

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**EVALUACIÓN DE LA TÉCNICA AMS III CONTRA LA TÉCNICA
TRADICIONAL DE DENNIS Y COLABORADORES PARA EL
DIAGNÓSTICO DE DISTOMATOSIS HEPÁTICA EN OVINOS DE LA
ALDEA EL CARPINTERO, CHIANTLA, HUEHUETENANGO**

MAX ROBERTO CHANG ISHCOL

NOVIEMBRE 2008

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**EVALUACIÓN DE LA TÉCNICA AMS III CONTRA LA TÉCNICA
TRADICIONAL DE DENNIS Y COLABORADORES PARA EL
DIAGNÓSTICO DE DISTOMATOSIS HEPÁTICA EN OVINOS DE LA
ALDEA EL CARPINTERO, CHIANTLA, HUEHUETENANGO**

TESIS

**PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD
DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD DE
SAN CARLOS DE GUATEMALA**

POR

MAX ROBERTO CHANG ISHCOL

COMO REQUISITO, PREVIO A OPTAR AL GRADO ACADEMICO DE

MÉDICO VETERINARIO

GUATEMALA, NOVIEMBRE 2008

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
JUNTA DIRECTIVA**

DECANO: Lic. Zoot. Marco Vinicio de la Rosa Montepeque
SECRETARIO: Med. Vet. Marco Vinicio García Urbina
VOCAL I: Med. Vet. Yeri Edgardo Veliz Porras
VOCAL II: Mag. Sc. Fredy Rolando González Guerrero
VOCAL III: Med. Vet. Y Zoot. Mario Antonio Motta González
VOCAL IV: Br. David Granados Dieseldorff
VOCAL V: Br. Luis Guillermo Guerra Bone

ASESORES

M.V. Manuel Eduardo Rodríguez Zea

M.V. Ludwig Figueroa

M.V. Jaime Méndez

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los estatutos de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de tesis titulado

“EVALUACIÓN DE LA TÉCNICA AMS III CONTRA LA TÉCNICA TRADICIONAL DE DENNIS Y COLABORADORES PARA EL DIAGNÓSTICO DE DISTOMATOSIS HEPÁTICA EN OVINOS DE LA ALDEA EL CARPINTERO, CHIANTLA, HUEHUETENANGO”

Que fuera aprobado por la Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título profesional de

MÉDICO VETERINARIO

TESIS QUE DEDICO

A DIOS: por ser la razón de mi vida, mi amigo y por quien he alcanzado mis metas.

A MIS PADRES: Ricardo Chang Campang y Antonieta Ishcol de Chang por su apoyo incondicional, sus consejos y por ser mis guías. Los amo mucho.

A MIS MARAVILLOSOS ABUELOS: Ramón Chang Liang, Rosa Campang Che y María Barrios Corzo. Por ser unos seres extraordinarios con y por dar su vida por la familia.

A DAVID: mi hermano, mi amigo y quien me ha acompañado toda mi vida.

A TODA MI FAMILIA: Familia Skol Estín, Familia Chang Santizo, Familia Gutiérrez Chang, Familia Leche-Ishcol, Familia Ishcol Pineda. Aunque algunos no estén presentes, son parte de mi vida y han influido en ella.

A JORGE GRANADOS: por su apoyo incondicional, por ser mi mejor amigo y confidente en todo momento.

A MIS AMIGOS: Alejandra, Sandra, Sofy, Elvia, Anamari, Leslie, Edvin, Jeanette.

AL EQUIPO TÉCNICO DE ANAVI: Dr. Edgar Bailey, por todo su apoyo y todos sus consejos. Dr. Manuel Hoffman.

A MIS ASESORES: M.V. Manuel Rodríguez, M.V. Jaime Méndez y M.V. Ludwig Figueroa por su paciencia y confianza mí.

Y a cada una de las personas que no he mencionado, y saben quiénes son, que de alguna u otra forma han formado parte de mi vida y han estado conmigo tanto en buenos momentos como en situaciones difíciles enseñándome que sí se puede salir adelante.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de San Carlos de Guatemala y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, así como al claustro de catedráticos y personal administrativo por haberme formado en esta maravillosa carrera.

A mis asesores M.V. Manuel Rodríguez, M.V. Jaime Méndez y M.V. Ludwig Figueroa por guiarme durante el desarrollo de este trabajo de investigación.

A la Asociación de Avicultores de Guatemala (ANAVI) por ser un apoyo imprescindible en el proceso de esta investigación.

ÍNDICE

I	INTRODUCCIÓN.....	1
II	HIPÓTESIS.....	2
III	OBJETIVOS.....	3
	3.1 General.....	3
	3.2 Específicos.....	3
IV	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
	4.1 <i>Fasciola hepatica</i>	4
	4.1.1 Taxonomía.....	4
	4.1.2 Generalidades.....	4
	4.1.3 Morfología.....	4
	4.2.4 Ciclo biológico	5
	4.2 DISTOMATOSIS	7
	4.2.1 Sinónimos.....	7
	4.2.2 Etiología.....	7
	4.2.3 Epidemiología.....	8
	4.2.4 Patogenia.....	9
	4.2.5 Presentación clínica.....	9
	4.2.5.1 Fasciolosis aguda.....	10
	4.2.5.2 Fasciolosis subaguda	11
	4.2.5.3 Fasciolosis crónica	11
	4.2.6 Lesiones.....	12
	4.2.7 Diagnóstico.....	13
	4.2.7.1 Diagnóstico clínico.....	13
	4.2.7.2 Diagnóstico coproparasitológico.....	13
	4.2.7.3 Inmunodiagnóstico	14
	4.2.7.4 Hallazgos de necropsia	14
	4.2.8 Diagnóstico diferencial.....	15
	4.2.9 Tratamiento.....	16
	4.2.10 Prevención.....	16
	4.2.10.1 Segregación del ganado.....	17

	4.2.10.2 Ganado en terrenos muy contaminados.....	17
	4.2.10.3 Reducción de la contaminación de los pastos....	18
	4.2.10.4 Control químico de caracoles.....	18
	4.2.11 Inmunidad.....	18
v	MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
	5.1 Materiales.....	19
	5.1.1 Recursos humanos.....	19
	5.1.2 Recursos biológicos.....	19
	5.1.3 De campo.....	19
	5.1.4 Centros de referencia.....	20
	5.1 Metodología.....	21
	5.2.1 Selección de la localidad.....	21
	5.2.2 Selección de la muestra.....	21
	5.2.3 Recolección de las muestras.....	21
	5.2.4 Transporte de las muestras.....	21
	5.2.5 Procesamiento de las muestras.....	21
	5.3 Técnicas de laboratorio.....	22
	5.3.1 Técnica de Dennis y Colaboradores.....	22
	5.3.2 Técnica AMS III.....	23
	5.3.2.1 Preparación.....	23
	5.3.2.2 Procedimiento.....	23
	5.4 Análisis estadístico.....	24
VI	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	25
VII	CONCLUSIONES.....	27
VIII	RECOMENDACIONES.....	28
IX	RESUMEN.....	29
X	BIBLIOGRAFÍA.....	30
XI	ANEXOS.....	32
	11.2 ANEXO 1.....	33
	TABLA 1. Registro de resultados del diagnóstico de huevecillos de <i>Fasciola hepatica</i> en heces de ovinos de la Aldea El Carpintero, Chiantla, Huehuetenango	33

TABLA 2. Cantidades de huevos encontrados por medio de las técnicas de Dennis y Colaboradores y por la técnica AMS III.....	35
GRÁFICA 1. Cantidades de huevos encontrados por medio de las técnicas de Dennis y Colaboradores y por la técnica AMS III.....	35
TABLA 3. Cantidades y porcentajes de resultados de las Técnicas de Dennis y Colaboradores y AMS III.....	35
GRÁFICA 2. Resultados obtenidos por medio de la técnica de Dennis y Colaboradores.....	36
GRÁFICA 3. Resultados obtenidos por medio de la técnica AMS III.....	36
GRÁFICA 4. Tiempo total en minutos utilizado para procesar las muestras por medio de las técnicas de Dennis y Colaboradores y AMS III.....	37
TABLA 4. Promedios de tiempo utilizado para realizar las técnicas de Dennis y Colaboradores y AMS III.....	37
GRÁFICA 5. Promedios de tiempo utilizado para realizar las técnicas de Dennis y Colaboradores y AMS III.....	37
GRÁFICA 6. Tiempo utilizado para realizar la técnica de Dennis y Colaboradores	38
GRÁFICA 7. Tiempo utilizado para realizar la técnica AMS III.....	38
GRÁFICA 8. Tiempos utilizados para realizar las técnicas de Dennis y Colaboradores y AMS III.....	39
11.2 ANEXO 2.....	40
11.2.1 Prueba de Concordancia.....	40
11.2.2 Diferencia Significativa en el diagnóstico.....	41
11.2.3 Determinación de la eficiencia del tiempo.....	42
APÉNDICES.....	43
APÉNDICE 1. Diagnóstico diferencial de las distintas formas clínicas de fasciolosis.....	44
Tratamiento para distomatosis hepática.....	45

I. INTRODUCCIÓN

La distomatosis hepática en ovinos del departamento de Huehuetenango es endémica según reportes presentados anteriormente y registros de diferentes fundaciones que trabajan en el sector.

El diagnóstico oportuno de esta enfermedad se ha convertido en una herramienta necesaria tanto para los médicos veterinarios como para todo el personal que tenga relación con la salud humana, debido a que la distomatosis hepática es un problema en salud animal y humana.

El método de Dennis y colaboradores ha sido utilizado tradicionalmente para el diagnóstico de distomatosis hepática en animales y ha sido la herramienta de elección para los médicos veterinarios, debido a la facilidad para obtener los materiales, aunque el procedimiento requiere de mucho tiempo del laboratorista o de quien trabaje las muestras de heces.

El método AMS III ha sido utilizado para el diagnóstico de huevos de *Paragonimus sp.* en seres humanos por medio de muestras de heces y de flemas, se considera viable para el diagnóstico de *Fasciola hepatica* debido a que son trematodos pertenecientes a la misma familia, considerando la densidad y el espesor de las capas externas de los huevos.

Por lo tanto el presente trabajo pretende evaluar si la técnica de AMS III es más efectiva o no que la de Dennis y colaboradores para el Diagnóstico de *Fasciola hepatica* en ovinos de la aldea El Carpintero, municipio de Chiantla, departamento de Huehuetenango.

II. HIPÓTESIS

Se logra determinar con mayor efectividad la presencia de *Fasciola hepatica* por medio del método AMS III que con el método tradicional de Dennis y colaboradores.

III. OBJETIVOS

3.1 General:

- Contribuir al conocimiento del diagnóstico de distomatosis hepática en ovinos de la Aldea El Carpintero, Chiantla, Huehuetenango.

3.2 Específicos:

- Establecer la concordancia entre el método de Dennis y Colaboradores y el método AMS III para el diagnóstico de distomatosis hepática.
- Determinar la efectividad del método AMS III para el diagnóstico de distomatosis hepática en ovinos.
- Evaluar la eficiencia en tiempo de ambas técnicas en el procesamiento de las muestras.

IV. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1 Fasciola hepatica

4.1.1 Taxonomía

- Phylum: Platyhelminthes
 - Clase: Trematoda
 - Subclase: Digenea
 - Orden: Echinostomiformes
 - Familia: Fasciolidae
 - Género: *Fasciola*
 - Especie: hepatica

4.1.2 Generalidades

Parasita los conductos biliares de oveja, cabra, vaca y otros rumiantes, cerdo, liebre, conejo, castor, caballo, perro, gato, y hombre. Puede localizarse en pulmón o bajo la piel en el caso de caballos y humano. Es un parásito cosmopolita y es el agente de la enfermedad conocida como fasciolosis (distomatosis) en donde son más susceptibles ovejas y vacas (2, 16).

4.1.3 Morfología

Llega a alcanzar 30 x 13 mm. Su cuerpo es ancho en la parte anterior con una proyección cónica seguida de un par de hombros, tiene forma foliácea, aplanado dorsoventralmente y con tegumento cubierto de espinas afiladas. Su color es variado entre pardo grisáceo y gris. La ventosa ventral está situada a la altura de los hombros, y tiene un tamaño casi igual a la oral. Poseen faringe y un corto esófago, los ciegos intestinales están muy ramificados, de modo particular en los márgenes laterales y se extienden hacia la parte posterior. La vesícula excretora también está muy ramificada. El poro genital está situado en el centro, inmediatamente delante de la ventosa ventral. El

ovario está situado a la derecha, delante de los testículos, y es ramificado. Los testículos están situados en tándem y son ramificados, ocupan el espacio central de los dos cuartos intermedios del cuerpo. Tiene un cirro bien desarrollado, y el saco del cirro contiene también la próstata y la vesícula seminal. Las vitelógenas están muy desarrolladas, ocupan los márgenes laterales e, incluso, se extienden hacia el centro, contienen finos folículos que ocupan los márgenes laterales. Los conductos de los folículos se unen para formar dos conductos transversales, que se unen en la línea media del cuerpo en un reservorio del que parte el conducto longitudinal hacia el ootipo. El útero se encuentra delante de los testículos. No existe receptáculo seminal. Los huevos son elipsoidales, operculados, de color amarillento, tienen la cáscara fina y son operculados miden 130 – 150 por 63 – 90 μm y no están embrionados cuando son eliminados (14, 16).

4.1.4. Ciclo biológico

Los hospedadores infectados por *F. hepatica* eliminan huevos del parásito al ambiente. Una fasciola adulta pone entre dos y cinco mil huevos al día que, desde la vesícula biliar, pasan al intestino mezclados con la bilis y salen al exterior con las heces. El número de huevos eliminados por los vermes depende de factores relacionados con la receptividad del hospedador y el propio trematodo, también influyen las reinfecciones, la intensidad parasitaria (efecto multitudinario) y duración de la infección y la actividad vesicular, que depende de la ingesta. La eliminación fecal de los huevos no es constante. Existen variaciones horarias diarias poco importantes, sin embargo, son de interés las variaciones estacionales (2, 7).

Los huevos pasan al duodeno con la bilis y salen del hospedador con las heces. Éstos en el momento de la puesta no están segmentados y su evolución requiere su separación de la masa fecal y condiciones termohigrométricas adecuadas. Los límites térmicos que permiten su desarrollo oscilan entre 10 y 30 °C, siendo indispensable además, que estén recubiertos de una fina película de agua. A 26 °C, los huevos eclosionan al cabo de unos 10 - 12 días (hasta dos meses). Si existen estas condiciones, en el interior de huevo se desarrolla una larva llamada Miracidio (7).

El miracidio es ancho en su parte anterior, con una pequeña protuberancia papiliforme; su tegumento es ciliado, y posee un par de manchas oculares. La eclosión del miracidio depende de la luz. La banda de 650 nm del espectro estimula la producción de una enzima proteolítica fotoactiva que debilita la unión del opérculo con la cáscara del huevo. La actividad del miracidio y la hipertonía del medio interno del huevo presionan el opérculo que se abre y permite su salida al exterior. A 26 °C se completa el proceso en 12 días, aunque en condiciones naturales se requieren varias semanas (hasta 2 meses. Cuando la temperatura oscila entre 10 – 12 °C. la vida del miracidio depende de sus reservas energéticas, debiendo encontrar un molusco hospedador adecuado antes de 24 horas. En la búsqueda del hospedador intermediario están implicados estímulos quimiotácticos e intervienen la temperatura, el pH, el oxígeno disuelto, la composición iónica, la salinidad y la turbidez del agua. Esta fase larvaria debe encontrar, para continuar su desarrollo, un caracol anfibio del género *Lymnaea* principalmente *L. truncatula* y *L. columella*, así también pueden estar involucrados *L. humilis*, *L. bulimoides*, *L. viator* y *L. diaphena*. El miracidio penetra activamente en el caracol, perdiendo en el proceso la cubierta ciliada, y da lugar a un Esporocisto, que alcanza una longitud superior a 1 mm. No obstante, parece que la última fase de la penetración en el molusco no es efectuada por el miracidio, sino por el esporocisto joven (5, 16).

Cada esporocisto da lugar a entre cinco y ocho Redias, que llegan a medir, cuando se desarrollan completamente, entre 1 y 3 mm de longitud. Aunque en condiciones desfavorables se pueden desarrollar Redias hijas, la siguiente generación normal es de Cercarias, éstas tienen ventosas y un intestino similar al de los adultos, aparato excretor y sistema nervioso, glándulas especiales y a veces una espina anterior. Frecuentemente posee una cola, mediante la cual se mueve en el agua después de haber abandonado el molusco al cabo de un período que va de cuatro semanas y media a siete semanas después de la infestación. En un período de tiempo comprendido entre unos minutos y dos horas, las cercarias se fijan a las hojas de hierba u otras plantas, justo debajo de nivel del agua y, después de perder la cola, las glándulas cistógenas secretan una cubierta hasta formar quistes de alrededor de 0.2 mm de diámetro. Algunas se pueden enquistar

en la superficie del agua y caen al fondo. En este momento, las cercarias ya son infestantes y se llaman Metacercarias. El hospedador definitivo las ingiere junto con las plantas sobre las que se encuentran enquistadas o pueden entrar en el agua para beber, al remover las metacercarias que se encuentran en el fondo (9, 16).

Las metacercarias ingeridas se desenquistan en el duodeno. Dentro de las primeras 24 horas post-infestación, la mayoría de los vermes inmaduros se encuentran en la cavidad abdominal, y al cabo de cuatro o seis días, la mayor parte de ellos han atravesado ya la cápsula hepática y se hallan migrando por el parénquima hepático. Durante cinco a seis semanas, los vermes migran por el hígado y al cabo de unas siete semanas después de la infestación, comienzan a penetrar en los conductos biliares principales; a partir de este momento, se concentran en ellos en número cada vez mayor, y alcanzan la madurez sexual. A partir de la novena semana, aparecen huevos del parásito en la bilis y, después en las heces (6, 16).

4.2 DISTOMATOSIS

4.2.1 Sinónimos: Fasciolosis hepática, Fasciolasis hepatica

4.2.2. Etiología

Fasciola hepatica es el trematodo hepático más común y más importante, que presenta una distribución mundial. La fasciolosis hepática tiene una importancia económica importante principalmente en ovejas o en bóvidos, aunque otras especies pueden actuar como reservorios de la infestación, siendo las ovejas con infestaciones crónicas la fuente más importante de contaminación de los pastos (5 – 7).

4.2.3 Epidemiología

El riesgo de fasciolosis hepática depende del número de caracoles infestados que existan en la zona de pastos (15).

La presencia de *F. hepatica* depende de los factores que controlan la existencia de los moluscos hospedadores intermediarios, es decir, la existencia de hábitat adecuados para los limneas y condiciones ambientales idóneas, fundamentalmente de la humedad y de la temperatura. Suficiente humedad y temperatura adecuada (mayor de 10 °C) son necesarias para la reproducción de los caracoles y para el desarrollo de los miracidios y la formación de cercarias en los moluscos. La epidemiología de la fasciolosis también depende de factores topográficos e, incluso, de los sistemas de pastoreo utilizados. La contaminación continua de los pastos proviene de ovinos crónicamente infectados, donde las Fasciolas, en ausencia de tratamientos, pueden vivir tanto como éstos (8-11 años). En casos extremos un animal puede eliminar 2-3.5 millones de huevos al día con sus deyecciones (9, 7).

Algunos Lymnaeidos tienen un hábitat más acuático que otros, pero todos requieren un ambiente húmedo o con agua. En general, prefieren zonas pantanosas bajas y no ácidas con aguas de movimiento lento, aunque otras zonas potencialmente peligrosas como fuente de infestación son aquellas con arroyos, con manantiales, con drenajes obstruidos o con vertidos procedentes, por ejemplo de bebederos. También son muy adecuadas para que se produzca la infestación las tierras con riegos frecuentes. Los caracoles se entierran bajo la tierra para sobrevivir a los períodos de sequía, y liberan cercarias en el momento en que existe agua libre. Los hábitats de los caracoles pueden ser permanentes o temporales. Estos últimos varían de tamaño según la disponibilidad de agua. Las construcciones de carreteras pueden alterar el sistema de drenajes y el riesgo que se presente la enfermedad. La mejora de pastos turbosos añadiéndoles cal puede incrementar el riesgo ya que se reduce la acidez del suelo y permite la colonización de caracoles (12, 15).

4.2.4. Patogenia

La fasciolosis hepática aguda está causada por el paso de *F. hepatica* jóvenes a través del parénquima hepático. Los signos clínicos aparecen unas 5 – 6 semanas después de la ingestión de un gran número de metacercarias. Para entonces los

trematodos migratorios tienen el suficiente tamaño para causar importantes lesiones físicas al hígado. Se produce una insuficiencia hepática aguda y hemorragias (11, 15).

La fasciolosis crónica sólo se desarrolla tras la invasión de los trematodos adultos de los conductos biliares. Aquí causan colangitis, obstrucción biliar, fibrosis y pérdida de proteínas plasmáticas a través del epitelio. Se produce hipoalbuminemia debido a la infrautilización y retención de nitrógeno. También tiene lugar una pérdida de sangre completa causada por la alimentación de los trematodos. Esto aumenta la hipoalbuminemia y eventualmente de lugar a una anemia. Las reservas de hierro disminuyen de forma continua y por ello la anemia, que inicialmente es normocrómica, termina siendo hipocrómica. Estas alteraciones son más graves en ovejas con desnutrición. La infestación crónica puede limitar la tasa de crecimiento y la conversión alimentaria de los novillos en crecimiento y la tasa de crecimiento en bóvidos de engorde. Las ovejas pueden presentar una disminución de la fecundidad, de la tasa de crecimiento y de la producción de lana (15, 18).

4.2.5. Presentación clínica

La fasciolosis puede presentar tres formas clínicas – aguda, subaguda y crónica – cuya aparición está relacionada con la época del año, la disponibilidad de metacercarias en los pastos y el número de metacercarias ingeridas. Esta clasificación se basa principalmente en los hallazgos de necropsia y depende del número de parásitos que se encuentran en el hígado y de su estado de desarrollo (3, 7).

La manifestación clínica de la infestación depende en gran medida de la densidad de metacercarias sobre el pasto. Ésta será mayor cuando las condiciones climáticas han sido favorables para la reproducción y supervivencia de los caracoles. Una ingestión alta de metacercarias en un corto período de tiempo provoca el proceso agudo; la ingestión de pocas metacercarias a lo largo de un período de tiempo prolongado provoca el proceso crónico. El grado en que la inmunidad afecta a la infestación depende de cada especie. Las ovejas y cabras no desarrollan una respuesta inmunitaria intensa frente a ***F. hepatica***

y son susceptibles a lo largo de toda su vida. Los bóvidos expulsan con el tiempo la mayoría, pero no todos los trematodos, y alcanzan una inmunidad parcial, aunque no completa tras reinfestaciones. *F. hepatica* tiene numerosos mecanismos de supervivencia que le permiten evadir el sistema inmunitario del hospedador, incluyendo cambios de su antígeno de superficie durante la migración, la liberación de una enzima proteolítica que puede fragmentar las inmunoglobulinas y modular la respuesta inmunitaria del hospedador (3, 4, 15,18).

4.2.5.1 Fasciolosis aguda

Se origina por la ingestión, casi simultánea, de un millar de metacercarias y suele afectar a corderos expuestos por primera vez al parásito. Se han descrito dos tipos de fasciolosis aguda en la oveja. El primero se caracteriza por la existencia de 1000-2500 vermes en el hígado, de los cuales al menos el 60% se encuentran migrando por el parénquima hepático; en el segundo se encuentran 700-1000 vermes inmaduros, albergando los conductos biliares un porcentaje de duelas mayor que en el tipo anterior. Como resultado del traumatismo producido por el gran número de vermes, los animales afectados muestran un cuadro de anemia hemorrágica aguda de tipo normocítico y normocrómico, aunque puede observarse también cierto grado de macrocitosis. La evolución de la anemia puede ser tan rápida que es posible observar muertes repentinas durante el período de prepatencia, debidas a la enorme pérdida de sangre y al fallo de la función hepática (7, 10).

En los casos agudos producidos en ovejas los animales mueren súbitamente, aparece una espuma sanguinolenta en los orificios nasales y se elimina sangre por el ano, como en el caso de ántrax. (16) El curso de la enfermedad es corto, muriendo los animales después de 12 días tras la aparición de los síntomas. Es común la complicación de la fasciolosis aguda con hepatitis necrótica infecciosa. La emigración de fasciolas inmaduras por el parénquima hepático puede activar esporas de *Clostridium sp.* (7, 8).

4.2.5.2. Fasciolosis subaguda

Se producen formas intermedias y en ovejas se ha descrito un síndrome subagudo. Los principales signos clínicos son el adelgazamiento y la palidez de las membranas mucosas. El edema submaxilar sólo se observa en algunos casos, pero muchos animales mostrarán dolor a la palpación sobre la región del hígado (15).

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 hallan por término medio 1000 vermes (500-1500) existiendo un equilibrio entre las formas adultas y las inmaduras. Las ovejas afectadas pierden peso durante 1-2 semanas antes de la aparición de los síntomas y se muestran letárgicas e incapaces de mantenerse con el resto del rebaño. La palidez de las mucosas es patente y muchas de las ovejas afectadas se resienten a la palpación de la parte anterior del abdomen, aunque sólo un pequeño número tiene hepatomegalia palpable. Algunos animales pueden mostrar edema submandibular y ascitis. Las ovejas con fasciolosis subaguda, generalmente, sobreviven durante 1-2 semanas desde la aparición de los síntomas (7, 8).

4.2.5.3. Fasciolosis crónica

No se manifiesta hasta varias semanas después de que haya remitido el riesgo del proceso agudo. Las ovejas afectadas adelgazan, desarrollan un edema submaxilar (mandíbula en botella) y muestran palidez de las mucosas a lo largo de una semana. Se les puede caer vellón. El curso de la enfermedad puede durar hasta 2-3 semanas en aquellas que mueren; muchas sobreviven pero su estado corporal es malo durante un período de tiempo largo. Los bóvidos también adelgazan, especialmente si están lactando, se reduce la producción láctea y pueden cursar con una diarrea crónica (15).

La fasciolosis crónica es la forma clínica más frecuente en la oveja. Se ha comprobado que, en muchos pastos y durante períodos de tiempo prolongados, es habitual la ingestión de cantidades inferiores a 10 metacercarias al día. La población

parasitaria está prácticamente formada por vermes adultos (aproximadamente, 250-300) y los síntomas se originan por la presencia de las duelas en los conductos biliares. El síntoma más aparente es la pérdida de peso, acompañada por una anemia hemorrágica crónica e hipoalbuminemia. Los animales afectados están delgados, muestran palidez de las mucosas y suelen presentar ascitis y edema submandibular. Los animales enfermos pueden sobrevivir durante varias semanas e incluso meses (7).

En bovinos el síndrome clínico más frecuente es la forma crónica. Afecta principalmente a los animales jóvenes. Los síntomas más característicos son pérdida de peso, anorexia y palidez de las mucosas. Los animales afectados se muestran poco vivaces e incluso letárgicos. El edema submandibular y la ascitis no son características constantes y en ningún momento se palpa el hígado ni existe dolor a la palpación o percusión en la región hepática. La constipación intestinal es intensa, eliminándose heces duras y quebradizas. Las vacas parasitadas son más receptivas a la infección por ***Salmonella dublin***, probablemente por la supresión de la hipersensibilidad retardada frente a las bacterias, siendo incapaces los animales afectados de eliminarlas de sus tejidos y actuando como portadores activos (7, 13).

4.2.6. Lesiones

Produce una hepatopatía grave en la oveja. Los vermes alcanzan el hígado una semana después de la ingestión de las metacercarias y originan un cuadro patológico, caracterizado por necrosis y hemorragias. Salvo en procesos agudos, que producen bajas frecuentes debido al extenso traumatismo, originado por la migración intrahepática de las fasciolas inmaduras, en la fasciolosis crónica se da tiempo a una reacción orgánica instaurándose lesiones visibles. Se desarrolla fibrosis hepática, como consecuencia de la fase migratoria y colangitis hiperplásica, por la presencia de los vermes adultos en los conductos biliares y vesícula. En el ganado vacuno, la reacción orgánica es más enérgica que en el ovino, produciéndose una intensa reacción tisular, fibrosis y calcificación de los conductos biliares, que actuando como una barrera mecánica, confieren una significativa resistencia frente a futuras reinfecciones. Se ha demostrado que una infección única

suele resolverse espontáneamente, con un período de patencia no superior a 30-40 semanas (7, 11).

4.2.7 Diagnóstico

El diagnóstico de la fasciolosis puede realizarse mediante la observación de la sintomatología, la utilización de técnicas específicas (biopatológicas, parasitológicas e inmunológicas) y los hallazgos de necropsia (7).

4.2.7.1 Diagnóstico clínico

La fasciolosis es un proceso enzoótico cuyas manifestaciones clínicas dependen de la especie de hospedador afectada y del número y fase de desarrollo de las fasciolas presentes en el hígado. La determinación de la actividad plasmática de algunas enzimas de origen hepático ha demostrado ser muy útil en el estudio y diagnóstico de hepatopatías en Medicina Veterinaria. El valor de estas enzimas depende de su sensibilidad, especificidad y estabilidad en el plasma (7, 8, Apéndice 1)

4.2.7.2. Diagnóstico coproparasitológico

Consiste en la detección de huevos de *F. hepatica* en las heces de los animales sospechosos. Se han descrito numerosos métodos, desde simples extensiones hasta laboriosas técnicas cuantitativas. El propósito de estas últimas es concentrar los huevos a partir de una muestra de heces, mediante métodos de flotación o de sedimentación. Los métodos de flotación utilizan soluciones de alta densidad como el sulfato de zinc o el yodomercuriato potásico. El inconveniente de las técnicas de flotación es la deformación colapso de los huevos por fenómenos osmóticos, debidos a las soluciones utilizadas y pueden ser ineficaces ante escasas eliminaciones de huevos (menores a 10hg) por lo que son más recomendables las técnicas de sedimentación. Los métodos de sedimentación se basan en la mayor densidad de los huevos de los trematodos que los detritus que se hallan en las heces, lo que permite concentrarlos en el sedimento tras repetidos lavados.

La adición de un colorante de contraste al sedimento permite destacar el color amarillo dorado de los huevos. En las primoinfecciones agudas los análisis coprológicos son negativos; el hallazgo de 300 – 600 hg en ovinos y entre 100-200 en vacuno, indican una infección probablemente patógena, que requiere la aplicación de un fasciolicida (4, 7).

4.2.7.3 Inmunodiagnóstico

Se han descrito varias técnicas serológicas de precipitación, aglutinación, inmunofluorescencia, ensayo inmunoenzimático (ELISA) y fijación del complemento para el diagnóstico de la fasciolosis, fundamentalmente en infecciones experimentales. La máxima eficacia se obtiene en el diagnóstico de la fasciolosis en rebaños infectados de forma natural, desaconsejándose su uso para casos individuales. También se trata, mediante técnicas de biología molecular, de caracterizar genes de *F. hepatica* que codifiquen antígenos específicos. Las técnicas de inmunodiagnóstico pueden ser de gran valor para detectar la infección por *F. hepatica* durante el período de prepatencia y para la realización de estudios epidemiológicos (2, 7).

4.2.7.4. Hallazgos de necropsia:

- Fasciolosis hepática aguda: se caracteriza por la presencia de un hígado tumefacto con numerosas lesiones. La cavidad peritoneal puede contener un exceso de suero teñido por sangre. La cápsula hepática presenta numerosas perforaciones de pequeño tamaño y hemorragias subcapsulares. El parénquima muestra trayectos de tejido destruido y está más friable de lo normal. Los trematodos inmaduros son tan pequeños que no se pueden ver con facilidad a simple vista. Se identifican mejor tomando una secreción muy fina del hígado y agitándola en agua, permitiendo que los trematodos se hundan hacia el fondo. El tamaño de los trematodos permite calcular la duración de la infestación, y puede permitir determinar cuál es la pradera contaminada (4, 7).

- Fasciolosis hepática crónica: en los conductos biliares aumentados de tamaño y engrosados, especialmente los del lóbulo ventral del hígado, se pueden encontrar trematodos foliáceos que miden unos 3.5 x 1 cm. Los conductos biliares pueden sobresalir por encima de la superficie del hígado, y se pueden observar quistes debido a la obstrucción de los conductos por la presencia de trematodos y de células epiteliales descamadas. En bóvidos es frecuente encontrar conductos biliares calcificados, pero no así en ovejas. El parénquima hepático presenta una fibrosis generalizada y los ganglios linfáticos hepáticos tienen una coloración marrón oscura. Otras alteraciones asociadas son anemia, edema y caquexia (7).

4.2.8. Diagnóstico diferencial

Debido a que la distomatosis puede presentar algunos signos clínicos o lesiones similares con otras enfermedades, es necesario que se haga una diferenciación entre ellas, así tenemos para:

Fasciolosis aguda

- Haemoncosis
- Hepatitis necrótica infecciosa
- Eperitoozonosis
- Carbunco
- Enterotoxemia

Fasciolosis crónica

- Deficiencias Nutricionales de cobre o cobalto
- Otras parasitosis internas, incluyendo gastroenteritis parasitaria (especialmente hemoncosis en ovejas y ostertagiosis en bóvidos)
- Enfermedad de Johne (7, 15).

4.2.9. Tratamiento

No todos tienen la misma eficacia contra todas las fases del desarrollo de *F. hepatica* en el interior del organismo. Hasta la fecha, el producto que más se acerca al

ideal es el triclabendazol. Para el tratamiento de las fasciolosis agudas es fundamental elegir un producto muy eficaz contra las formas juveniles que lesionan el parénquima hepático. Para los procesos crónicos se requiere un producto que sea eficaz contra los tremátodos adultos. Un factor importante a tener en cuenta es la seguridad del compuesto empleado ya que los mecanismos de detoxicación hepática se suelen encontrar alterados. Se pueden emplear tratamientos fasciolicidas con fines terapéuticos o preventivos para evitar los brotes. Algunos se unen a las proteínas plasmáticas, (closantel), o a los eritrocitos (clorsulón), prolongando así el tiempo de protección. Todos los fasciolicidas tienen un tiempo de retirada de leche, o están prohibidos en animales cuya leche está destinada a consumo humano, por lo que el mejor momento para tratar a las vacas lecheras es durante el período seco. Muchos productos combinan el fasciolicida con un nematocida, pero éstos sólo deberían emplearse cuando existe el riesgo simultáneo de los dos tipos de parásito (15, Apéndice 2)

4.2.10. Prevención

La fasciolosis, por su amplia distribución entre los rumiantes domésticos y muchas especies silvestres es difícilmente erradicable, pero sí puede controlarse, combinando los tratamientos antihelmínticos con medidas higiénicas y el control del pastoreo. La profilaxis de la fasciolosis debería comprender la aplicación correcta e integrada de las medidas siguientes: eliminación de los parásitos de los hospedadores definitivos infectados, disminución de las posibilidades de infección; y reducción del número de moluscos hospedadores intermediarios. La forma más importante y generalizada de profilaxis en todo el mundo es la aplicación estratégica de fasciolicidas que eliminan los parásitos de los animales infectados y que también contribuye a la reducción de la contaminación de los pastos. La elección del fármaco aparte de consideraciones económicas, debe basarse en el conocimiento de su eficacia frente a las diferentes fases del desarrollo de *F. hepatica*; y la epidemiología local, que nos permite conocer cuándo es mayor el riesgo de infección (1, 7).

En zonas endémicas es necesario tomar medidas preventivas debido a que la fasciolosis puede causar muertes súbitas o importantes pérdidas en la productividad. Es más rentable adoptar un enfoque estratégico que confiar en los tratamientos rutinarios, y además es menos probable que se induzca una resistencia antihelmíntica, aunque se requiere un conocimiento detallado del ciclo epidemiológico local. Se han diseñado modelos informáticos para ayudar a este proceso (1, 15).

4.2.10.1 Segregación del ganado:

Procedente de fuentes de infestación, es el método ideal de control, pero no siempre es practicable. La identificación y localización de los hábitats de los caracoles puede permitir planificar el pastoreo de modo que se eviten las zonas de peligro en los momentos de mayor riesgo. En lugares que los hábitats son pequeños y están claramente delimitados puede ser posible aislar de ellos al ganado mediante vallas (15).

4.2.10.2. Ganado en terrenos muy contaminados:

Protegiendo de la fasciolosis aguda aprovechando el intervalo de tiempo que transcurre desde la ingestión de las metacercarias hasta la aparición de la enfermedad. La administración de un tratamiento en este momento con un producto eficaz contra las fasciolas jóvenes eliminará a los parásitos migratorios antes de que causen graves daños hepáticos. Puede ser necesario un tratamiento posterior dependiendo de la duración de la ingestión de las metacercarias y el intervalo de tratamiento del producto elegido. El animal seguirá ingiriendo algunas metacercarias después de que haya pasado el principal período de riesgo, por lo que algunas semanas más tarde será necesario administrar un producto activo frente a *F. hepatica* adultas, para evitar posibles pérdidas por la fasciolosis crónica. El mejor momento para su administración depende de los patrones epidemiológicos locales (8, 15).

4.2.10.3. Reducción de la contaminación de los pastos:

Con metacercarias se reduce el riesgo de futuras infestaciones. Esto se puede llevar a cabo evitando la infestación de los caracoles con *F. hepatica* o reduciendo la población de caracoles. Para lograr el primer objetivo se debe eliminar las fasciolas

adultas de los conductos biliares de todo el ganado que se encuentra en los pastos durante las épocas templadas. Esto evita la eliminación de huevos y reduce el número de miracidios infestantes de caracoles en este momento crucial del ciclo epidemiológico. Sin embargo, pueden existir fuentes silvestres de huevos de *F. hepatica* que no se pueden controlar de esta forma. Se puede reducir la población de caracoles restringiendo el tamaño de su hábitat. Esto se puede lograr, donde sea posible, drenando zonas pantanosas y asegurando que las acequias, drenajes de los terrenos y los canales de agua se encuentre en buenas condiciones de mantenimiento (15).

4.2.10.4. Control químico de caracoles:

Se practicaba de forma generalizada antes de que existieran tratamientos fiables para los animales. Los caracoles del género *Lymnaea* tienen una enorme capacidad reproductora y recolonizan con rapidez las tierras húmedas. Por tanto, el tratamiento debe ser muy exhaustivo para que su efecto sea significativo y dure toda la estación, y además, no debe existir peligro de invasión de terrenos colindantes (15).

4.2.11 Inmunidad

La eficacia de la respuesta inmunitaria frente a *F. hepatica* es muy variable entre los diferentes hospedadores definitivos. Mientras que vacas y cabras adquieren cierta resistencia, ovejas y conejos son hospedadores muy receptivos y prácticamente no desarrollan resistencia alguna a la reinfección (7).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Materiales

5.1.1 Recursos humanos

- Estudiante
- Tres asesores
- Técnico del laboratorio de parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala

5.1.2 Recursos biológicos

- 40 ovinos de la aldea El Carpintero, Chiantla, Huehuetenango
- 40 muestras coprológicas de ovinos

5.1.3 De campo

- Vehículo
- Hielera de 5 litros de capacidad
- Libreta de apuntes
- Heces fecales de ovinos
- Masking tape
- 500 gramos de Sulfato de Sodio (Na_2SO_4) al 99%
- 1 litro de HCl 28%
- Pipetas Pasteur
- Tween 80
- Balanza digital de 0.1 a 400 gramos
- Mascarilla
- Tubos para centrifuga de 12 ml de capacidad
- Guantes de látex
- 500 ml Éter

- Gradillas para tubos de centrífuga de 24.5 x 7 x 4.5 centímetros
- 10 Jeringas de 10 ml
- Microscopio óptico con objetivos 4x, 10x, 40x y 100x
- Láminas portaobjetos estándar
- Láminas cubreobjetos de 24 x 48 milímetros
- Gaza
- Tijeras
- Beaker de 80 ml
- Frascos de 2 ml
- Centrífuga con capacidad para 2000 rpm.
- Detergente
- Frasco de vidrio de 1 litro
- Mortero
- Pistilo
- Tubos para prueba de Dennis de 75 ml
- Gradillas para Tubos de Dennis de 33 x 33 x 8 centímetros
- Lugol
- Cajas de Petri
- Estereoscopio binocular con aumentos de 0 a 30x
- Cámara fotográfica

5.1.4 Centros de referencia

- Biblioteca del Departamento de Parasitología de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
- Biblioteca Central de la Universidad de San Carlos de Guatemala

5.2. Metodología

5.2.1. Selección de la localidad: Para efectos del estudio se seleccionó la Aldea El Carpintero, ubicada en el Municipio de Chiantla, departamento de Huehuetenango, debido a que ésta es un área endémica a *Fasciola hepatica* y por ser un lugar donde existe alta población de ovinos. Por lo tanto, hay presencia de distomatosis hepática en los ovinos del lugar haciéndose necesario un método diagnóstico más rápido, económico y eficaz.

5.2.2. Selección de la muestra: se tomaron muestras de heces de 40 ovinos seleccionados al azar en la Aldea El Carpintero, mayores de 6 meses de edad, cuya alimentación es de manera tradicional, por pastoreo.

5.2.3. Recolección de las muestras: las muestras de heces fueron tomadas directamente del área rectal en cada animal utilizando para ello bolsas plásticas transparentes de 1 libra. Cada una de las muestras fue identificada con un número distintivo.

5.2.4. Transporte de las muestras: Las muestras de heces fueron transportadas al laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala en recipientes de duroport con hielo, para evitar que las heces se descompusieran y por lo tanto aumentaran su temperatura dañando la muestra.

5.2.5. Procesamiento de las muestras: en el laboratorio de Parasitología cada una de las muestras fue dividida en dos, con el propósito de elaborar ambas técnicas en cada una de las muestras recolectadas.

5.3. TÉCNICAS DE LABORATORIO

5.3.1. TÉCNICA DE DENNIS Y COLABORADORES (4)

- En un mortero mezclar perfectamente las heces agregar agua fría hasta formar una masa pastosa.
- Colocar aproximadamente 1 g de la mezcla fecal en un tubo de ensayo de 30 ml.
- Agregar 15 ml de solución detergente y mezclar bien con un agitador de vidrio. Para evitar que se forme espuma, no agitar bruscamente.
- Colar la mezcla a través de un embudo con malla y depositarla en un tubo de centrifuga de 50 ml.
- Enjuagar el tubo de ensayo con más solución detergente y vaciar, a través de un colador, en el tubo de la centrifuga.
- Con un movimiento circular, vaciar una cantidad suficiente de solución detergente sobre las heces sobrantes en el colador, hasta llenar el tubo de la centrifuga.
- Dejar reposar la mezcla del tubo de 5 a 15 minutos.
- Decantar las tres cuartas partes de la porción líquida del tubo de la centrifuga.
- Enjuagar la materia fecal sobrante en el colador para arrastrar cualquier huevecillo que haya quedado atrapado, llenando de nuevo el tubo de centrifuga. Eliminar los residuos del embudo.
- Dejar reposar nuevamente la mezcla del tubo de 5 a 15 minutos.
- Repetir la decantación de todo el líquido hasta dejar, más o menos 2 a 3 ml. No agitar el sedimento.
- Agregar el sedimento 1 a 3 gotas de tintura de yodo, dejando que repose la mezcla del tubo durante 2 a 5 minutos.
- Colocar todo el sedimento en una caja de Petri, agregar 15 a 20 ml de agua común y buscar huevecillos con un microscopio binocular de disección que amplifique a 18 x o más.

5.3.2. TÉCNICA AMS III (17)

Esta técnica, originalmente desarrollada para la detección de huevos de *Schistosoma* es adaptable para otros tremátodos.

5.3.2.1. Preparación:

Preparar el medio AMS de la siguiente manera:

- Solución A: Disolver 45 ml de HCl al 28% en 55 ml de agua.
- Solución B: Disolver 9.6 g de Na₂SO₄ en 100 ml de agua
- Mezclar solución A y la solución B 1:1 antes de usar.

5.3.2.2. Procedimiento:

- Colocar 0.5 g de muestra fecal, tomado de varias porciones de las heces, en un tubo pequeño que contenga una pequeña cantidad de agua y agitar vigorosamente.
- Adicionar agua para incrementar el volumen a 15 ml y filtrar la suspensión fecal a través de una gasa en un tubo apropiado para centrifugación (capacidad de 20 – 25 ml)
- Decantar el sobrenadante después de centrifugar a 2,000 r.p.m. por un minuto.
- Agregar 7 – 10 ml de medio AMS, 2 – 3 gotas de Tween 80 y 3 – 5 ml de éter al sedimento. Después agitar a mano el tubo con un tapón apretado vigorosamente por 20 a 30 segundos.
- Centrifugar a 2,000 r.p.m. por 1 – 2 minutos.
- Separar la capa de espuma flotante de la pared del tubo con un aplicador. Decantar el sobrenadante con la capa de espuma y limpiar la superficie interior del tubo.

- Colocar el sedimento en una lámina limpia ya sea inclinando el tubo o aspirando el sedimento con una pipeta larga y descargar sobre una lámina. Colocar un cubreobjetos y examinar microscópicamente.

Nota:

- 1) El medio AMS es tan liviano en su gravedad específica (1.08) que esta técnica no puede ser aplicada para la detección de huevos de nematodos.
- 2) No se pueden detectar protozoos por esta técnica.

5.4. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos por ambas pruebas fueron consignados en la boleta elaborada para el efecto (Tabla 1), y la información se analizó haciendo uso de estadísticas descriptivas en cuadros y gráficas.

Para establecer la concordancia entre los métodos utilizados se usó de la prueba del índice de Kappa. (Anexo 2)

Para definir si hay diferencia significativa en el diagnóstico entre ambas técnicas se utilizó la prueba de Chi cuadrado. (Anexo 2)

Para determinar la efectividad en tiempo de ambas técnicas se analizó la variable tiempo (minutos/muestra), se utilizó la prueba de T de Student. (Anexo 2)

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 40 muestras de heces procesadas por ambas técnicas, Dennis y Colaboradores y AMS III, se obtuvieron 9 y 34 positivas respectivamente, observándose una mayor visualización de huevecillos de *Fasciola hepatica* con AMS III, contabilizando 66 huevecillos y con Dennis y Colaboradores únicamente 14 huevecillos. (Tabla 1, Tabla 2, Tabla 3, Gráfica 1)

De acuerdo a los resultados obtenidos mediante el análisis estadístico se puede comprobar que:

- No hay concordancia entre las dos pruebas al obtener un resultado de 0.0974 mediante la prueba del índice de Kappa. (Anexo 2)
- Existe diferencia significativa entre ambas pruebas lográndose más eficiencia en la cantidad de resultados positivos mediante la técnica de AMS III en la cual se obtuvieron 34 de un total de 40 muestras siendo éste el 85 % mientras que mediante la técnica de Dennis y Colaboradores se obtuvieron 9 positivos de un total de 40 siendo el 22.5 %. (Tabla 3, Gráfica 2 y gráfica 3) Estos datos fueron comprobados mediante la prueba de Chi cuadrado lo cual indica que hay significancia a favor de la técnica de AMS III. (Anexo 2)
- En relación a la cuantificación de tiempos en el procesamiento del total de las 40 muestras, para la elaboración de la técnica AMS III fueron utilizados un total de 397.48 minutos con un promedio de 9.94 por muestra y para la realización de la técnica de Dennis y Colaboradores se utilizaron un total de 1,417.05 minutos con un promedio de 35.44 por muestra procesada. Para la evaluación de la eficiencia en tiempo de ambas pruebas se realizó la prueba de T de Student estableciendo una diferencia significativa observándose una mayor eficiencia en la técnica de AMS III. (Tabla 4, Gráfica 4 y Gráfica 5, Anexo 2)
- Por medio de la utilización de la prueba AMS III para el diagnóstico de *Fasciola hepatica* se lograron obtener resultados más exactos, evitando así la aparición de

falsos positivos o falsos negativos. Por lo anteriormente descrito, es recomendable utilizar la técnica AMS III como técnica diagnóstica y parte de un plan profiláctico en las áreas donde la distomatosis es endémica.

- A diferencia de lo descrito en la literatura consultada, en los análisis realizados en las muestras procesadas por medio de la técnica AMS III, se observaron algunos huevecillos de nematodos presentes, tales como *Nematodirus sp.*, *Haemonchus sp.* y *Oesophagostomum sp.*

VII. CONCLUSIONES

1. Se obtiene un diagnóstico más eficiente de la presencia de *Fasciola hepatica* con la técnica AMS III, con un 85% de positivos encontrados mientras que, con la técnica de Dennis y Colaboradores se obtuvo un 22.5% de positivos.
2. Por medio de la observación por microscopio en la prueba de AMS III se logra una mejor visualización de los huevecillos de *Fasciola hepatica* y una mayor diferenciación de las estructuras y la cuantificación es mejor debido a que se realiza un recorrido por toda la muestra, debido a que los objetos están delimitados y fijos entre las láminas cubreobjetos y portaobjetos y por no estar la muestra en un medio acuoso donde existe movimiento de los huevecillos, pudiéndose dar incluso el grado de infestación de los animales con mayor precisión.
3. Por medio de la técnica AMS III se optimiza el tiempo de procesamiento de las muestras ya que ésta se realiza en menor cantidad de minutos (9.94 min. en promedio) mientras que en la técnica de Dennis y colaboradores se realizan en mayor cantidad de minutos (35.44 min. en promedio). Además se evita dar falsos positivos

VIII. RECOMENDACIONES

1. Implementar la técnica AMS III como método de diagnóstico para ***Fasciola hepatica*** en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
2. Por su efectividad, se debe impulsar la investigación de ésta técnica diagnóstica en otras especies de animales domésticos y silvestres.
3. Inculcar en los productores pecuarios la cultura del diagnóstico oportuno de distomatosis hepática en ovinos y bovinos de áreas endémicas a ésta enfermedad, ya que ésta representa un problema serio en Salud Pública por ser el humano un huésped accidental para ***Fasciola hepatica***.

IX. RESUMEN

Este estudio fue realizado con el propósito de comparar la eficacia y efectividad de los métodos AMS III (usado regularmente para el diagnóstico de trematodos pulmonares en humanos) y el ya tradicional método de Dennis y Colaboradores para el diagnóstico de distomatosis hepática, producida por el trematodo *Fasciola hepatica*, en ovinos de la aldea El Carpintero, Huehuetenango.

Se procedió a recolectar 40 muestras de heces de ovinos para realizar el diagnóstico de la presencia de huevecillos de *Fasciola hepatica*. Cada una de las muestras se dividió en dos partes para correr ambas pruebas diagnósticas.

Por medio del método de Dennis y Colaboradores se obtuvieron 9 muestras positivas, que representa un 22.5% del total y, por el método AMS III, se obtuvieron 34 muestras positivas, representando el 85% del total de muestras. Se logró determinar que existe mayor efectividad en el diagnóstico de *Fasciola hepatica* por medio del método de AMS III que por la técnica de Dennis y colaboradores, obteniéndose más eficacia en el hallazgo de huevecillos del trematodo.

Se determinó que por medio de la técnica de AMS III se obtiene una mayor eficiencia en la utilización del tiempo para el procesamiento de las muestras pudiéndose obtener los resultados en un promedio de 9.91 minutos por muestra, mientras que con la técnica de Dennis y Colaboradores con un promedio de 35.43 minutos por muestra.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Acha P.; Szyfres, B. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3 ed. Washington, D.C. US. Organización Panamericana de la Salud. V. 3. 413 p. Publicación Científica y Técnica No. 580.
2. Aguilar, F. 1997. Parasitología Médica. Guatemala. 3ed. Litografía Delgado, S.A. 372 p.
3. Atipin, DN et al. 1956. Parasitology and Parasitic Diseases of Livestock. U Ershov. Trad A Birrom et al. Jerusalem, IS. S. Monson. 523 p.
4. Benbrook, E.; Sloss, M. 1965. Parasitología Clínica Veterinaria. Trad R Macías Naranjo. Editorial Continental, S.A. México, D.F. 256p.
5. Chandler, C.; Read, C. 1961. Introduction to Parasitology. 10 ed. United States of America. John Wiley & Sons, Inc. 822 p.
6. Cheng, T. 1964. The Biology of animal parasites. United States of America. W.S. Saunders Company. 727 p
7. Cordero del campillo, M et al. 1999. Parasitología Veterinaria. España. Interamericana. 968 p.
8. El Manual Merck de Veterinaria. 2000. Trad A Abecia et al. 5 ed. España. Océano. 2558 p.
9. Fiebiger, J. 1942. Los Parásitos Animales del hombre y de los animales domésticos. Texto y manual de consulta con claves de identificación para Veterinarios, médicos y estudiantes. Trad. R Reichert y C Cuenca. Madrid, ES. Editorial Viuda de Juan Peyo. 516 p.
10. Flynn, R. 1973. Parasites of Laboratory animals. United States of America. The Iowa State University press/AMES. 884 p.

11. Foreyt, W. 2001. *Veterinary Parasitology*. 5 ed. United States of America. Blackwell Publishing. 235 p.
12. Georgi, JR. 1972. *Parasitología Animal*. Trad F Colchero Arrubarrena. México. Interamericana. Mexico. 242 p.
13. Piekarski, G. 1961 *Tablas de parasitología Médica*. Bonn, DE. s.e. 174 p.
14. Quiroz Romero, H. 1988. *Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos*. 2 ed. México, D.F. Limusa. 576 p.
15. Radosits, O et al. 2002. *Medicina Veterinaria*. Trad. I Valeriola et al. 9 ed. Madrid, ES. Interamericana. Tomo 2. 1008 p.
16. Soulsby, E. 1987. *Parasitología y enfermedades parasitarias en animales domésticos*. Trad A Martínez, F Rojo Vásquez. 7 ed. México D. F. Interamericana. 823 p.
17. Tagle Villarroel, I. 1963. *Enfermedades Parasitarias de los animales Domésticos*. 1ª Parte. Generalidades y helmintología. Santiago, CL. Editorial. Andrés Bello. 334 p.

XI. ANEXOS

11.1. ANEXO 1

TABLA 1. REGISTRO DE RESULTADOS DEL DIAGNÓSTICO DE HUEVECILLOS DE *Fasciola hepatica* EN HECES DE OVINOS DE LA ALDEA EL CARPINTERO, CHIANTLA, HUEHUETENANGO

No.	Nombre de la muestra	Procedencia	Técnica de Dennis y Colaboradores				Técnica AMS III			
			Positivo	No. Huevos	Negativo	Tiempo min./muestra	Positivo	No. Huevos	Negativo	Tiempo min./muestra
1	M505	Aldea El Carpintero		0	-	35.37		0	-	9.92
2	M477	Aldea El Carpintero		0	-	35.00	+	1		9.92
3	M501	Aldea El Carpintero	+	1		35.25	+	1		9.92
4	M494	Aldea El Carpintero		0	-	35.37	+	1		9.92
5	M484	Aldea El Carpintero		0	-	35.27	+	3		9.92
6	M473	Aldea El Carpintero	+	1		35.30	+	1		9.92
7	M502	Aldea El Carpintero		0	-	35.33		0	-	9.95
8	M491	Aldea El Carpintero		0	-	35.37	+	7		9.92
9	M471	Aldea El Carpintero		0	-	35.37	+	3		9.95
10	M496	Aldea El Carpintero		0	-	35.37	+	2		9.93
11	M474	Aldea El Carpintero		0	-	35.50		0	-	9.92
12	M475	Aldea El Carpintero		0	-	35.33	+	3		9.92
13	M480	Aldea El Carpintero	+	1		36.33	+	1		9.92
14	M478	Aldea El Carpintero	+	1		35.50	+	3		9.92
15	M472	Aldea El Carpintero	+	1		35.37	+	3		9.92
16	M495	Aldea El Carpintero		0	-	35.38	+	1		9.92
17	M476	Aldea El Carpintero		0	-	35.37	+	1		9.92
18	M503	Aldea El Carpintero		0	-	35.32	+	2		9.92
19	M505	Aldea El Carpintero		0	-	35.30	+	1		9.93

20	M470	Aldea El Carpintero		0	-	35.37	+	2		9.92
21	M1	Aldea El Carpintero	+	1		35.37	+	1		9.95
22	M472	Aldea El Carpintero		0	-	35.83	+	1		9.97
23	M504	Aldea El Carpintero		0	-	35.50	+	1		10.00
24	M506	Aldea El Carpintero		0	-	35.67	+	1		9.93
25	M487	Aldea El Carpintero		0	-	35.37	+	1		9.95
26	M497	Aldea El Carpintero		0	-	35.37	+	1		9.95
27	Mano Negra	Aldea El Carpintero	+	1		35.37	+	1		9.95
28	M479	Aldea El Carpintero		0	-	35.35	-	0	-	9.95
29	M488	Aldea El Carpintero		0	-	35.37	-	0	-	9.95
30	M490	Aldea El Carpintero		0	-	35.38	+	1		9.95
31	M492	Aldea El Carpintero		0	-	35.50	+	1		9.95
32	M486	Aldea El Carpintero		0	-	35.27	+	1		9.95
33	M500	Aldea El Carpintero	+	5		35.27	+	7		9.95
34	M507	Aldea El Carpintero		0	-	35.37	+	3		9.95
35	M499	Aldea El Carpintero		0	-	36.37	+	3		9.95
36	M485	Aldea El Carpintero	+	2		35.50	+	1		9.95
37	M177	Aldea El Carpintero		0	-	35.37	+	1		9.95
38	M495	Aldea El Carpintero		0	-	35.37		0	-	9.95
39	M482	Aldea El Carpintero		0	-	35.37	+	3		9.95
40	M493	Aldea El Carpintero		0	-	35.37	+	2		9.95
TOTALES			Total positivos	Total Huevos	Total negativos	Total min./muestra	Total positivos	Total Huevos	Total negativos	Total min./muestra
			9	14	31	1,417	34	66	6	397

TABLA 2.
Cantidades de huevos encontrados por medio de las técnicas de Dennis y Colaboradores, y por la técnica AMS III

Huevos Dennis y Colaboradores	Huevos AMS III
14	66

GRÁFICA 1

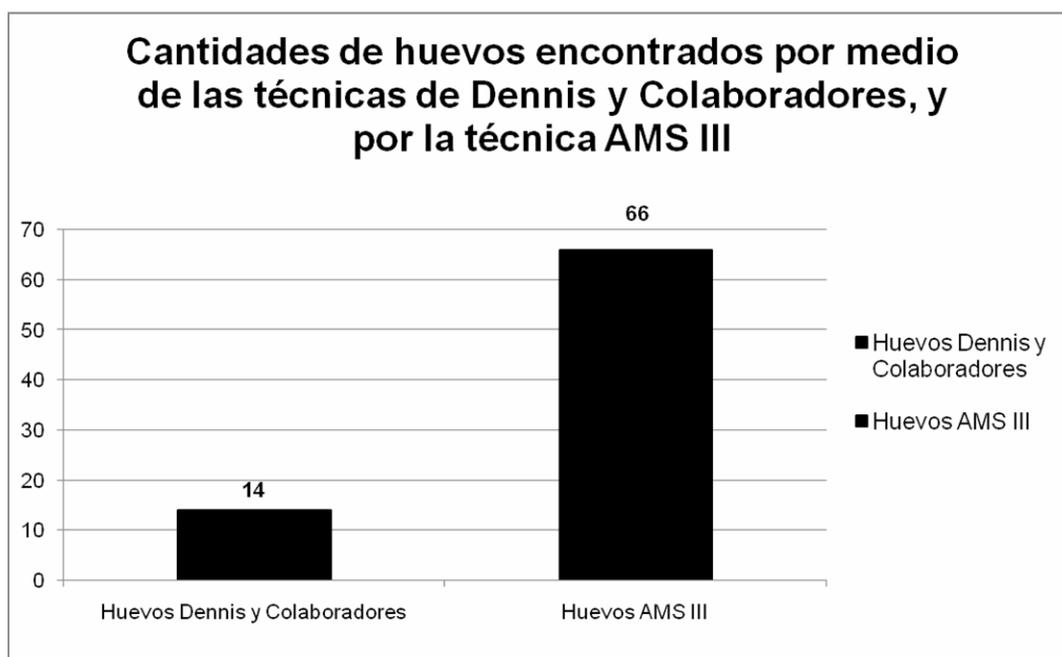
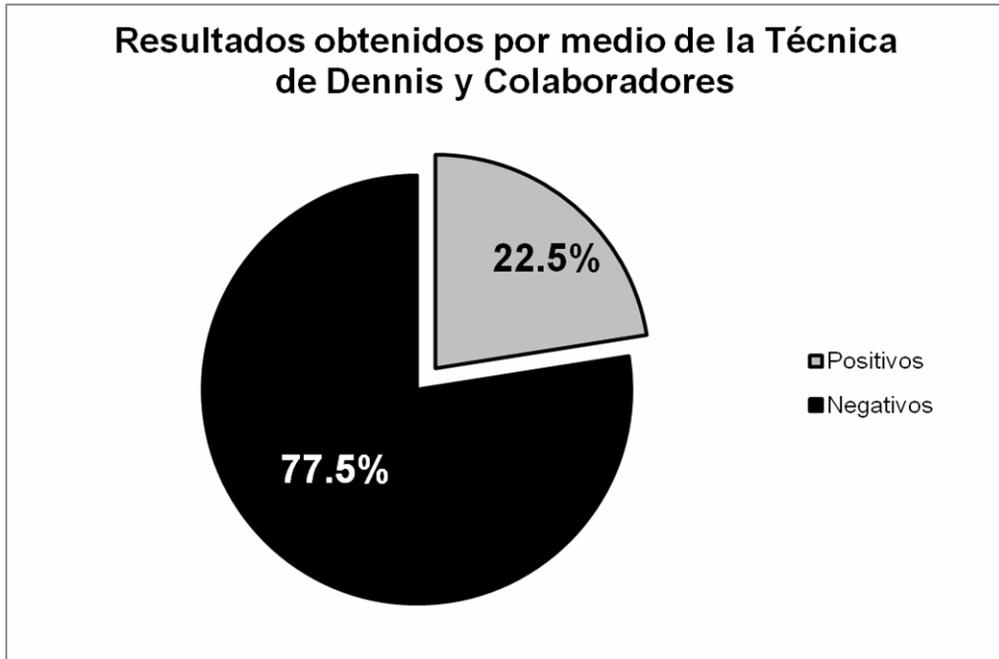


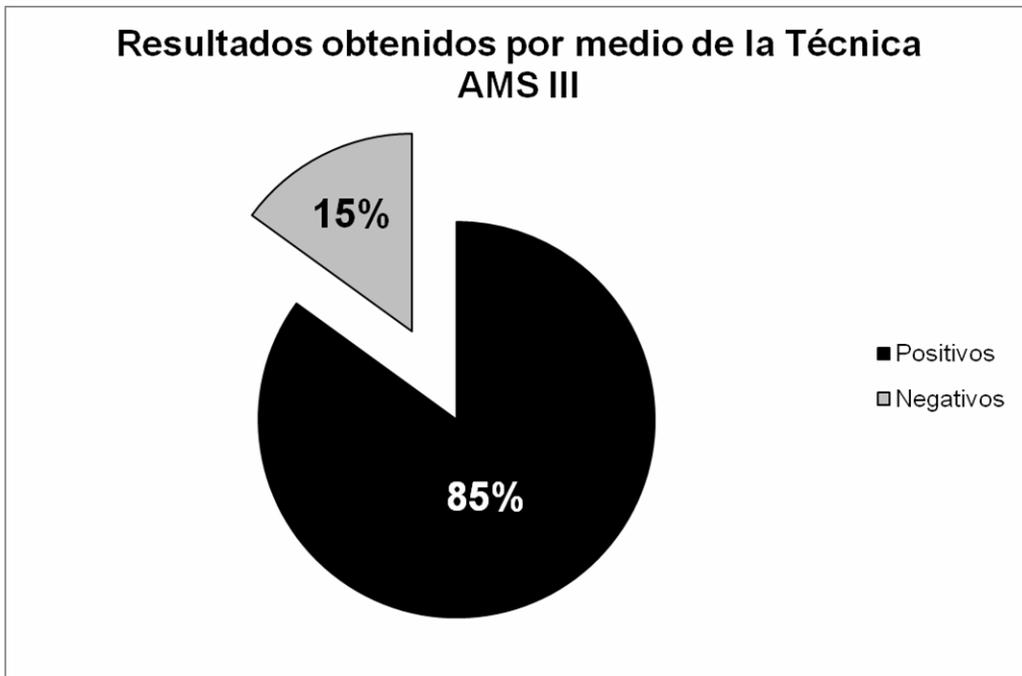
TABLA 3.
Cantidades y porcentajes de resultados de las técnicas de Dennis y Colaboradores y AMS III

Técnica	Diagnóstico				Total de muestras
	+	%	-	%	
Dennis y colaboradores	9	22.5	31	77.5	40
AMS III	34	85	6	15	40
Total	43		37		80

GRÁFICA 2



GRÁFICA 3



GRÁFICA 4

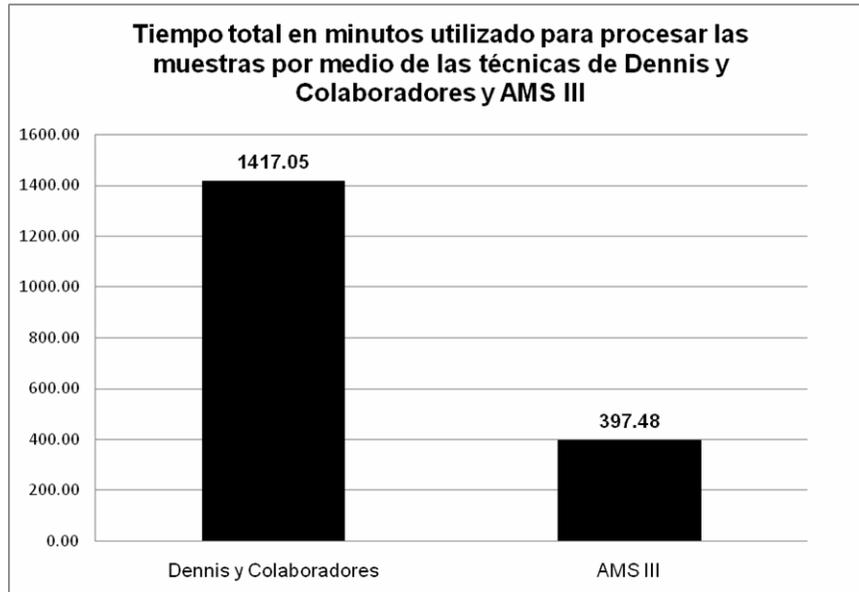
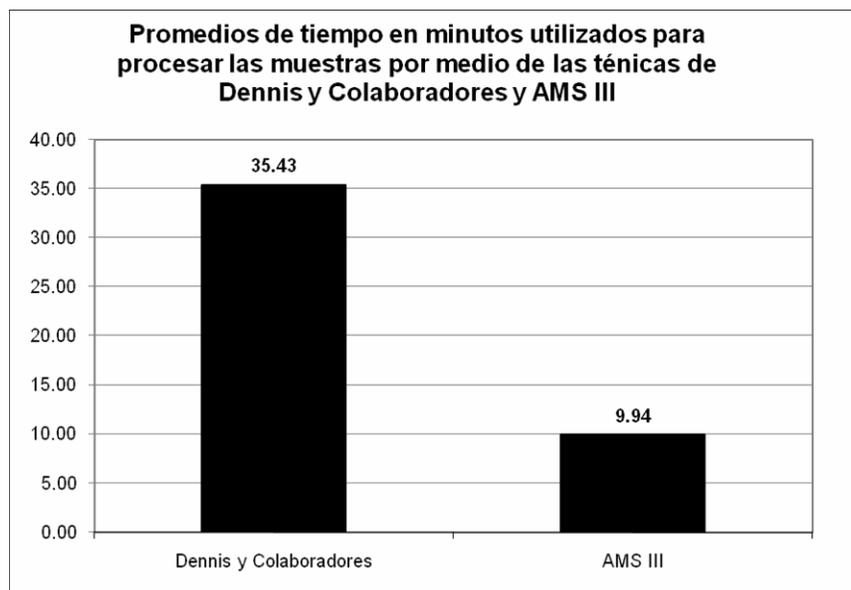


TABLA 4.

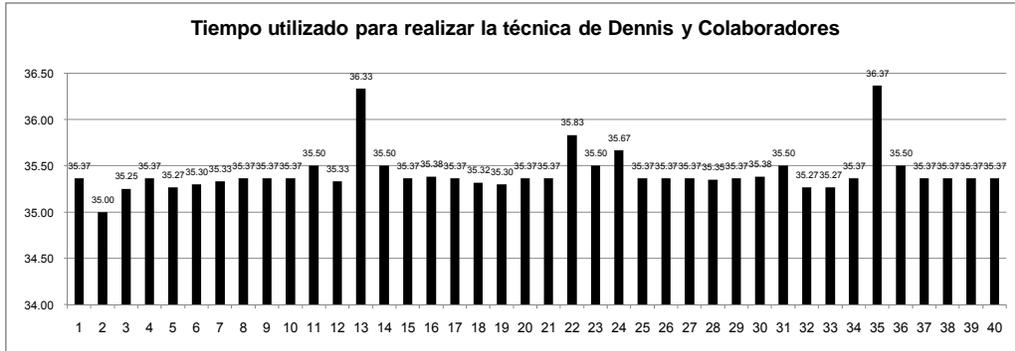
Promedios de tiempo utilizado para realizar las técnicas de Dennis y Colaboradores y AMS III

Dennis y Colaboradores	AMS III
35.43	9.94

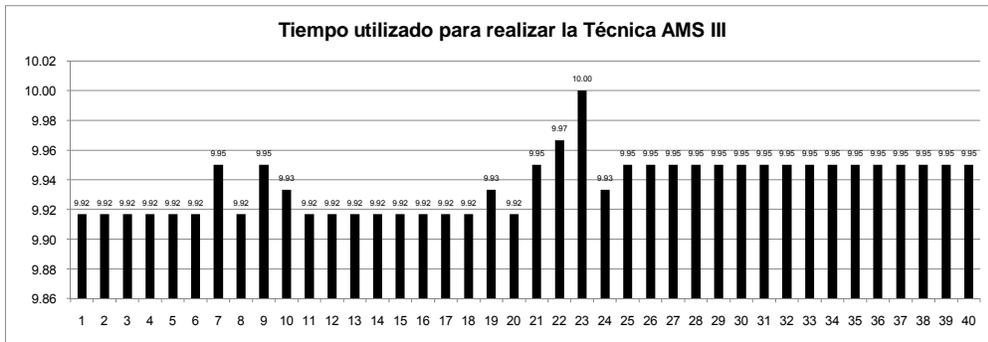
GRÁFICA 5



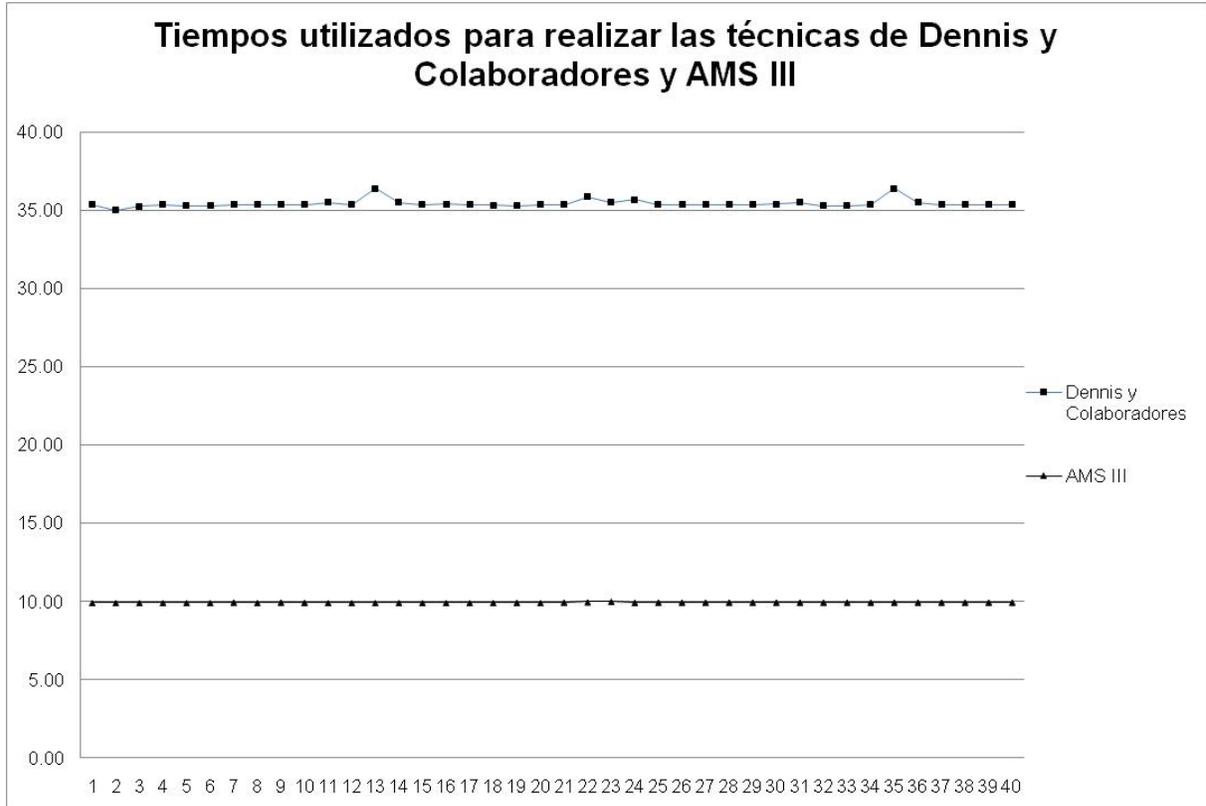
GRÁFICA 6



GRÁFICA 7



GRÁFICA 8



11.2 ANEXO 2

11.2.1 PRUEBA DE CONCORDANCIA

Índice de Kappa

$$K = \frac{Po - Pe}{1 - Pe} =$$

Observados:

		AMS III	Técnica AMS III		
			+	-	Total
DENNIS Y COLABORADORES	+	9	0	9	
	-	25	6	31	
	Total	34	6	40	

$$Po = \frac{9 + 6}{40} = 0.375$$

Esperados:

		AMS III	Técnica AMS III		
			+	-	Total
DENNIS Y COLABORADORES	+	7.65		9	
	-		4.65	31	
	Total	34	16	40	

$$Pe = \frac{7.65 + 4.65}{40} = 0.3075$$

$$K = \frac{0.375 - 0.3075}{0.6925} = 0.0974$$

Resultado: Tiene pobre concordancia

11.2.2 DIFERENCIA SIGNIFICATIVA EN EL DIAGNÓSTICO

Prueba de Chi cuadrado

Hipótesis nula: No existe diferencia significativa en la eficiencia del diagnóstico de *Fasciola hepatica* entre las técnicas de AMS III y Dennis y Colaboradores.

Hipótesis alternativa: Existe diferencia significativa en la eficiencia del diagnóstico de *Fasciola hepatica* entre las técnicas de AMS III y Dennis y Colaboradores.

Observados:

Técnica \ Diagnóstico	+	-	Total
	Dennis y Colaboradores	9	31
AMS III	34	6	40
Total	43	37	80

Esperados:

Técnica \ Diagnóstico	+	-	Total
	Dennis y Colaboradores	21.5	18.5
AMS III	21.5	18.5	40
Total	43	37	80

$$X^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E} = 7.26 + 8.44 + 7.27 + 8.45 = 31.42$$

$$X^2 = 31.24$$

Valor de la tabla = 3.84

$$31.24 > 3.84$$

Hay significancia, se aprueba la hipótesis alternativa.

11.2.3 DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA DEL TIEMPO

Método de T de Student

Hipótesis nula: No existe diferencia significativa en la eficiencia en tiempo entre las técnicas de AMS III y Dennis y Colaboradores.

Hipótesis alternativa: Existe diferencia significativa en la eficiencia en tiempo entre las técnicas de AMS III y Dennis y Colaboradores.

Grado de libertad: 0.05

$$Z = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\frac{S^1}{n_1} + \frac{S^2}{n_2}}} \quad Z = \frac{35.43 - 9.94}{\frac{0.2471}{6.32} + \frac{0.0194}{6.32}} = 606.90$$

Se rechaza la hipótesis Nula, debido a que la diferencia es altamente significativa en cuanto a la eficiencia del tiempo mediante el uso de la técnica de AMS III, con un resultado de 606.90.

Apéndices

APÉNDICE 1

Diagnóstico diferencial de las distintas formas clínicas de la fasciolosis

	Fasciolosis ovina			Fasciolosis bovina
<i>Forma clínica</i>	<i>Aguda</i>	<i>Subaguda</i>	<i>Crónica</i>	<i>Crónica</i>
Síntomas	Muertes repentinas, debilidad, disnea, ascitis, dolor abdominal	Rápida pérdida de peso, palidez de las mucosas, edemas	Pérdida progresiva de peso, palidez de las mucosas, edemas	Pérdida de peso, palidez de las mucosas, edema submandibular
Curso	1 – 2 días	1 – 2 semanas	Varias semanas (incluso meses)	Varias semanas (incluso meses)
Anemia	Normocítica Normocrómica	Macroscítica hipocrómica	Macroscítica hipocrómica	Macroscítica normocrómica
Reticulocitosis	-	+	++	++
Hipoalbuminemia	+	+	++	++
Hallazgos de necropsia	Hígado hemorrágico e hipertrofiado. 800-2500 fasciolas, la mayoría inmaduras (> 60%) en el parénquima hepático	Hipertrofia hepática y hemorragias subcapsulares. 500-1500 fasciolas (50% adultos)	Hígado fibrótico y conductos biliares hiperplásicos, emaciación. 250 o más fasciolas (> 90% adultos)	Reducción del tamaño del hígado, lóbulo ventral afectado intensamente, conductos biliares dilatados, engrosados y calcificados, emaciación. > 200 fasciolas (>90% adultos)
Análisis coprológico	Negativo en primoinfecciones -	Recuentos de huevos en heces escasos +	Recuentos moderados-altos ++	Recuentos moderados-altos ++

(7)

APÉNDICE 2

Tratamiento para distomatosis hepática

Fármaco	Dosis (mg/kg)	Eficaz contra Fasciolas			Utilizable en lactación	Comentarios
		Adultas	6-12 semanas	1-5 semanas		
Albendazol	7.5 (ovejas) 10 (vacas)	+	-	-	+	No utilizar un mes antes y un mes después de la cubrición
Bitionol	60 (vaca) 60 (oveja)	+	-	-	+	Disponible en combinación con oxibendazol
Brotianida	6 (oveja)	+	+	-	-	Sólo disponible en combinación con tiofanato
Clorsulón	7 (vaca)	+	+	-	+	Sólo disponible en combinación con ivermectina
Closantel	3 (vaca) 5 (oveja)	+	+	-	-	
Netobimín	20 (vaca) 20 (oveja)	+	-	-	+	No administrar en vacas en los primeros 90 días de gestación
Nitroxinil	10 (vaca) 10 (oveja)	+	+	-		Pueden administrarse 15 mg/kg en infecciones agudas
Oxiclozanida	10 (vaca) 15 (oveja)	+	-	-	+	Sólo disponible en combinación con levamisol
Triclabendazol	12 (vaca) 10 (oveja)	+	+	+	-	Activo contra fasciolas de 2 días de edad