

## Comparación de métodos de diagnóstico para *Fasciola hepática* en el matadero de Chiquinquirá (Boyacá)

### Comparison of diagnosis methods for *Fasciola hepatica* at Chiquinquirá's slaughterhouse

Milton Eduardo García Murillo<sup>1</sup>, Sara Judith Granados Hurtado<sup>2</sup>,  
Martín Orlando Pulido Medellín<sup>3</sup> y Roy José Andrade Becerra<sup>4</sup>

#### Resumen

La Fasciolosis hepática es una enfermedad parasitaria que afecta los conductos biliares de rumiantes, cerdos, equinos, conejos y otros herbívoros, así como al hombre, por lo cual es una enfermedad zoonótica. Su agente etiológico es la *Fasciola hepática*, un trematodo propio del hígado; su distribución es mundial, limitada a zonas de clima frío y templado en los trópicos y subtrópicos en regiones inundables con pH ligeramente ácido. Su mayor importancia radica en el impacto económico que ocasiona en la ganadería de todo el país, debido a la disminución de parámetros zootécnicos y de los decomisos de hígados afectados al momento del sacrificio. La metodología general del presente trabajo consistió en comparar los métodos de diagnóstico para *F. hepática* en el matadero de Chiquinquirá (Boy), mediante las pruebas Dennis para

#### Abstract

Fascioliasis is a parasitic disease of the biliary ducts in ruminants, swine, equine, rabbits, and other herbivores, equally affects humans because it is a zoonotic disease. Its etiologic agent is *Fasciola hepatica*, a flatworm trematode. Its distribution is Worldwide and it is limited to cold and mid weather in flooding tropic and sub-tropic areas with slightly low pH. That disease has a great impact in the animal husbandry, because it reduces the production parameters (in terms of quality) and for sanities risks the livers infected must be discarded. The methodology used was comparing the diagnostic methods used in the slaughterhouse, through Dennis tests for detection of eggs and ELISA for detection of specific antigens, and post-mortem inspection. Variables as sex, age and breed were observed. The most significant result was that with the

<sup>1</sup> Médico Veterinario Zootecnista. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja. Correo: miledu\_12@hotmail.com

<sup>2</sup> Médico Veterinario Zootecnista. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja. Correo: sarajudithpij@gmail.com

<sup>3</sup> Profesor ocasional, programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja. Correo: mopm3@yahoo.com

<sup>4</sup> Profesor titular, programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja. Correo: royandrade@yahoo.com

diagnóstico de *huevos en heces* y ELISA para detección de antígenos específicos de *F. hepática* e inspección post mortem en matadero; así mismo, se tuvieron en cuenta factores como sexo, raza y edad. El resultado más significativo fue la edad en las distintas pruebas, presentándose que a mayor edad mayor número de animales infectados por *F. hepática*, con la técnica ELISA como la más adecuada y confiable.

**Palabras claves:** ELISA, trematodo, hígado, antígeno.

distinct test, as more age more positive samples were obtained. *The most adequate and reliable test is ELISA.*

**Keywords:** ELISA test, trematode, liver, antigen.

## Introducción

La Fasciolosis o Distomatosis hepática es una enfermedad parasitaria que se debe a la presencia y acción del trematodo *Fasciola hepática* en el parénquima y conductos biliares de bovinos, ovinos, caprinos, cerdos, equinos, conejos, venados, otros animales silvestres y hombres (Quiroz, 2002). Pueden también existir formas erráticas en pulmón, ojo, tejido subcutáneo, cerebro, músculos y otros tejidos.

La *Fasciola hepática* es también conocida como *Duela hepática*, mariposa del hígado, distomatosis, palomilla del hígado y gusano del hígado. Esta parasitosis es de distribución cosmopolita y ataca las ganaderías de clima frío principalmente, donde existen las características climáticas necesarias para la estadía del caracol intermediario y el desarrollo de los estadios del parásito. Se ha estimado que en el mundo hay más de 300 millones de bovinos y 250 millones de ovinos que están expuestos a esta parasitosis (Herculano, 2003), pero es en América Latina donde han ocurrido los mayores casos; se encuentran estudios que señalan su presencia en México, pasando por Centro América, como en Costa Rica, y en sur América, tal como en Colombia, Venezuela, Chile, Perú, Bolivia, Ecuador, Brasil, Argentina, Uruguay y Paraguay.

En Colombia se estima una prevalencia de *F. hepática* del 25% en bovinos (Becerra, 2001), con estudios que demuestran mayor incidencia en zonas entre los 1500 y 3000 msnm. En el país, las pérdidas económicas debidas a tratamientos y control de animales infectados con *F. hepática* son de 12.483 millones de pesos anuales. Sin embargo, el principal problema radica en el mal diagnóstico de esta enfermedad, ya que sólo es basado en sintomatología; además, las pruebas de laboratorio específicas para *F. hepática* se dejan de lado en la mayoría de los casos, lo que lleva a tratamientos erróneos que dificultan su control y posible erradicación.

En cuanto el diagnóstico de *F. hepática*, el método más usado y más práctico es la detección de *huevos* del parásito en materias fecales, con base en su concentración para ser visualizados al microscopio; también en la flotación, sedimentación o en el tamizado de materia fecal y son los recomendados para diagnóstico de fasciolosis crónica. Otro método consiste en la detección de fasciolas durante la necropsia, que es el utilizado en las plantas de sacrificio y procedimientos de análisis bioquímico en sangre y pruebas inmunológicas.

A través de la historia, el diagnóstico de fasciolosis hepática se ha realizado mediante métodos de coprología cualitativa que son técnicas que sólo revelan la presencia de parásitos o sus *huevos* en materias fecales. Las características que debe tener cualquier método coproparasitoscopico comprenden: polivalencia, sensibilidad, fácil ejecución y resultados confiables. La mayoría de los *helminos* liberan sus *huevos* en el intestino; por esto es de gran uso, para diagnóstico de las infestaciones parasitarias, la coprología microscópica, cuyas técnicas son en general muy sencillas pero requieren de rigurosidad para evitar la emisión de resultados falsos (Morales y Pino, 2004). El análisis coprológico cuantitativo, a pesar de sus limitaciones, continúa siendo la herramienta fundamental en el diagnóstico de la *helmintosis* gastrointestinal de los bovinos, debido a su practicidad y bajo costo (Moran et al., 1993).

La Prueba de DENNIS fue utilizada desde 1954, como método tradicional, para la detención de *huevos* de *F. hepática*; es de frotis directo y se utiliza para el diagnóstico de amebiasis, giardiasis, balantidiasis, histomoniasis y trichomoniasis intestinales, entre otras enfermedades; esta prueba brinda una sensibilidad de 50% y una especificidad del 95% para la detección de *huevos* de *F. hepática*. El inconveniente de esta técnica está dado por el ciclo de vida de *F. hepática*, pues diagnostica la

presencia del parásito en el *hospedero* después de 8 a 12 semanas pos infección, tiempo que tarda la *F. hepática* para convertirse en adulta y eliminar *huevos* (Torrel, 1997).

Esta técnica se realiza de la siguiente manera: se pesan 2 g de materia fecal y se depositan en un recipiente con capacidad de 100 mL, se agrega lentamente 25 mL de solución detergente, luego se homogeniza con un *baja lenguas*, se filtra la muestra a través de un tamiz fino dentro de un embudo y se colecta el filtrado en un tubo de ensayo de 50 mL. Se enjuaga el recipiente que contenía la suspensión con solución detergente y se vacía a través del tamiz al tubo. Se agrega sobre las *heces* en el tamiz solución detergente hasta llenar el tubo, se deja reposar la mezcla en el tubo por 15 min y se descartan las tres cuartas partes del sobrenadante; luego se lava con solución detergente la materia fecal sobrante en el tamiz hasta llenar nuevamente el tubo de 50 mL y se descartan los residuos del embudo. Se deja reposar nuevamente la suspensión en el tubo por 15 min y se descarta el sobrenadante, para dejar 10 mL que se pasan a una caja de petri, se agregan 2 gotas de lugol, se mezcla y se toma 0.1 mL para observación.

Las Pruebas inmunológicas se basan en la capacidad del *huésped* de desarrollar respuesta inmune a toda sustancia extraña que actúa como antígeno. La *F. Hepática* está filogenéticamente lejana de sus *hospederos* y constituye una fuente antigénica, provocando una respuesta de tipo humoral y celular que permanece en el animal. Algunas de estas sustancias son parte de la estructura del parásito, como antígenos somáticos; otras son el resultado de su actividad fisiológica, como antígenos metabólicos o de excreción/secreción.

La detección de anticuerpos se ha realizado con técnicas como: fijación de complemento, aglutinación pasiva e inmuno-electroforesis. La prueba de difusión precipitina es usada como rutina en el diagnóstico de casos *humanos*.

Reacciones de tipo anafiláctico intradermo y reacción del tipo de tuberculina se han utilizado en *bovinos* con resultados aleatorios. Otras técnicas recientes más sensibles y específicas han sido desarrolladas utilizando la inmuno absorción de enzimas (ELISA, Fast-ELISA, Dot-ELISA) para ser utilizadas en *rumiantes*. Así mismo, con nuevas tecnologías, se han purificado antígenos y producido antígenos recombinantes, lo que ha mejorado la sensibilidad y especificidad de estas técnicas, por lo que se espera que su aplicación sea más difundida (Hillyer, 1999).

La prueba de Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, Ensayo inmunoenzimático ligado a enzima ELISA, se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida mediante anticuerpos que, directa o indirectamente, producen una reacción cuyo producto, por ejemplo un colorante, puede ser medido espectrofotométricamente. Este principio tiene muchas de las propiedades de un inmunoensayo ideal: es versátil, simple en su realización y emplea un reactivo económico.

En la Inspección Postmortem se realizan cortes longitudinales en el *hígado* para observar la presencia de *Fasciola hepática* en los canalículos biliares; también es necesario hacer presión en los canalículos para verificar la presencia del parásito. Así mismo, la necropsia y procesamiento en el laboratorio o en campo de animales parasitados, brinda información precisa, no sólo de las especies y cargas de cada una de ellas, sino también del estado de desarrollo de las poblaciones parasitarias presentes.

## Materiales y métodos

El municipio de Chiquinquirá, se encuentra a 2585 msnm, con una extensión total de 133 km<sup>2</sup>, latitud 5° 37' 00.87 Norte y longitud. 73° 48' 59.47 Oeste. En el matadero del municipio se tomó una muestra de 90 animales, en un periodo de un mes, que luego fueron clasificados según sexo raza (normandas, holstein, cebú y criollo) y edad

(1 a 2 años, 2 a 3 años y mayores de 3 años). Los materiales para la toma de muestra fueron: tubos de ensayo, guantes de examen, mangas de palpación y nevera de icopor para transporte de muestras. En el laboratorio, se usó: Kit de ELISA; lector de ELISA, localizado en la Clínica de Cancerología Tunja (Boyacá); microscopio óptico para identificación de *huevo*s de *F. hepática*; laminillas, láminas, centrífuga, portaobjetos, vasos desechables, solución jabonosa. El reactivo usado fue lugol de parasitología; en el laboratorio de la Clínica Veterinaria de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, sede Tunja.

Los animales fueron identificados y enumerados antes del ingreso a la planta de sacrificio, recolectando datos como sexo, edad y raza, para al momento de la toma de muestras poderlas identificar con el número de cada animal; así mismo, se tuvo en cuenta también la guía de movilización que expide el ICA.

Luego se procedió a ir a los corrales donde se hizo la toma de muestras de materia fecal antes del sacrificio; la sangre se tomó directamente de la vena yugular en el momento del degüello, con tubos de ensayo sin anticoagulante para rotularla y refrigerarla. La muestra de materia fecal se hizo directamente del recto con mangas desechables aproximadamente 10g, rotulados y almacenados, y luego las muestras fueron llevadas al laboratorio de la Clínica de Medicina Veterinaria de la UPTC. Después del sacrificio en el proceso de faenado y evisceración de los animales se hizo la inspección macroscópica del hígado, mediante cortes longitudinales, en busca de formas adultas en canalículos biliares y alteraciones propias de esta enfermedad.

En el Laboratorio de la Clínica de Medicina Veterinaria de la UPTC, las muestras de sangre se centrifugaron para obtener los sueros, almacenándolos en viales, se rotulan y posterior congelamiento. Al final del muestreo estos sueros fueron analizados en el laboratorio de la Clínica de Cancerología de Tunja, con el kit de

ELISA (immunological diagnosis of fasciolosis by elisa method in serum and milk), versión P05120/3.

El método estadístico que se utilizó fue el análisis de varianza multivariado para cada uno de los métodos (Postmortem, Dennis, Elisa), con el fin de determinar si existe o no diferencia significativa entre el promedio de pruebas positivas entre las razas, entre las edades y entre los sexos; posteriormente, un análisis de varianza para las pruebas negativas.

## Resultados y discusión

Mediante la comparación de métodos de diagnóstico para *F. hepática* en el matadero de Chiquinquirá (Boyacá), la discusión de los resultados obtenidos en esta evaluación fue la siguiente.

En cuanto el comportamiento de la raza, para la prueba ELISA, sobre el total de animales muestreados ( $n=90$ ) no se encontraron diferencias significativas entre los promedios de raza ( $p > 0.05$ ): normando (1.17), Holstein (1.00), criollo (1.00) y Cebú (0.83). En la inspección Postmortem sobre el total de animales muestreados ( $n=90$ ) no se encontró diferencia significativa entre los promedios de raza ( $p > 0.05$ ): holstein (0.67), criollo (0.67), normando (0.50) y Cebú (0.33). Así mismo para la prueba Dennis sobre el total de animales muestreados ( $n=90$ ) no se encontraron diferencias significativas entre los promedios de raza ( $p > 0.05$ ): Normando (0.83), Holstein (0.83), Criollo (0.83) y Cebú (0.67).

En la figura 1 se observa el comportamiento de las variables dependientes (ELISA, Dennis y Postmortem) con la variable independiente raza. Aquí se nota como Postmortem es la de menor detección de positivos y ELISA la de mayor detección de positivos; además, la variable independiente raza tiene un comportamiento similar en cada prueba.

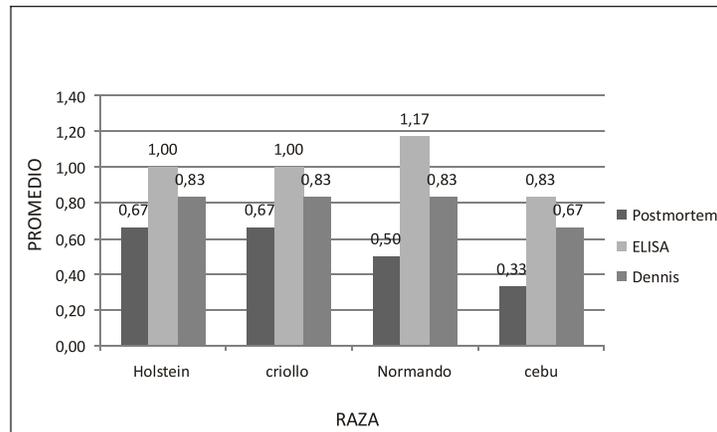


Figura 1. Comparación promedios pruebas positivas por metodos para raza.

Por lo tanto, estos resultados sugieren que no hay diferencia significativa para promedios de raza, por lo cual ésta no es un factor determinante en la presencia de la enfermedad, notándose que mientras los animales se encuentren en zonas endémicas estarán en riesgo de infección, como los bovinos de la muestra, provenientes de regiones endémicas (noroccidente de Boyacá y parte de Santander), que poseen las características climatológicas para el desarrollo y supervivencia de *F. hepática* y su hospedador intermediario.

En cuanto al comportamiento de la edad, la prueba ELISA sobre el total de animales muestreados ( $n=90$ ), demostró que existieron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los diferentes rangos de edad establecidos: 1-2 años (0.25), 2-3 años (1,13) y mayores de 3 años (1.63). En la observación Postmortem sobre el total de animales muestreados ( $n=90$ ), se presentó diferencia significativa para las edades ( $p < 0.05$ ), mayores de 3 años (1.25), 2 a 3 años (0.375) y 1 a 2 años (0). Para la prueba Dennis, sobre el total de animales muestreados ( $n=90$ ), se encontraron diferencias significativas para las edades ( $p < 0.05$ ): 1-2 años (0.13), 2 a 3 años (0.75) y mayores de 3 años (1.50).

En consecuencia, la figura 2 muestra que existe una diferencia significativa para esta variable (edad), dándose un aumento en el promedio al

aumentar la edad. Estos resultados son similares a los reportados por Moriena et al. (2004), ya que el hecho de existir mayor carga parasitaria de *F. hepática* en bovinos adultos de gran volumen corporal, implica que la eliminación de materia fecal contaminante también será mayor. También según los reportes de González (2000), con una mayor prevalencia en bovinos mayores de 8 años, comparándola también con la obtenida por González, et. al. (1982, en bovinos mayores de 8 años (43,5%), en los de 4 a 6 años (29,2%), de 6 a 8 años (22,0%) y los de 2 a 4 años (10,7%), positivos ( $P < 0,001$ ).

En relación con el comportamiento del sexo, para la prueba ELISA sobre el total de animales muestreados ( $n=90$ ) no existieron diferencias significativas entre los promedios: hembras (0.92) y machos (1.08). Para Postmortem, sobre el total de animales muestreados ( $n=90$ ), no se presentó diferencia significativa entre los promedios para sexo: machos (0.58) y hembras (0.50). En la prueba Dennis no existió diferencia significativa entre los promedios para sexo: machos (0.92) y hembras (0.67).

En la figura 3 se aprecia que no existe diferencia significativa entre machos y hembras para la presentación de *F. hepática*. Para esta variable, es un estudio realizado en Venezuela se obtuvo

diferencia significativa entre sexo, con valores mayores en hembras, pero al calcular la razón de desigualdad resultó no significativo, lo que indica que la enfermedad puede afectar por igual a machos y hembras (Fuenmayor et.al., 2000).

**Comparación entre pruebas.** El análisis de varianza indicó que no existe diferencia significativa entre los promedios de método ( $p > 0.05$ ): Postmortem (0.54), Dennis (0.79) y ELISA (1.00).

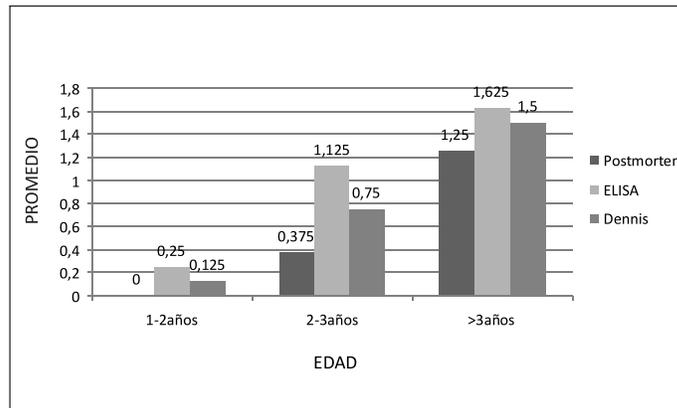


Figura 2. Comparación promedios pruebas positivas por metodos para edad

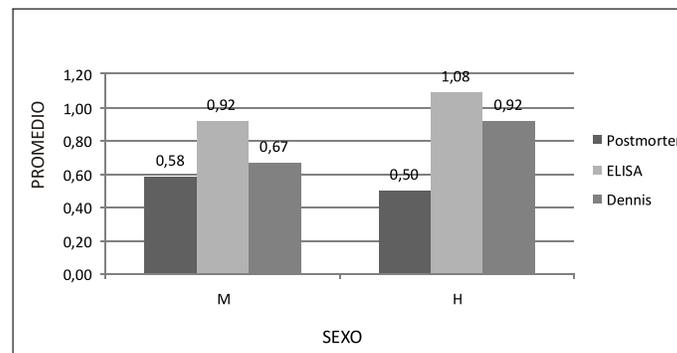


Figura 3. Comparación promedios pruebas positivas por métodos para sexo

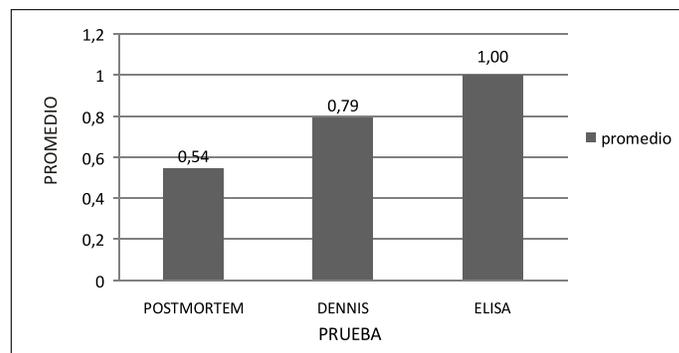


Figura 4. Promedio de pruebas positivas para método

En la figura 4 se observa que la prueba ELISA fue la que detectó mayores casos de fasciolosis, con resultados similares a los reportados por Moriena et al. (2004), en donde, sobre las muestras que se procesaron, se pudo apreciar una clara diferencia entre los dos métodos, ya que las muestras negativas a la coprología clásica, fueron positivas a ELISA. A su vez, la inspección Postmortem fue la que menos detectó la presencia de *Fasciola hepática*, tal como lo reportado por González et al. (1982), donde la observación de parásitos adultos en conductos biliares fue del 25.6%.

De la misma manera, como lo han demostrado

otras investigaciones, para el presente estudio la prueba que más detectó *Fasciola hepática* fue la de ELISA con un 76.4%; para prueba de Dennis se obtuvo un 52% y para el examen post-mortem fue de 12.3% (Morán et al., 1991).

La prevalencia está dada por el número de casos positivos encontrados en toda la población, es decir, la proporción de individuos detectados con el patógeno sobre el total. Mediante la comparación de la prueba Postmortem: detectó una prevalencia del 24.44%, la prueba Dennis detectó una prevalencia del 34.44% y la prueba Elisa: detectó una prevalencia del 40.0%, para una prevalencia total del 42.20%. (ver tabla 1).

**Tabla 1.** Prevalencia de *F. hepática* en el matadero de Chiquinquirá

Detección	Postmortem	ELISA	Dennis
positivos	22	36	31
negativos	68	54	59
total	90	90	90

## Conclusiones

Mediante la comparación de las tres pruebas que se realizaron durante la investigación, para la detección de *Fasciola hepática* en ganado bovino en donde, se concluye que la prueba con mayor confiabilidad (ELISA, Técnica de Dennis e Inspección Post-Mortem) fue la de ELISA, ya que fue la que presentó mayor especificidad y confiabilidad.

El método de inspección pos mortem ayudó a confirmar algunos animales que poseían al parásito en su fase adulta, aunque es poco confiable, teniendo en cuenta, la posible desparasitación del animal recientemente contra parásitos intestinales.

Se determinó que la raza no es un factor predominante en la presencia de *Fasciola hepática* en vacunos; sin embargo, la raza Cebú fue la que presentó menos prevalencia de la

enfermedad, notándose que mientras éstos se encuentren en zonas endémicas estarán en riesgo de infección.

Las hembras y los machos alcanzaron el mismo porcentaje de infestación con *Fasciola hepática*, demostrándose que el sexo del animal no es un factor importante para la presentación de esta enfermedad.

Se demostró que la edad es un factor que influye en el grado de infestación por *Fasciola hepática* en bovinos, con los animales mayores de 3 años de edad los más susceptibles a esta parasitosis.

En el matadero Municipal de la ciudad de Chiquinquirá (Boyacá), de marzo a abril del 2009, se encontró la presencia de *Fasciola hepática* adulta mediante observación post mortem y se determinó una prevalencia del 24.44%, en 90 hígados de bovinos.

Mediante la realización de la prueba de Dennis se determinó la presencia de *huevo*s de *Fasciola hepática* y se detectó una prevalencia del 34.44% de ésta en bovinos. En la prueba de ELISA se hallaron anticuerpos en sangre y se estableció una prevalencia del 40.0% de *Fasciola Hepática*.

Con base en los resultados de las diferentes pruebas que fueron realizados para el presente estudio, se evidenció que la prevalencia total de *Fasciola hepática* en animales sacrificados en el matadero de Chiquinquirá fue del 42.2%.

### Literatura Citada

- Becerra, R. W. M. 2001. Consideraciones sobre estrategias sostenibles para el control de *Fasciola hepática* en Latinoamérica. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 14(1), 28-35.
- Fuenmayor, A., D. Simones, R. González y A. Chirinos. 2000. Distomatosis hepática y su asociación con los factores de riesgo en los municipios Mara y Páez del estado de Zulia, Venezuela. *Revista científica X* (3), 183-190.
- González, T. B. 2000. Prevalencia de *Fasciola hepática* en Bovinos faenados en el matadero municipal de la ciudad de la paz. Bolivia. 45 p.
- González, R., C. Flores y R. Quiroz. 1982. Importancia del número de exámenes coproparasitológicos a la hora de la toma de la muestra en el diagnóstico de la fasciolosis en bovinos. México.
- Herculano, C. 2003 Diagnóstico de *Fasciola Hepática*. Conferencia electrónica. Red de Helminología para América Latina y el Caribe. Montevideo, Uruguay.
- Hillyer, G. 1999. Immunodiagnosis of human and animal fasciolosis. USA. pp. 435-447.
- Morales, A. y L. Pino. 2004. *Fasciola hepática* y Distomatosis Hepática bovina en Venezuela. En: Red de helminología de FAO para América Latina y el Caribe, <http://cni.inta.gov.ar/helminto/Fasciola/DISTOMATOSIS%20HEPÁTICA%20BOVINA%20Venezuela.pdf>, 19 p. consulta: marzo 2009.
- Morán, R., R. Quiroz, M. Guerrero y M. Huerta. 1993. Frecuencia de fasciolosis a través de cuatro técnicas de diagnóstico en toros sacrificados en la plaza México. *Veterinaria Mexico* 24 (3), 239-241.
- Moriena, R., O. Racioppi y J. Alvarez., 2004. Fasciolosis en bovinos del nordeste argentino. Prevalencia según edad. *Revista veterinaria* 15 (1), 3-4.
- Quiroz, H. 2002. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. Editorial Limusa, México D.C. 876 p.
- Torrel, T. 1997. Detección de Coproantígenos de *Fasciola Hepática* en ovinos y bovinos Mediante un Método de ELISA. *Investigaciones Pecuarias*. 8 (1), 74-78.

Fecha de Recepción: 12 de agosto de 2009  
Fecha de Aceptación: 13 de octubre de 2009

