



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria
y Zootecnia

PREVALENCIA ANUAL DE FASCIOLASIS EN
BOVINOS DE TULANCINGO, HGO., MEXICO

T E S I S

Que para obtener el Título de
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
p r e s e n t a

MIGUEL TELLO ROBLES



Aesor:
M. V. Z. FROYLAN IBARRA VELARDE

México, D. F.

1993

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

C O N T E N I D O

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODOS	5
RESULTADOS	10
DISCUSION	12
CONCLUSIONES	14
LITERATURA CITADA	16
CUADROS	22
GRAFICAS	23

RESUMEN

Tello Robles Miguel. Prevalencia anual de fasciolosis en bovinos de Tulancingo, Hgo. (bajo la dirección del M.V.Z. Froylán Ibarra Velarde). Se estudió la prevalencia anual a fasciolosis en la cuenca lechera de Tulancingo, Hgo. Se utilizaron 40 bovinos adultos y 11 bovinos jóvenes de ambos sexos, de la raza Holstein fresian para el seguimiento y muestreo mensual tanto de heces como de sangre durante los doce meses que duró el experimento. Se estandarizó el método indirecto de la prueba de ELISA para el diagnóstico de fasciolosis bovina a partir de la descrita por Boulard en 1982 (8) con algunas modificaciones quedando: concentración del antígeno, 5.5 mg/ml; tiempo y temperatura de incubación y adsorción en las placas, 37 °C/2h; concentración de solución de bloqueo, 2%; dilución de sueros, 1 a 200; dilución de conjugado, 1 a 2000 en PBS + solución de bloqueo al 0.05%; sustrato OPD (O-phenylendiamine dihydrochloride-Sigma). La absorbancia fue leída a 488 nm utilizando un lector ELIA modelo 0049 (Fisher Instruments). Todos los pasos de lavado fueron realizados con PBS a pH 7.2 + tween 20 al 0.5%. Se determinó la sensibilidad y especificidad de la prueba de ELISA mediante el estudio de 72 sueros de bovinos previamente conocidos (mediante Dig-ELISA y sedimentación) resultando un 94.4% de sensibilidad y un 88.8% de especificidad. Los perfiles cinéticos de ELISA obtenidos en los bovinos adultos y becerros mostraron niveles altos de anticuerpos, que en densidades ópticas se mostraron por arriba de 150 nm resultando con esto que la prevalencia de Fasciola hepática en Tulancingo se mantuvo entre un 97 y un 100% para todos los meses del año. El análisis coproparasitoscópico indicó que los bovinos estuvieron parasitados entre un 80 y 100% durante todo el año. No se determinó relación existente entre la cinética de anticuerpos de los sueros positivos a ELISA, y el número de animales positivos a coproscopia.

PREVALENCIA ANUAL DE FASCIOLASIS EN BOVINOS
DE TULANCINGO, HGO., MEXICO

La fasciolosis es una enfermedad parasitaria debida a la presencia y acción de un tremátodo del hígado llamado Fasciola hepática, el cual se aloja al estado adulto en los conductos biliares, y al estado juvenil en el parénquima hepático de bovinos, ovinos, equinos y otros animales domésticos, incluyendo al hombre (39).

A esta enfermedad, en virtud de su amplia distribución, se le han dado diversos nombres, tales como: Distomatosis hepática, Palomilla o Conchuela del Hígado, Hígado Podrido, Mal de Botella, Acucuyachi, etc. (41).

Es una parasitosis cosmopolita que está vinculada a todo lugar en el mundo donde existen caracoles dulceacuícolas pulmonados del género Limnaea spp., los cuales son hospederos intermediarios del parásito (43).

Datos preliminares sobre pérdidas económicas causadas por Fasciolosis en bovinos indican una disminución productiva de 8% en infecciones leves y de más de 20% en las graves (8,40).

Las pérdidas que provoca esta enfermedad se clasifican en directas e indirectas. Las directas se relacionan con la muerte súbita de los animales a consecuencia de la migración de las fases juveniles del parásito a través del parénquima hepático por infestaciones masivas (50,54). Las indirectas se derivan de la acción menos severa del parásito adulto alojado en los conductos biliares, presentando una forma crónica que provoca sangrías más fuertes a la ganadería ya que se registran pérdidas por concepto de: baja producción láctea (3,9,11,42), pérdidas por bajas tasas

de crecimiento y mala conversión alimenticia (20), pérdidas por baja producción y mala calidad de la lana (18,19,30), pérdidas por trastornos reproductivos (10,11,22), pérdidas por decomisos de hígado (27,47,51).

En México se han realizado diversos trabajos en su mayoría tesis de licenciatura (27,31,38,48), en los que reportan pérdidas por decomisos de hígados, y los estudios coproparasitoscópicos y quimioterapéuticos nos dan sólo una idea de las pérdidas que este parásito ocasiona (44). Sin embargo, los estudios inmunológicos han sido empleados en menor escala para el diagnóstico de la Fasciolosis. Entre las pruebas utilizadas para el diagnóstico de Fasciolosis están: precipitación (16,20,53); aglutinación (1,4,27,-45,53); fijación de complemento (32); Inmunofluorescencia directa e indirecta (12,13,28,29,49); inmunoensayo en capa delgada (1,23,26); pruebas cutáneas (16,33,40,54); pruebas inmunoenzimáticas (7,14,21,34,55); utilizándose algunas de estas pruebas no sólo con fines diagnósticos sino también en estudios seroepidemiológicos para obtener la prevalencia en diversas zonas del país como son el caso de Borjas en 1989 (5) y Escartín en 1969 (17) que determinaron un 74.8 y un 75.24% de infección en ganado bovino para la zona de Tulancingo, Hgo; Muñoz en 1970 (36) para el Valle de Queréndano, Mich. obtuvo un 81.2%; Rosas en 1974 (46) en Amecueca, Jal. un 74.1%; González en 1974 (27) en Acuitzeo del Conge, Mich. un 47.8%, Díaz en 1982 (15) en Toluca, Méx. un 94.7% y Quiroz en 1973 (40) en Tepetzotlán, Méx. un 98.0% de prevalencia en ganado bovino.

En la última década se ha implementado el uso de la prueba de ELISA, la cual detecta anticuerpos anti-fasciola desde la segunda semana post-infección (37), situación ventajosa para detectar la presencia del parásito en su estado juvenil. Esto a su vez contrasta con la técnica coproparasitoscópica, en la cual la

presencia del parásito adulto es detectada a través de sus huevos liberados entre 8 y 10 semanas posteriores a la infección.

Dada la amplia distribución de la Fasciolosis en México y debido a que no existe estudio alguno que indique en la cuenca lechera de Tulancingo, Hgo., la PREVALENCIA ANUAL de dicha enfermedad, es necesario establecer la dinámica natural de la parasitosis, durante las cuatro estaciones del año, en una región endémica, para de esta manera establecer un modelo de predicción y consecuentemente un tratamiento estratégico. En este sentido el contar con dicho modelo, posiblemente permitirá adaptarlo a diferentes zonas del país, de acuerdo a sus condiciones ecológicas particulares.

El Municipio de Tulancingo se encuentra localizado en las coordenadas longitud 98°22' y latitud 20°6'5" con clima templado, altura sobre el nivel del mar 2180 m, precipitación pluvial máxima 114.3 mm, y mínima de 8.6 mm, temperatura máxima de 25.96 °C y mínima de 0.496 °C., periodo de lluvias junio-septiembre, suelo tipo semidesértico (capa rica en materia orgánica y nutrientes).

Los límites políticos son: al Norte, Metepec; al Sur, Santiago Tulantepec; al Este, Acaxochitlán y Cuauhtepac; al Oeste, Acatlán y Singuilucan.

HIPOTESIS:

La prueba indirecta de inmunoensayo enzimático (ELISA), y el análisis coproparasitológico (sedimentación) como pruebas diagnósticas, permiten determinar la prevalencia de la fasciolosis bovina en el Valle de Tulancingo, Hgo.

OBJETIVOS:

Los objetivos del siguiente trabajo son:

- 1) La estandarización del método indirecto de la prueba de ELISA para el diagnóstico de fasciolosis bovina, y la determinación de la sensibilidad y especificidad de la misma.
- 2) El empleo y utilización de la prueba de ELISA para la detección de anticuerpos específicos contra Fasciola hepática en los bovinos en estudio.
- 3) La detección de la positividad o negatividad de los bovinos en estudio mediante la técnica de sedimentación.
- 4) Determinar si existe relación entre la positividad de los animales experimentales mediante las técnicas coproparasitos-cópica de sedimentación y la serológica de ELISA.

MATERIAL Y METODOS:

El presente estudio fue realizado en el Rancho "Medias Tierras", ubicado en el Municipio de Tulancingo, Estado de Hidalgo.

En este lugar se llevó a cabo el trabajo de campo, mientras que el trabajo de laboratorio se realizó en las instalaciones del Centro Nacional de Investigaciones en Parasitología Veterinaria, ubicado en el Estado de Morelos, México.

ANIMALES:

Se utilizaron 40 bovinos adultos y 11 bovinos jóvenes de ambos sexos de raza Holstein fresian para el seguimiento durante los 12

meses que duró el experimento y, asimismo, se utilizaron 72 bovinos cruzados (36 de la misma zona de Tulancingo y 36 de una zona libre) los cuales sirvieron para el estudio del comportamiento y estandarización de la prueba de ELISA y que, posteriormente, nos llevó al cálculo de la sensibilidad y especificidad de la misma para poder utilizarla en nuestro estudio.

MUESTREOS:

Cada mes y durante 12 meses, los animales en estudio fueron valorados tomando muestras de heces, así como de sangre para su correspondiente obtención de suero.

OBTENCION DEL SUERO:

Utilizando el sistema de tubos vacutainer sin anticoagulante, se colectó de cada bovino aproximadamente 10 ml de sangre de la vena coccígea. Posteriormente, cada tubo conteniendo la sangre completa fue centrifugado a 2000 revoluciones por minuto (rpm) durante 8 minutos. Seguidamente, con ayuda de una micropipeta, se colectaron aproximadamente 2 ml de suero, mismos que fueron envidados y etiquetados para transportarlos en hielo al laboratorio, donde finalmente fueron congelados a -70°C hasta su utilización.

ESTANDARIZACION DE LA PRUEBA DE ELISA:

La estandarización de la prueba de ELISA se realizó de la siguiente manera:

- 1) Sensibilización de las placas (Nunc-Immunoplate Maxi Sorp). Se utilizaron concentraciones de antígeno de 5.5 mg y 10 mg/ml en solución de carbonatos con pH de 9.6.

Se incubaron a 4 tiempos: a) 37 °C/1h, b) 37 °C/2h, c) 37 °C/1h y 4 °C/12h, y d) 4 °C/12h.

Pasando este periodo las cajas se lavaron con PBS al 0.1% de tween 20.

- 2) Solución de bloqueo. A cada caja se le agregó leche descremada (Sveltes) al 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 y 6% como solución de bloqueo diluida en PBS.

Se incubó a 37 °C/30 min y se lavaron 5 veces con PBS al 0.1% de tween 20.

- 3) Sueros. Se agregaron sueros conocidos, positivos y negativos, y se utilizaron diferentes diluciones: 1 a 100, 1 a 150, 1 a 200 y 1 a 400 con 4 repeticiones cada uno, y también se utilizaron como variables diluidos en PBS sólo y en PBS + 0.05% de leche descremada.

Se incubó a 37 °C/60 min y posteriormente se realizaron 5 lavados con PBS al 0.01% de tween 20.

- 4) Conjugado. Se utilizó conjugado a diluciones de 1 a 500, 1 a 1000, 1 a 2000 y, 1 a 4000 diluido en PBS sólo y en PBS con leche descremada.

Se incubó a 37 °C/60 min y se realizaron 5 lavados con PBS al 0.1% de tween 20.

- 5) Sustrato. OPD O-phenylendiamine dihydrochloride (Sigma). Se empleó a razón de 0.4 mg/ml y peróxido de hidrógeno al 30% a razón de 0.4 microlitros/ml en ácido cítrico con pH 5.

A los 10 minutos se paró la reacción con: solución de paro (0.1 ml de EDTA + 10 ml de ácido fluorhídrico, aplicándose 100 microlitros a cada pozo.

PRUEBA DE ELISA

La prueba indirecta de ensayo inmunoenzimático o enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) se desarrolló a partir de la descrita por Boulard en 1985 (6) y colaboradores con algunas modificaciones. Se utilizó antígeno de fasciola adulto (de secreción/excreción). Para esto, se utilizaron microplacas Nunc-Immuplate Maxisorp (Intermed). El conjugado fue una anti-IgG peroxidasa desarrollado en conejo (Sigma immuno chemicals), y la absorbancia fue leída a 488 nanómetros, utilizando un lector ELIA Mod. 0049 (Fisher Instruments). Todos los pasos de lavado fueron realizados con PBS a pH 7.2 más Tween 20 al 0.1%.

OBTENCION DE MATERIA FECAL:

Con ayuda de guantes de plástico, previamente etiquetados, se colectó directamente del recto de cada bovino, aproximadamente, 100 g de heces, mismas que fueron procesadas utilizando la técnica de sedimentación, descrita por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentos (35) que determina la cantidad de huevecillos de Fasciola hepática en 5 g de heces. Para mayor seguridad en el diagnóstico, se realizaron 2 repeticiones de cada análisis, con la idea de disminuir la posibilidad de falsos negativos.

EVALUACION:

Una vez estandarizada la prueba de ELISA se procedió a obtener la sensibilidad y especificidad de la prueba al aplicarla a 36 sueros de 36 bovinos positivos a Fasciola y a 36 sueros de 36 bovinos negativos a Fasciola previamente estudiados mediante la técnica de sedimentación y de Dig-ELISA.

Posteriormente, se determinó la cinética de anticuerpos de los 51 bovinos en estudio mediante el análisis de su perfil cinético a través de las densidades ópticas obtenidas mensualmente durante un año, lo que dio lugar a la determinación de la prevalencia anual de la Fasciolosis en el Valle de Tulancingo, Hgo.

Los datos obtenidos fueron analizados para determinar la posible relación entre los animales positivos a coproscopia y positivos a serología.

RESULTADOS:

Estandarización de la prueba de ELISA: En el proceso de estandarización los datos óptimos fueron los siguientes:

Antígeno: concentración de 5.5 mg/ml en solución de carbonatos con pH 9.6.

Tiempo de incubación: 37 °C/2h (tiempo de adsorción del antígeno a la placa).

Solución de bloqueo: concentración óptima al 2%.

Sueros: dilución óptima 1 a 200 en PBS sólo.

Conjugado: dilución óptima 1 a 2000 en PBS con solución de bloqueo (leche descremada Sveltes) al 0.5% (conjugado anti-IgG Bovina producida en conejo-Sigma).

Sustrato: OPD O-phenyldiamine dihydrochloride (Sigma).

Solución de paro: EDTA + ácido fluorhídrico.

Solución de lavado: PBS al 0.1% de tween 20.

Los resultados obtenidos mediante la utilización de la prueba de ELISA y análisis coproparasitológico pueden apreciarse en las gráficas 1, 2, 3 y 4.

El Cuadro 1 nos muestra los resultados de 72 sueros previamente evaluados mediante Dig-ELISA y coproscopía tomadas como prueba patrón para el cálculo de la sensibilidad y especificidad de ELISA para el diagnóstico de Fasciolasis bovina, en donde se obtuvieron 36 muestras de sueros de bovinos que se encontraban en

una zona endémica y 36 muestras de sueros de bovinos que se encontraban en una zona libre de Fasciola hepática a los cuales previamente se les estudió mediante Dig-ELISA y coproscopía (sedimentación) dándonos como resultado 36 sueros positivos y 36 sueros negativos. Por tanto, los resultados de estas pruebas se tomaron como pruebas patrón (100% sensibilidad, 100% especificidad). Para la interpretación de ELISA se obtuvieron las medias de los valores de adsorbancia de los controles positivos y negativos y se tomaron dos desviaciones estándar a partir de ellos. De esta manera, los resultados obtenidos para ELISA nos dieron una sensibilidad del 94.44% y una especificidad del 88.8%.

Gráfica 1. Perfil cinético de sueros previamente conocidos para la estandarización de la prueba de ELISA: En relación a las pruebas patrón donde obtuvimos 36 sueros positivos y 36 sueros negativos que coincidieron con las zonas de donde provenían (endémica y libre), los resultados arrojados en la prueba de ELISA en relación a las primeras fueron: 32 sueros positivos, 34 sueros negativos, 2 falsos positivos, 2 falsos negativos, 2 sospechosos, dándonos, por tanto, un 94.44% de sensibilidad y un 88.88 de especificidad.

Gráfica 2. Perfil cinético de sueros de bovinos adultos del Valle de Tulancingo, Hgo.: Se aprecia que el perfil cinético de los bovinos adultos es mayor en densidad óptica en los meses de marzo, abril, mayo y agosto, y que en los meses de diciembre a febrero y luego en junio, disminuye. Sin embargo, los valores en todos los meses permanecen altos.

Gráfica 3. Perfil cinético de sueros de becerros del Valle de Tulancingo, Hgo.: Con relación a los becerros en esta gráfica se aprecia, de igual manera, su perfil cinético, que al igual en bovinos adultos los valores de anticuerpos están altos, pero se aprecia en especial que hay un incremento gradual, pero muy ligero,

desde octubre hasta el mes de junio; sin embargo, los valores en todos los meses permanecen altos.

Gráfica 4. Cinética de anticuerpos de sueros de bovinos de Tulancingo, Hgo.: Cuando los datos de densidades ópticas para la obtención del perfil cinético fueron confrontados entre becerros y bovinos adultos, se apreció de manera general que los adultos estuvieron ligeramente más altos que los becerros, excepto en el mes de septiembre y mes de junio, y las densidades ópticas oscilaron en 360 y 230 nm.

Gráfica 5. Análisis coproparasitológico de bovinos del Valle de Tulancingo, Hgo.: En esta gráfica los valores obtenidos fueron de acuerdo al porcentaje de positividad o negatividad de las muestras observadas mediante la técnica de sedimentación. Los datos graficados nos muestran que en los meses de septiembre, noviembre a febrero y de junio a agosto, el porcentaje de becerros positivos fue más alto; teniendo cierta similitud de positividad entre los otros meses.

Es pertinente señalar que la positividad a la coproscopía se manifestó inversamente opuesta a los perfiles cinéticos, o bien, que los valores de anticuerpos fueron más bajos.

DISCUSION:

En la estandarización de la prueba de ELISA y en relación a este tópico no existía en México la prueba estandarizada en bovinos bajo nuestras condiciones, probablemente en otros países estaba estandarizada pero era necesario realizarla en México.

Además, a la experiencia de este autor, en la estandarización de esta prueba el antígeno de secreción-excreción de fasciola

adulto fue muy noble ya que el autor en 1986 (52) estandarizó la prueba de ELISA para la detección de anaplasmosis y ya antes había trabajado con otros tipos de antígeno como el de Haemophilus, Brucella y Babesia, y fue muy notorio la facilidad de manejo, adaptación y disponibilidad de este antígeno para su utilización en la estandarización de la prueba.

Bautista et al en 1985 (2) muestra la técnica estandarizada de Dig-ELISA en ovinos, y sugiere que se necesitaba estandarizarse en bovinos en virtud de que en México hay 36 millones de bovinos contra 4 millones de ovinos. También sugiere seguir realizando muestreos seroepidemiológicos en el país, y tratar de establecer la metodología adecuada para controlar esta parasitosis en México.

El comportamiento de la prueba de ELISA fue el esperado, ya que se determinaron animales positivos durante todos los meses del año. Boulard en 1985 (6) señala en Francia que la prueba de ELISA detecta desde la cuarta semana postinfección experimental en bovinos, y García en 1992 (24) reporta que la prueba de Dig-ELISA detecta anticuerpos desde la segunda semana postinfección en ovinos. El tremátodo Fasciola hepática es adulto en bovinos a las 10 semanas de edad, por lo que la ventaja en ELISA es que se puede hacer diagnóstico temprano a diferencia de la técnica coproparasitoscópica de sedimentación y flotación, y que aunado a otros parámetros, ayudaría a establecer un programa de control de la enfermedad.

Con relación a las densidades ópticas éstas estuvieron muy similares todo el año, lo que quiere decir que tanto los bovinos adultos como los becerros están muy expuestos a la enfermedad, y aunque se sabe que la liberación de metacercarias es mayor en los meses de abril a agosto, los niveles de anticuerpos parecen no manifestar una correlación entre el posible número de fasciolas en el huésped, y el número de anticuerpos detectado en los sueros.

De cualquier manera, los bovinos adultos, siempre manifestaron niveles más altos, y esto puede ser en razón que cuando el becerro está amamantándose no ingiere metacercarias. En los becerros hay menos fasciolas pero es mucho más fuerte la respuesta inmunológica; por eso, es similar a la respuesta de los adultos.

Con relación al análisis coproparasitológico se observó que en general los becerros estuvieron en mayor grado de positividad que los bovinos adultos. Tal vez esta explicación podría basarse en que como Soulsby en 1987 (58) lo indica, los bovinos jóvenes son más susceptibles a la infestación por fasciola que los adultos.

Fue interesante observar que los becerros estuvieron en porcentaje más positivos que los bovinos adultos en coproscopía, siendo inversamente proporcional cuando estos fueron analizados en serología mediante la prueba de ELISA.

CONCLUSIONES:

Bajo las condiciones en que se realizó el presente estudio se logró estandarizar la prueba de ELISA obteniendo un 94.4% de sensibilidad y un 88.88% de especificidad.

Los perfiles cinéticos de ELISA obtenidos en los bovinos adultos y becerros dieron niveles altos de anticuerpos, mostrando con esto, que la prevalencia a Fasciola hepática en Tulancingo es altamente endémica.

El análisis coproparasitológico indicó que los bovinos estuvieron parasitados entre un 80 a 100% a través de todo el año.

No se determinó relación existente entre la cinética de anticuerpos de los sueros positivos a ELISA, y el número de animales positivos a coproscopía.

Un dato interesante, aunque extraño, es que la positividad de los bovinos al análisis coproparasitológico fue más alta en los becerros que en los bovinos adultos. Sin embargo, al ver el perfil cinético, los becerros quedaron más abajo que los bovinos adultos.

La prueba de ELISA es precisa, importante, pero debido a sus costos, se manifiesta difícil de utilizar en campo; por tanto, se sugiere realizar técnicas más económicas, sencillas y fáciles de montar tales como Dig-ELISA y DOT-ELISA.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Arriaga de Morilla, C., A. Gómez Arroyo, C.R. Bautista Garfias y Morilla González. Evaluación de un antígeno somático y uno metabólico de Fasciola hepática en diferentes pruebas inmunológicas para el diagnóstico de la fasciolosis en bovinos. Téc. Pec. en Méx. 44:41. México, D.F. 1983.
- 2) Bautista G.R. Inmunización experimental de borregos contra Fasciola hepática con antígeno somático o metabólico del parásito adulto. En: Memorias de la Reunión Anual de Investigación Pecuaria en México, p.102. México, D.F. 1985.
- 3) Black, N.U., Froys G., The possible influence of liver fluke infestation on milk quality. Vet. Rec. 3:71. 1972.
- 4) Bénex, J. Le diagnostic sérologique pratique de la distomase. I. Une méthode d'agglutination sur lame à l'aide d'antigène absorbé sur des particules de latex. Bull. Soc. Path. Exot. 58:495. 1964.
- 5) Borjas, J.M. Frecuencia de la Fasciola hepática en botinos con antecedentes y sin antecedentes de desparasitación, de los municipios de Santiago Tulantepec y Tulancingo, Hgo. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. 1989.
- 6) Boulard, C. Comparaison de la détection des foyers de Fasciolose par test ELISA sus lactosérum et sérum et par coproscopie. Ann. Rech. Vét., 16:363-368. 1985.
- 7) Burden, D.J. y N.C. Hammet. Microplate enzyme linked immunosorbent assay for antibody to Fasciola hepática in cattle. Vet. Rec. 1978.
- 8) Castell, V.D.: Evaluación de la producción láctea en bovinos con Fasciolosis tratada con Bilevón 12. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1972.
- 9) Cawdery, M.J. The effects of fasciolosis on ewe fertility. Br. Vet. J. 132:568. 1976.
- 10) Cawdery, M.J., K.L. Strikland, A. Conway; P. J. Crowe. Production effects of liver fluke in cattle. I. The effects of infection on live weight gain, Feed intake and food conversion efficiency in beef cattle. Br. Vet. J. 133:135. 1977
- 11) Contreras, J.A., 1976. Abortos debidos a fasciolosis en una hacienda venezolana. Not. Med. Vet. 2:190.

- 12) Coudert, J., J.P. Garin, P. Abroise-Thomas, K. Troung thai, J. Despeignes y M.A. Pothier. La reacción d'immuno-fluorescence sur coupes de Fasciola hepática: Une nouvelle tecnoque pour le sérodiagnostic de la distomatosis. Bull. Soc. Path. Exot., 60:71. 1977.
- 13) Deelder, A.M. Immunology of experimental infections with Schistosoma mansoni in the swiss mouse and with Fasciola hepática in the rabbit. Acta Leidensia, 39:1. 1973
- 14) Deelder, A.M. y J.S. Ploem. An immunofluorescence reaction for Fasciola hepática using the defined antigen substrate spheres (DASS) system. Exp. Parasitol., 37:173. 1975.
- 15) Díaz L.E. Estudio epizootiológico de la fasciolosis bovina tendiente al control clínico estratégico en el Valle de Toluca. Memoria 3a. Reunión Anual de la As. Mex. Parasit. Vet., Vol. III No. 3 p.28-29. México, D.F. 1982.
- 16) Doyle, J.J. The relationship between the duration of primary infection and the subsequent development of an acquired resistance to experimental infections with Fasciola hepática in calves. Res. Vet. Sci., 14:97. 1973a.
- 17) Escartin, M. Estudio epizootiológico de la fasciolosis en ganado bovino lechero en el Municipio de Tulancingo, Hgo. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. 1969.
- 18) Edwards, J.M., M.N. Al-Saighi, G.L. Williams, A.G. Chamberlain. Effect of liver fluke on wool production in welsh mountainsheep. Vet. Rec. 98(18):372. 1976.
- 19) Euzéby, J., G. Jollivet. Les maladies animales. Leur incidence sur l'economie agricole. Bull. Off. Int. Epiz. 87:675. 1977
- 20) Overall, P.H. The double diffusion precipitating test in human fasciolosis. J. Clin. Path. 13:636. 1970.
- 21) Farrel, C.J., D.T. Shen, R.B. Wescott y B.Z. Lang. An enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of Fasciola hepática infection in cattle. Am. J. Vet. Res., 42:237. 1981.
- 22) Foreyt, W.J. The role of liver fluke in infertility of beef cattle. The bovine preceedings, 14:99. 1982.

- 23) Garay Garzón, E. Especificidad y sensibilidad de diferentes pruebas serológicas para el diagnóstico en fascioliasis en ovinos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. 1983.
- 24) García L.C. Efecto de adyuvante completo Freund sobre la infección experimental de Fasciola hepática en ovinos. Tesis de Maestro en Ciencias de Parasitología. Fac. de Ciencias Agropec. de la Univ. Autón. de Morelos. C. Morelos 1992.
- 25) Gladysz-Pawlak, K. A study of the usefulness of the latex reaction in diagnosis of cattle fascioliasis. Acta parasitol. Polon. 24:345. 1977.
- 26) Gómez Arroyo, A., A. Morilla González y C. Arriaga de Morilla. Evaluación preliminar de la prueba de inmunoensayo en capa delgada para el diagnóstico de la fascioliasis en animales. Veterinaria (Méx.) 10:181. 1979.
- 27) González, A.H.A. Evaluación de las pérdidas económicas ocasionadas por el decomiso parcial o total de hígados en el rastro de Ferrería. Tesis de Licenciatura, Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1969.
- 28) Hamess, E., D.L. Hughes y T.G. Doy. The demonstration of pre-hepatic immune response to Fasciola hepática in the mouse. Int. J. Parasitol. 6:15. 1976.
- 29) Hanna, R.E.B. Fasciola hepática: Glycocalix replacement in the juvenile as a possible mechanism for protection against host immunity. Exp. Parasitol. 50:103. 1980.
- 30) Hawkins, C.D., R.S. Morris. [Fasciola hepática] sheep experimental degree of productivity depression assessed by body fleece weights and feed digestibility. Vet. Parasit. 4:341. 1978.
- 31) Hernández, F.J. Incidencia de Fasciola hepática y su repercusión económica por decomiso de hígados afectados en el rastro Municipal de Toluca, Edo. de México. Tesis de licenciatura, Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1976.
- 32) Kagan, I.G. Serodiagnosis of parasitic diseases. In: Rose, N.R. y H. Friedman (editors), Manual of Clinical Immunology. 2a. Edition. American Society for Microbiology. Washington, D.C., 573. 1980.

- 33) Lebrija de Ibarra, A., A. Gómez Arroyo, C. Arriaga de Morilla, F. Ibarra y A. Morilla. Algunas características de las pruebas de intradermoreacción para el diagnóstico de la fasciolosis de los bovinos. Veterinaria (Méx.) 12:5. 1981.
- 34) Levine, D.M., G.V. Hillyer y S.I. Flores. Comparison of counter-electrophoresis, the enzyme-linked immunosorbent assay, and katofecal examination for the diagnosis of fasciolosis in infected mice and rabbits. Trop. Med. Hyg., 29:602. 1980.
- 35) Ministry of Agriculture Fisheries and Food Manual of Veterinary Parasitological Laboratory Technique. Technical Bulletin No. 18. London, England. 1987.
- 36) Muñoz, R.A. Estudio epizootológico de la fasciolosis por inmunoreacción en bovinos en el Valle de Morelia, Queréndano. Tesis de Licenciatura. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet. Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México. D.F. 1970.
- 37) Pfister, K. Serodiagnosis of fasciolosis in ruminants. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 9:511-518. 1990.
- 38) Ponce A.J.M. Pérdidas económicas causadas por el decomiso de hígados infectados con Fasciola hepática en bovinos sacrificados en la empacadora TIF (Tipo Inspección Federal) No. 48 en Aguascalientes. Tesis de licenciatura, Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1981.
- 39) Ponte Lauris, E.M.: The common liver fluke Fasciola hepática. Permagom Press. Ltd. pp 10. 1965.
- 40) Quiroz R.H. Epizootiología de la fasciolosis. Primer Seminario de Parasitología Veterinaria. Veterinaria México 4, 236-239. México, D.F. 1973.
- 41) Quiroz R.H., H. Herrera R. y L. Fernández de Córdova. Valoración de la intradermoreacción en el diagnósticos de la fasciolosis bovina. Veterinaria (Méx.), 4:236. 1973.
- 42) Quiroz R.H., D. Herrera, B. Castell. Efecto de la fasciolosis en la producción láctea de bovinos estabulados, Veterinaria 2:33. 1974.
- 43) Quiroz R.H. Epidemiología de la fasciolosis editado por Flores, C.R., Quiroz, R.H. e Ibarra, V.F. pp. 378, México. 1986.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- 44) Quiroz R.H. Epidemiología de la fasciolosis. En Fasciolosis. Vol. conmemorativo del centenario del descubrimiento del ciclo de la Fasciola Hepática, Thomas y Leuckart. Eds. Flores Crespo, R., Quiroz Romero, H. e Ibarra Velarde, F. INIP/SARH. México, 1986.
- 45) Robert, R.P., Leynia de la Jarrige, D. Chabasse, C. Mahaza, C. Bizon y H. Genthon. Contribution au diagnostic immunologique de la fasciolose a F. hepática chez les bovins: Recherche d'Ag fraction II et d'Ac antifraction II. Rec. Med. Vet., 156:533. 1980.
- 46) Rosas, C.G. Estudio epizootiológico de fasciolosis en bovinos de los municipios de Atoyac y Amacueca, Jalisco. Tesis de Licenciatura. Esc. Med. Vet. Zoot., Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jal. 1974.
- 47) Sánchez A.A., R.D. Herrera, D.Z. Barrios. Incidencia de fasciolosis y su valoración económica a partir de hígados decomisados de ganado Holstein nativo de la región, sacrificado en rastro Municipal de Tulancingo, Hgo. Tec. Pec. en Méx. 30:110. 1976.
- 48) Sánchez M.J.A. Pérdidas económicas por decomiso de hígados parasitados con Fasciola hepática en bovinos sacrificados en rastro TIF No. 54 en Mexicali, B.C. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1982.
- 49) Schillhorn Van Veen, T.W. y J. Buys. The serodiagnosis of chronic fasciolosis (F. gigantica) using a fluorescent antibody technique with single and multiple whole fluke antigens. Tropenmed. Parasitol., 30:1974. 1979.
- 50) Soulsby, E.J.L.: Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. Interamericana, México, D.F. 1987.
- 51) Tabares, B.E. Estudio sobre la epizootiología e importancia de la fasciolosis en ganado bovino y pérdidas económicas por decomiso de hígados parasitados en el municipio de Cuauhtepic, Hidalgo. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1977.
- 52) Tello, R.M. La prueba de ELISA en el diagnóstico de anaplasmosis. Técnica pecuaria., 52:45. México, D.F. 1986.
- 53) Tiggele, L.J. Van y H.J. Over. Serological diagnosis of fasciolosis. Vet. Parasitol., 1:239. 1976.

- 54) Tiggele, L.J. Van. Host-parasite relations in Fasciola hepática infections. Immunopathology and diagnosis of liver-fluke disease in ruminants. Phd Thesis. Rijksuniversiteit te Leiden. The Netherlands. 1978.
- 55) Zimmerman, G.L., L.W. Jen, J.E. Cerro, K.L. Farnsworth and R.B. Wescot. Diagnosis of Fasciola hepática infections in sheep by an enzyme-linked immunosorbent assay. Am. J. Vet. Res., 43:2097. 1982.

CUADRO 1. Cálculo de la sensibilidad y especificidad de ELISA para el diagnóstico de Fasciolosis bovina. Resultados de 72 sueros previamente evaluados mediante Dig-ELISA y coproscopia tomadas como prueba patrón (100% sensibilidad y especificidad).

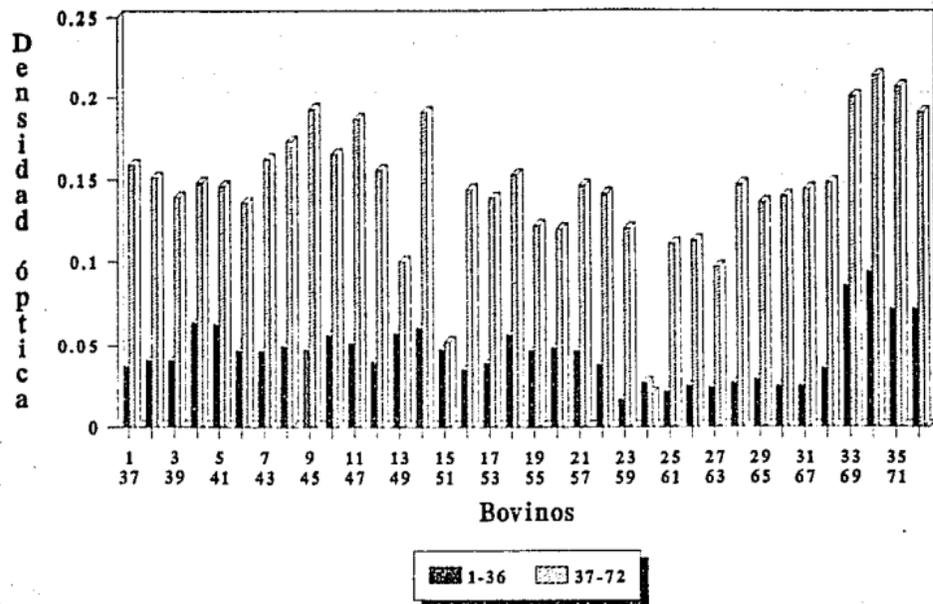
Dig-ELISA Sedimentación

	(+)	(-)	
(+)	34 ^a	4 ^b	38
(-)	2 ^c	32 ^d	34
TOT.	36	36	72

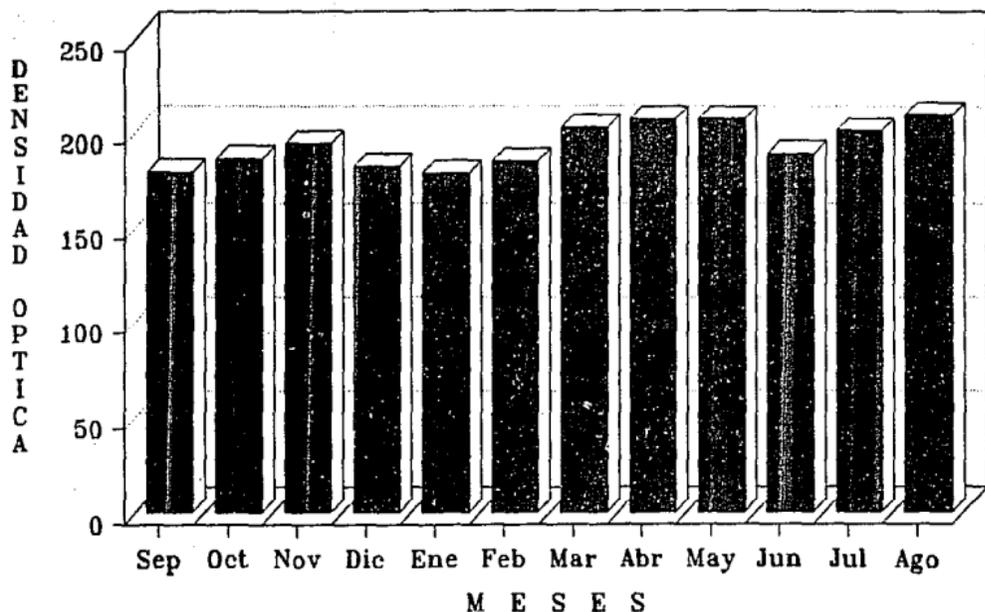
$$\star \text{ Sensibilidad} = \frac{a}{a + c} = 94.44\%$$

$$\star\star \text{ Especificidad} = \frac{d}{b + d} = 88.88\%$$

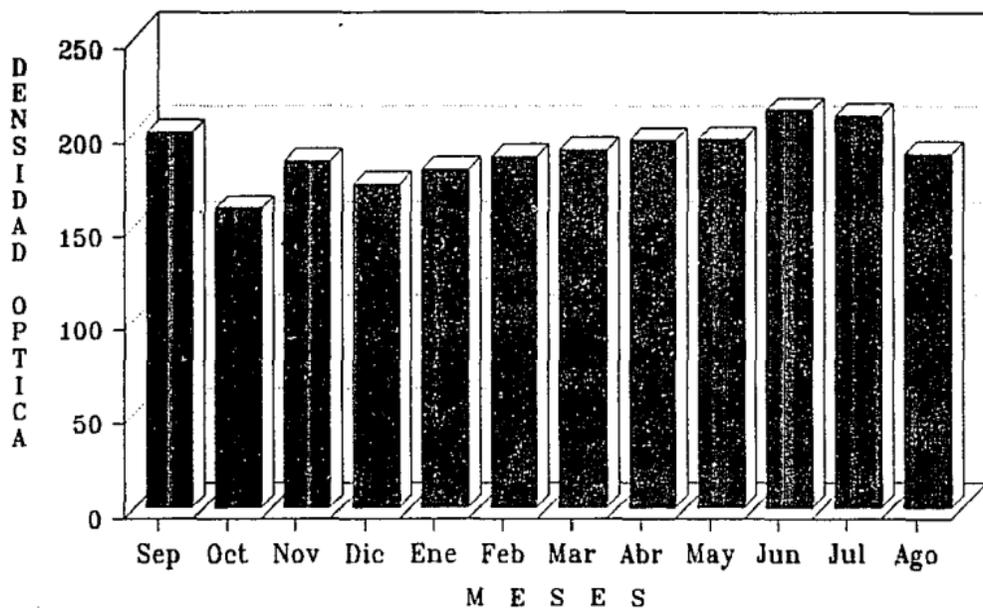
**Gráfica 1. Perfil cinético de sueros
previamente conocidos para la
estandarización de la prueba de ELISA**



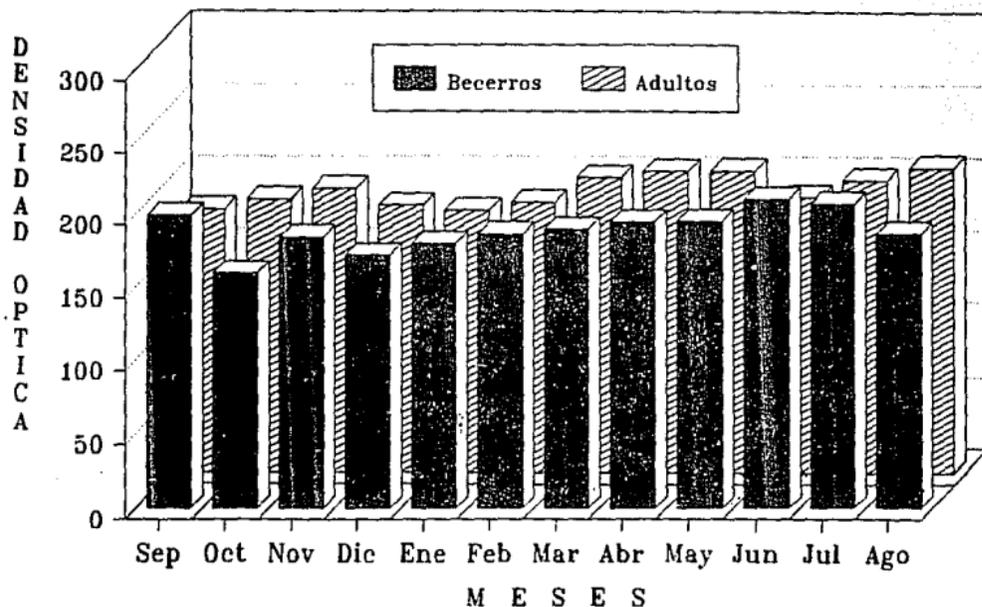
Gráfica 2. Perfil cinético de sueros de bovinos adultos del Valle de Tulancingo, Hgo. (*Fasciola hepatica* - ELISA)



Gráfica 3. Perfil cinético de sueros de
becerros del Valle de Tulancingo , Hgo.
(*Fasciola hepatica* - ELISA)



Gráfica 4. Perfil cinético de sueros de bovinos del Valle de Tulancingo , Hgo. (*Fasciola hepatica* - ELISA)



Gráfica 5. Análisis coproparasitológico
Porcentaje de bovinos positivos a huevos
de *Fasciola hepatica*

