo permite identificar infecciones con presencia del parásito en fase adulta, por lo que la sensibilidad es limitada (Davies Calvani *et al.*, 2018). Por otro lado, pruebas más sensibles como la detección de anticuerpos permiten detectar infecciones más recientes, pero dan títulos positivos durante varias semanas después del tratamiento, mientras que la detección de coproantígenos puede detectar infecciones antes que se puedan observar huevos en las heces, pero tiene un rendimiento variable, además del alto costo de la prueba (Howell y Williams, 2020). Ante esto, la detección de anticuerpos anti-*F. hepatica* específicos en muestras de suero con la técnica de ELISA es un método adecuado para el diagnóstico precoz de la infección (Afshan *et al.*, 2013).

En Colombia existen muy pocos estudios en ovejas y cabras sobre el diagnóstico de *F. hepatica* (Pulido-Medellín *et al.*, 2014; Sierra *et al.*, 2018; Pinilla *et al.*, 2019), además del deficiente control de la enfermedad en explotaciones de pequeños rumiantes. Ante esto, el objetivo del presente estudio fue detectar *F. hepatica* por medio de la técnica de ELISA indirecto pequeños rumiantes de Boavita, Boyacá, Colombia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Lugar de Estudio

La investigación se llevó a cabo en el municipio de Boavita, departamento de Boyacá, Colombia. La zona (dependiendo de la altitud 1300-3000 msnm) presenta climas templado seco, húmedo y frío húmedo con temperatura ambiental entre 6 y 24 °C y precipitación pluvial de 1200 a 2000 mm (Alcaldía de Boavita, 2021).

### Tamaño de la Muestra

El municipio de Boavita registra 1350 ovinos y 2750 caprinos (ICA, 2020), de modo que se consideró un tamaño muestral de 638 animales (297 ovinos y 337 caprinos), tomando en cuenta un error del 5%, nivel de confianza del 95% y tasa de prevalencia esperada del 50%.

### Material Biológico

Se colectaron muestras de sangre (7 ml) mediante venopunción de la yugular utilizando tubos al vacío sin anticoagulante (Vacutainer tapa roja). Las muestras fueron llevadas al Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC) donde fueron centrifugadas a 2500 rpm durante 10 min para la obtención del suero (Figueiredo Marques *et al.*, 2017). La determinación de anti-cuerpos contra *F. hepatica* se realizó con el kit comercial ELISA BIO K 211 - Monoscreen AbELISA *F. hepatica* (Bio-X Diagnostics, Bélgica), siguiendo las indicaciones del laboratorio fabricante.

### Variables

Las variables evaluadas fueron clasificadas en variables de manejo: tipo de pastoreo (extensivo, en estaca, rotacional, o mixto [extensivo rotacional]), fuente de agua para el consumo de los animales (acueducto, caño o quebrada), signos clínicos (diarrea), presencia de otras especies (bovinos), presencia de caracoles acuáticos del género *Lymnaea*; así como en variables relacionadas con el animal: sexo, grupo etario (<1, 1-3, >3 años) y raza.

### Análisis Estadístico

El estudio es de tipo descriptivo de corte transversal. Se trabajó como un muestreo aleatorio simple, donde los animales fueron seleccionados al azar. Los datos epidemiológicos fueron procesados con el programa EpiInfo®. Los factores determinantes fueron

Cuadro 1. Seroprevalencia de *Fasciola hepatica* determinada mediante la técnica de ELISA indirecto según el sexo, grupos etarios y razas en ovinos y caprinos de Boavita (Boyacá, Colombia)

		n	Positivos a <i>F. hepática</i> (n)	Prevalencia (%)	
Ovinos	Sexo	Hembras	270	179	66.30
		Machos	27	21	77.78
		Promedio			72.04
	Grupo etario	<1 año	75	53	70.67
		1-3 años	162	97	59.88
		>3 años	60	50	83.33
		Promedio			71.30
	Raza	Criolla	189	132	69.84
		Camura	71	46	64.79
		Mora	37	22	59.46
		Promedio			64.69
	Caprinos	Sexo	Hembras	301	179
Machos			36	23	63.89
Promedio					61.70
Grupo etario		<1 año	86	60	69.77
		1-3 años	169	86	50.89
		>3 años	82	56	68.29
		Promedio			59.65
Raza		Criolla	280	173	61.79
		Alpina	32	17	53.13
		Nubiana	25	12	48.00
		Promedio			54.30

determinados mediante la Razón de Prevalencia (RP). La variable dependiente (Y) incluyó los resultados serológicos y las variables independientes (X) fueron los factores incluidos en la encuesta epidemiológica aplicada durante la toma de muestras. La asociación entre las variables y los resultados obtenidos se realizó con la prueba exacta de Fisher (Martinez *et al.*, 2017). Los valores de RP que fueron superiores a 1 (intervalo de confianza inferior LCI 95% <1) y con

$p < 0.05$  se consideraron factores de riesgo, mientras que los valores de PR inferiores a 1 (intervalo de confianza superior UCI 95% <1) y con  $p < 0.05$  se consideraron factores de protección. Una vez establecidos estos factores, se realizó una regresión logística estratificada para probar la confusión e identificar la interacción simultánea entre las variables significativamente asociadas con fasciolosis (Martin *et al.*, 1997).

**RESULTADOS**

La seroprevalencia general de *F. hepatica* fue de 67.34% (200/297) en ovinos y de 59.94% (202/337) en caprinos. Asimismo, la seroprevalencia fue mayor en los machos (ovinos: 77.78%. 21/27; caprinos: 63.89%, 23/36), en ovinos mayores de 3 años (83.33%, 50/60) y en caprinos menores de 1 año (69.77%, 60/86), así como en los de raza criolla (ovinos: 69.84%; caprinos: 61.79%) (Cuadro 1).

Se aplicó Razón de Prevalencias (RP) como medida de asociación. Una  $RP > 1$  indica un mayor riesgo o posible factor de riesgo, mientras que una  $RP < 1$  sugiere un menor riesgo a los individuos expuestos o posible factor de protección. La edad de ovinos fue un factor significativo, donde los anima-

les mayores de 3 años ( $RP = 2.2025$ ,  $p=0.002$ ) y el pastoreo extensivo ( $RP = 1.3659$ ,  $p=0.043$ ) son posibles factores de riesgo, mientras que el grupo etario de 1-3 años ( $RP = 0.5908$ ,  $p=0.002$ ) es un posible factor de protección (Cuadro 2).

En cuanto los caprinos, la raza criolla ( $RP = 1.8098$ ,  $p=0.001$ ) es un posible factor de riesgo, mientras que las razas Alpina ( $RP = 0.6225$ ,  $p=0.034$ ) y Nubiana ( $RP = 0.5609$ ,  $p=0.018$ ) son posibles factores de protección. Respecto al pastoreo, el pastoreo extensivo ( $RP = 1.4162$ ,  $p=0.037$ ) se identificó como un posible factor de riesgo (Cuadro 3).

Los posibles factores de riesgo se analizaron mediante regresión logística, estableciéndose como factores de riesgo los ovinos  $> 3$  años y los caprinos de raza criolla y aquellos bajo pastoreo extensivo (Cuadro 4).

Cuadro 2. Posibles factores de riesgo asociados con las infecciones de fasciolosis en ovinos de Boavita (Boyacá, Colombia)

Variable	Categoría	Razón de prevalencia (RP)	Intervalo de confianza al 95%	p-valor
Raza	Criolla	1.2281	0.8847-1.7047	0.139
	Camura	0.9048	0.6258-1.3081	0.349
	Mora	0.7779	0.5064-1.1951	0.182
Edad (años)	<1	1.1517	0.7746-1.7124	0.287
	1-3	0.5908	0.4137-0.8437	<b>0.002</b>
	>3	2.2025	1.2209-3.9733	<b>0.002</b>
Sexo	Hembra	0.6593	0.3193-1.3617	0.159
	Macho	1.5167	0.7344-3.1323	0.159
Pastoreo	Extensivo	1.3659	0.9742-1.9152	<b>0.043</b>
	Rotacional	0.8973	0.6362-1.2656	0.315
	Extensivo-rotacional	0.8973	0.6362-1.2656	0.315
Fuente de agua	Acueducto	0.7951	0.5550-1.1391	0.126
	Caño/quebrada	1.2193	0.8413-1.7671	0.175
	Nacimiento	1.3193	0.4883-3.5643	0.410
Diarrea		1.2335	0.6405-2.3757	0.339
Presencia de bovinos		0.8943	0.6286-1.2722	0.315
Presencia de caracoles		0.7503	0.4004-1.4061	0.287

Cuadro 3. Posibles factores de riesgo asociados con las infecciones de fasciolosis en caprinos de Boavita (Boyacá, Colombia)

Variable	Categoría	Razón de prevalencia (RP)	Intervalo de confianza al 95%	p-valor
Raza	Criolla	1.8098	1.3056-2.5087	<b>0.001</b>
	Alpina	0.6225	0.4139-0.9363	<b>0.034</b>
	Nubiana	0.5609	0.3706-0.8489	<b>0.018</b>
Edad (años)	<1	1.029	0.7099-1.4884	0.499
	1-3	1.006	0.7308-1.3848	0.532
	>3	0.9647	0.6680-1.3932	0.475
Sexo	Hembra	1.1944	0.7486-1.9057	0.293
	Macho	0.8372	0.5247-1.3357	0.293
Pastoreo	Extensivo	1.4162	1.0103-1.9853	<b>0.037</b>
	Rotacional	0.6455	0.3665-1.1369	0.143
	Extensivo-rotacional	0.7628	0.5272-1.1039	0.111
Fuente de agua	Acueducto	0.8303	0.5672-1.2154	0.200
	Caño/quebrada	0.8911	0.6024-1.3181	0.335
	Nacimiento	0.8372	0.5247-1.3357	0.156
Diarrea		0.507	0.2434-1.0563	0.173
Presencia de bovinos		1.3648	0.8610-2.1634	0.107
Presencia de caracoles		1.1593	0.6653-2.0202	0.371

## DISCUSIÓN

Los resultados indican una mayor prevalencia de fasciolosis en ovinos que en caprinos, datos que concuerdan con el estudio de Oljira *et al.* (2022) en Etiopía quienes encontraron más ovejas con el parásito en el hígado que en cabras (Oljira *et al.*, 2022), así como en los estudios de Khanjari *et al.* (2014) y Ezatpour *et al.* (2015) en animales beneficiados en Irán. No obstante, en un estudio en México realizado por serología se encontraron seroprevalencias inferiores a las del presente estudio, siendo ligeramente mayores en caprinos (40.4%) que en ovinos (32.3%) (Munguía-Xóchihua *et al.*, 2007).

La diferencia en las tasas de prevalencia entre ovinos y caprinos puede deberse al diferente comportamiento alimentario. Las metacercarias se ubican en las puntas de las hierbas (Mohammed *et al.*, 2020), lo que hace más probable que el ganado ovino en pastoreo ingiera metacercarias de trematodos

que las cabras, especie que prefieren ramonear en lugar de pastar (Jacquiet *et al.*, 1992; Alstedt *et al.*, 2022). Esto además explica que la infección crónica es más común en cabras que en ovejas, ya que la fasciolosis crónica se desarrolla más lentamente después de la ingestión de un bajo número de metacercarias durante periodos largos, en tanto que los ovinos tienden a ingerir altas cantidades de metacercarias por el tipo de comportamiento alimentario, lo cual genera una infección aguda (Kahl *et al.*, 2021).

Si bien no hay muchos reportes de trabajos de fasciolosis mediante serología en pequeños rumiantes, los resultados de seroprevalencia del presente estudio fueron superiores al 50%, lo cual es bastante mayor a las presentadas en otros trabajos donde se usó también ELISA indirecto como diagnóstico. Así, Pinilla *et al.* (2019) reportaron seroprevalencias del 29.9% en ovejas en Colombia, Pérez-Creo *et al.* (2016) de 25.3% en España, y Utuk *et al.* (2012) de 16.2% en Turquía.

Cuadro 4. Análisis de las variables como posibles factores de riesgo de *F. hepatica* en ovinos y caprinos de Boavita (Boyacá, Colombia)

Especie	Variable	OR	I.C.S	I.C.I	p-valor
Ovinos	>3 años	2.8729	1.3841	5.9629	<b>0.005</b>
Caprinos	Criolla	2.3553	1.2574	4.4115	<b>0.008</b>
	Extensivo	1.2687	0.7062	2.2794	0.426

I.C.S.: Intervalo de confianza superior; I.C-I: Intervalo de confianza inferior

Los machos fueron los más sero-positivos en este trabajo; sin embargo, el sexo no se estableció como factor de riesgo. Si bien algunos estudios indican que los machos son más susceptibles en comparación con las hembras, posiblemente por diferencias en el manejo de estos en las producciones de pequeños rumiantes (Mir *et al.*, 2013; Raza *et al.*, 2013), en general se acepta que las hembras suelen ser más susceptibles por el estrés de la preñez, donde se compromete su sistema inmune, haciéndolas más susceptibles a infecciones parasitarias (Magaji *et al.*, 2014; Najib *et al.*, 2020). Es importante destacar que, en este estudio, la población de machos era considerablemente más pequeña en comparación con el número de hembras muestreadas, lo que podría haber influido en la tasa de seroprevalencia y en la detección de un posible factor de riesgo asociado al sexo.

El grupo etario en ovinos >3 años fue identificado como factor de riesgo, lo que concuerda con Rizwan *et al.* (2022) quienes encontraron una mayor incidencia de fasciolosis en animales adultos que en animales jóvenes, explicado por un mayor compromiso inmunitario del huésped, el contacto prolongado con los agentes infecciosos y la larga etapa inactiva en el huésped final (alrededor de 5 a 6 meses) (Hassan *et al.*, 2019). No obstante, en los caprinos ocurrió algo diferente, y es que los animales <1 año fueron los más seropositivos, aunque sin llegar a identificar la edad como factor de riesgo. En este

caso, es posible que una mayor tasa de infección en los animales más jóvenes podría deberse al bajo nivel de desarrollo de la inmunidad en esa etapa de vida (Rizwan *et al.*, 2016).

Por otro lado, Boavita es una zona propicia con factores ambientales como la temperatura, la luz, la vegetación, la profundidad del agua, y la composición del suelo que permite la supervivencia de grandes poblaciones de caracoles competentes, facilitando el ciclo de vida del parásito, lo cual explicaría que se haya encontrado un alto nivel de seroprevalencia (Zerna *et al.*, 2021). Es importante recordar que la dinámica de este parásito depende de tres factores principales para completar su ciclo epidemiológico: disponibilidad de hábitat adecuado para los caracoles, condiciones de temperatura y humedad ambiental para el crecimiento y desarrollo de formas evolutivas, y la presencia del caracol (Munguía-Xóchihua *et al.*, 2007; Pinilla *et al.*, 2019).

En esta investigación el pastoreo extensivo fue establecido como factor de riesgo en caprinos y ovinos, lo cual es interesante, si se considera que las cabras tienden a ramonear en lugar de pastorear. No obstante, se dispone de estudios que cabras al pastoreo tienden a infectarse con *F. hepatica*, especialmente cuando no se realiza una adecuada rotación de las praderas (Olsen *et al.*, 2015; Pilarczyk *et al.*, 2021).

En cuanto a los caprinos la raza criolla se identificó como factor de riesgo, lo cual concuerda con otros estudios que han evidenciado diferencias en la susceptibilidad a la infección por *Fasciola hepatica* entre diferentes razas de animales. Sin embargo, algunas investigaciones han sugerido que las razas autóctonas pueden manifestar una cierta resistencia natural al parásito, lo que se refleja en una menor carga parasitaria. En particular, se ha observado que la raza Cabra Galega presenta valores de seroprevalencia más bajos en comparación con otras razas (Pérez-Creo *et al.*, 2016). A pesar de esto, la raza criolla es más predominante en la zona lo que podría haber aumentado la probabilidad de detectar seropositivos, influyendo posiblemente en su identificación como factor de riesgo. Es por esto que se requieren investigaciones adicionales para comprender la asociación observada en este estudio y su aplicabilidad en otras poblaciones o condiciones ambientales.

#### CONCLUSIONES

- La seroprevalencia general de *F. hepatica* fue de 67.34% (200/297) en ovinos y de 59.94% (202/337) en caprinos.
- La seroprevalencia fue mayor en los machos (ovinos: 77.78%, 21/27; caprinos: 63.89%, 23/36), en ovinos mayores de 3 años (83.33%, 50/60) y en caprinos menores de 1 año (69.77%, 60/86), así como en los de raza criolla (ovinos: 69.84%; caprinos: 61.79%)
- Los ovinos mayores de 3 años se determinaron como factor de riesgo mientras que en las cabras la variable de raza criolla se identificó como factor de riesgo.

#### LITERATURA CITADA

1. **Afshan K, Qayyum M, Rizvi SSR, Mukhtar M, Mushtaq M, Miller JE. 2013.** Serological and coprological comparison for rapid diagnosis of *Fasciola hepatica* infection in small ruminants from sub-tropical area of Pakistan. *Small Ruminant Res* 113: 267-272. doi: 10.1016/J.SMALLRUMRES.-2013.01.020
2. **Alcaldía de Boavita. 2021.** Municipio de Boavita. Gobierno de Colombia. [Internet]. Disponible en: <http://www.boavita-boyaca.gov.co/tema/municipio>
3. **Alstedt U, Voigt K, Jüger MC, Knubben-Schweizer G, Zablotzki Y, Strube C, Wenzel C. 2022.** Rumen and liver fluke infections in sheep and goats in northern and southern Germany. *Animals* 12: 876. doi: 10.3390/ANI12-2070876
4. **Beesley NJ, Caminade C, Charlier J, Flynn RJ, Hodgkinson JE, Martinez-Moreno A, Martinez-Valladares M, et al. 2018.** Fasciola and fasciolosis in ruminants in Europe: identifying research needs. *Transbound Emerg Dis* 65: 199-216. doi: 10.1111/tbed.12682
5. **Charlier J, Rinaldi L, Musella V, Ploeger HW, Chartier C, Vineer HR, Hinney B, et al. 2020.** Initial assessment of the economic burden of major parasitic helminth infections to the ruminant livestock industry in Europe. *Prev Vet Med* 182: 105103. doi: 10.1016/J.PREVETMED.2020.105103
6. **Davies Calvani N, George D, Windsor P, Bush R, Šlapeta J. 2018.** Comparison of early detection of *Fasciola hepatica* in experimentally infected Merino sheep by real-time PCR, coproantigen ELISA and sedimentation. *Vet Parasitol* 251: 85-89. doi: 10.1016/j.vetpar.2018.01.004
7. **Ezatpour B, Hasanvand A, Azami M, Anbari K, Ahmadpour F. 2015.** Prevalence of liver fluke infections in slaughtered animals in Lorestan, Iran. *J Parasit Dis* 39: 725. doi: 10.1007/S12639-014-0428-4
8. **Figueiredo Marques G, Pompei JCA, Martini M. 2017.** Manual veterinario de toma y envío de muestras 2017. Brasil: Panaftosa. 218 p.

9. **Martinez BA, Leotti V, Silva GS, Nunes L, Machado G, Corbellini L. 2017.** Odds ratio or prevalence ratio? an overview of reported statistical methods and appropriateness of interpretations in cross-sectional studies with dichotomous outcomes in veterinary medicine. *Front Vet Sci* 4: 193. doi: 10.3389/fvets.2017.00193
10. **Hashemnia M, Rezaei F, Nikousefat Z, Ghashghaii A. 2015.** Acute caprine fasciolosis: a case with unusual migration to lung. *J Parasit Dis* 39: 514. doi: 10.1007/S12639-013-0387-1
11. **Hassan MM, Hoque MA, Islam SKMA, Khan SA, Roy K, Banu Q. 2019.** A prevalence of parasites in black bengal goats in Chittagong, Bangladesh. *Int J Livestock Prod* 2: 40-44.
12. **Hayward AD, Skuce PJ, McNeilly TN. 2021.** The influence of liver fluke infection on production in sheep and cattle: a meta-analysis. *Int J Parasitol* 51: 913-924. doi: 10.1016/j.ijpara.2021.-02.006
13. **Howell AK, Williams DJL. 2020.** The epidemiology and control of liver flukes in cattle and sheep. *Vet Clin N Am-Food A* 36: 109-123. doi: 10.1016/j.cvfa.-2019.12.002
14. **[ICA] Instituto Colombiano Agropecuario. 2020.** Censo Pecuario Nacional año 2020. [Internet]. Disponible en: <https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/epidemiologia-veterinaria/censos-2016/censo-2018.aspx>
15. **Jacquiet P, Cabaret J, Colas F, Dia ML, Cheikh D, Thiam A. 1992.** Helminths of sheep and goats in desert areas of south-west Mauritania (Trarza). *Vet Res Commun* 16: 437-444. doi: 10.1007/BF01839021
16. **Kahl A, Samson-Himmelstjerna G, Krücken J, Ganter M. 2021.** Chronic wasting due to liver and rumen flukes in sheep. *Animals* 11: 549. doi: 10.3390/ani11020549
17. **Khanjari A, Bahonar A, Fallah S, Bagheri M, Alizadeh A, fallah M, Khanjari Z. 2014.** Prevalence of fasciolosis and dicrocoeliosis in slaughtered sheep and goats in Amol Abattoir, Mazandaran, northern Iran. *Asian Pac J Trop Dis* 4: 120-124. doi: 10.1016/S2222-1808(14)60327-3
18. **Magaji AA, Ibrahim K, Salihu MD, Saulawa MA, Mohammed AA, Musawa AI. 2014.** Prevalence of fascioliasis in cattle slaughtered in Sokoto metropolitan Abattoir, Sokoto, Nigeria. *Adv Epidemiol* 2014: 247258. doi: 10.1155/2014/247258
19. **Martin SW, Meek AH, Willebreg P. 1997.** *Veterinary epidemiology: Principles and methods.* Acribia. 300 p.
20. **Mir M, Chisht MZ, Rashid M, Dar S, Katoch R, Mehraj M, Dar M, et al. 2013.** The epidemiology of caprine fascioliasis in Jammu India. *Int J Food Agric Vet Sci* 3: 233-237. doi: 10.1007/S12639-013-0264-Y/METRICS
21. **Mohammed AS, Animum G, Urge M, Assefa G 2020.** Grazing behavior, dietary value and performance of sheep, goats, cattle and camels co-grazing range with mixed species of grazing and browsing plants. *Vet Anim Sci* 10: 100154. doi: 10.1016/J.VAS.2020.-100154
22. **Munguía-Xóchihua JA, Ibarra-Velarde F, Ducoing-Watty A, Montenegro-Cristino N, Quiroz-Romero H. 2007.** Prevalence of *Fasciola hepatica* (ELISA and fecal analysis) in ruminants from a semi-desert area in the northwest of Mexico. *Parasitol Res* 101: 127-130. doi: 10.1007/S00436-006-0438-Y/TABLES/2
23. **Munita MP, Rea R, Martinez-Ibeas AM, Byrne N, McGrath G, Munita-Corbalan LE, Sekiya M, et al. 2019.** Liver fluke in Irish sheep: prevalence and associations with management practices and co-infection with rumen fluke. *Parasite Vectors* 12: 525. doi: 10.1186/s13071-019-3779-y.
24. **Najib MA, Izani NJN, Amilah WAWWN, Faez AM, Shafizol Z. 2020.** A scoping review of the prevalence of fascioliasis in Malaysia and risk factors for infection. *Malays J Med Sci* 27: 22-36. doi: 10.21315/MJMS2020.27.1.3

25. **Oljira W, Mideksa B, Mekonnen G, Kebebew G, Jorga E. 2022.** Fasciolosis in sheep and goats slaughtered at abattoirs in Central Ethiopia and associated financial losses. *Food Water-borne Parasitol* 28: e00173. doi: 10.1016/j.fawpar.2022.e00173
26. **Olsen A, Frankena K, Bødker R, Toft N, Thamsborg SM, Enemark HL, Halasa T. 2015.** Prevalence, risk factors and spatial analysis of liver fluke infections in Danish cattle herds. *Parasite Vectors* 8: 160. doi: 10.1186/s13071-015-0773-x
27. **Pérez-Creo A, Díaz P, López C, Béjar JP, Martínez-Sernández V, Panadero R, Díez-Baños P, et al. 2016.** *Fasciola hepatica* in goats from north-western Spain: risk factor analysis using a capture ELISA. *Vet J* 208: 104-105. doi: 10.1016/j.tvjl.2015.07.033.
28. **Pilarczyk B, Tomza-Marciniak A, Pilarczyk R, Bombik E, Seremak B, Uda<sup>3</sup>a J, Sadowska N. 2021.** A comparison of the prevalence of the parasites of the digestive tract in goats from organic and conventional farms. *Animals* 11: 2581. doi: 10.3390/ani11-092581
29. **Pinilla León JC, Delgado NU, Florez AA. 2019.** Prevalence of gastrointestinal parasites in cattle and sheep in three municipalities in the Colombian Northeastern Mountain. *Vet World* 12: 48-54. doi: 10.14202/vetworld.2019.48-54
30. **Pulido-Medellín M, García-Corredor D, Diaz-Anaya A, Andrade-Becerra R. 2014.** Pesquisa de parásitos gastro-intestinales en pequeñas explotaciones ovinas del municipio de Toca, Colombia. *Rev Salud Anim* 36: 65-69. doi: 10.3201/EID1112.040789
31. **Radostis O, Gay C, Blood D, Hinchcliff. 2017.** *Medicina Veterinaria*. 9° ed. Vol I. McGraw Hill.
32. **Raza MA, Ayaz MM, Murtaza S, Akhtar M. 2013.** Prevalence of git helminths in cattle at the vicinities of Tehsil jatoi, Punjab. *Pak J Sci* 25: 305-309.
33. **Rizwan H, Bhutta M, Khan M, Saquib M. 2016.** Seroepidemiology of goat fascioliasis in district Sargodha, Punjab, Pakistan based on excretory secretory antigens of the indigenous strains of *Fasciola gigantica*. *Rev Med Vet* 216: 10-17.
34. **Rizwan HM, Sajid MS, Abbas H, Khan MN, Akram Q, Shamim A. 2022.** Epidemiology, burden and seasonal variation of fasciolosis determined through faecal examination and excretory/secretory antigens-based ELISA. *J Hell Vet Med Soc* 72: 3449-3454. doi: 10.12681/jhvms.29394
35. **Rokni MB. 2014.** Helminth-trematode: *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica*. In: *Encyclopedia of Food Safety*, Vol 2. p 140-145. Elsevier.
36. **Sargison ND, Scott PR. 2011.** Diagnosis and economic consequences of triclabendazole resistance in *Fasciola hepatica* in a sheep flock in south-east Scotland. *Vet Rec* 168: 159. doi: 10.1136/vr.c5332
37. **Sierra C, Portillo J, Tafur G, Martinez-Rodríguez L. 2018.** Incidencia de fasciolosis ovina y caprina en el norte del Cesar y sur de La Guajira. *REDVET* 19(3). [Internet]. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030318.html>
38. **Utuk AE, Simsek S, Koroglu E. 2012.** A comparison of faecal examination, commercial ELISA kit, and indirect-ELISA methods in the diagnosis of sheep fasciolosis. *Small Ruminant Res* 107: 164-166. doi: 10.1016/j.smallrumres.-2012.05.006
39. **Zerna G, Spithill TW, Beddoe T. 2021.** Current status for controlling the overlooked caprine fasciolosis. *Animals* 11: 1819. doi: 10.3390/ANI11061819