



# Comparación de la técnica de Dennis

con los hallazgos hepáticos post - mortem para el diagnóstico de la fasciolosis bovina

Por: ÁLVAREZ, Alejandra<sup>1</sup> y BOYACÁ, Mauricio<sup>2</sup>

1. Estudiante X semestre Ingeniería Agropecuaria. JDC.

2. Esp. Laboratorio Clínico Veterinario, UDCA. M.V.UPTC. Docente JDC. mauricio.boyaca@gmail.com

#### Resumen:

El presente estudio hace una comparación entre los resultados de la técnica de Dennis para diagnóstico de Fasciolosis bovina, frente a hallazgos post mortem, en hígados de bovinos faenados en la empresa Matadero de Tunja. Es un estudio experimental descriptivo, por cuanto expone los hallazgos en matadero frente a los arrojados por el método de Dennis. La población total de bovinos adultos fue de 2800, de los cuales se tomó una muestra de 139 animales. El muestreo se llevó a cabo durante el mes de febrero del año 2009.

Los resultados indican que la técnica de Dennis no es lo suficientemente sensible para el diagnóstico de Fasciola hepática, por lo que se debe evaluar su uso rutinario.

La técnica coprológica se fundamenta en el principio de sedimentación de los huevos, por lo tanto depende de la salida de éstos en la materia fecal, lo que la hace poco efectiva para la detección del parásito. La razón de este estudio se sustenta en que la enfermedad se encuentra ampliamente distribuida en la región y en el país. Su diagnóstico se realiza rutinariamente mediante técnicas coprológicas aplicadas a los animales en los que se sospecha la enfermedad.

Palabras clave: Fasciola hepática, tremátodos, cirrosis hepática, colangitis, bovinos.

#### Abstract:

Fasciolosis is a type of parasitism, caused by the trematodes Fasciola hepatica that uses mollusks lymneids as intermediate hosts. This parasite is widely distributed in the region and the country; its diagnosis is routinely performed through coprologic techniques applied to parasited vertebrates, consisting of egg detection in feces. The most commonly used, due to its brevity and low cost is the Dennis technique.

This coprologic technique is based on the principle of eggs sedimentation. Therefore, it depends on their outflow in the faecal matter, which makes it little sensitive for the parasite detection. Consequently, this study makes a comparison between the finds in the liver of slaughtered cattle of the plant Matadero in Tunja and the results of the Dennis technique, practiced in faecal samples of the same animals. The procedure was developed in a laboratory, getting data that indicates that the Dennis technique is not sensitive enough to the Fasciola hepatica diagnosis and its continuous use must be evaluated.

Key words: Fasciola hepática, trematodes, hepaticcirrhosis, bovine, collangitis.

## INTRODUCCIÓN

Las parasitosis deben ser consideradas como un factor limitante en las explotaciones ganaderas, debido a la cantidad de especies existentes y las constantes pérdidas que ocasionan, (Encinas 1998) tanto en muertes de animales como en la disminución de la producción de leche y carne. Además los animales parasitados son más susceptibles a enfermedades infecciosas, (Instituto Colombiano Agropecuario ICA 2001). De lo anteriormente expuesto se deducen las cuantiosas pérdidas económicas en las mismas, problemática que se ve agravada por el uso inadecuado de los diferentes fármacos antihelmínticos, cuyo espectro, dosis y aplicación no son los indicados; igualmente, falta aplicación de pruebas diagnósticas específicas que demuestren la prevalencia de la enfermedad, para tomar las medidas necesarias para su control. (ICA 2001)

Los procesos parasitarios ocasionados por *Fasciola hepática* provocan pérdidas por decomisos (principalmente del hígado), acortamiento de la vida productiva, disminución de la producción (carne, leche) tanto en cantidad como en calidad, disminución en el índice de fecundidad, Sporri, (2000), menor aprovechamiento del alimento y aumento de gastos de producción debido a las medidas terapéuticas Atias *et al.* (1999).

La fasciolosis es una parasitosis de distribución cosmopolita, cuyo diagnóstico se basa en técnicas coprológicas e inmunológicas, Gutiérrez, (2004). Si bien estas últimas han recibido un impulso notable en épocas recientes, gran parte de los laboratorios veterinarios siguen empleando la coprología, Olaechea, (1994). En particular, se aplica la técnica de Dennis, la cual se fundamenta en el principio de sedimentación de los huevos, Cordero (2001), Ueno, (2003), por lo tanto depende de la salida de éstos en la materia fecal, razón por la cual es poco confiable pues los huevos no salen de manera constante, depende del estado de madurez del parásito. En consecuencia los resultados son falsos negativos, Cordero, (2001).

En la zona objeto de estudio (provincia Centro de Boyacá), no hay datos que reporten la relación entre resultados del método de Dennis y hallazgos post - mortem en animales de abasto público.

El presente trabajo pretende comparar los resultados de la técnica de Dennis que reporta la presencia de huevos en muestras coprológicas, frente a los hallazgos hepáticos post-mortem; ya que en esta etapa es posible observar directamente el parásito y las lesiones que éste ha causado en los bovinos llevados para sacrificio al matadero del municipio de Tunja - Boyacá.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para el desarrollo de este trabajo se utilizaron bovinos adultos (mayores de 40 meses) hembras y machos, de doble propósito, provenientes de los municipios de Tunja, Soracá, Ventaquemada, Tuta, Boyacá Boyacá, Turmequé, Siachoque, Jenesano, Oicatá y Nuevo Colón; entre otros, llevados a la Empresa Matadero de Tunja, planta de sacrificio de la Provincia Centro del departamento. Allí, mensualmente son sacrificados 2800 animales, según registros manejados por el frigorífico.

Para el análisis estadístico se introdujo el número de animales sacrificados en un mes en el programa Win Episcopa 2.0 obteniendo un tamaño de muestra de 139 bovinos con un margen de error de 5% y 95% de nivel confiable (tabla 1).

La recolección de las muestras de materia fecal y la inspección post-mortem fueron autorizadas por la administración de frigorífico y vigilados por las autoridades sanitarias respectivas.

En este estudio se empleó una metodología mixta; pues se aplicaron dos sistemas básicos de muestreo; el aleatorio simple y sistemático. El primero se utilizó de la siguiente manera: teniendo el registro de los bovinos que ingresan al matadero en un día normal de sacrificio (50 a 70 animales), fue registrada su identificación (marca con la cual llegan los animales de su sitio de procedencia) en el programa Excel, adjudicándoles un número aleatorio, y posteriormente se ordenaron de mayor a menor con ayuda del mismo programa el cual indicó los animales que debían ser muestreados; luego se aplicó el método de muestreo sistemático, para determinar la frecuencia de toma de la muestra así:

Teniendo en cuenta el tamaño de la muestra  $n = 139$  y la población total  $N = 2800$  animales, cuando fueron sacrificados 70 bovinos (tope máximo), se determinó la frecuencia de toma de la muestra así:  $F = 70/139 = 0.5$  y posteriormente se calculó el intervalo (I) de toma de la muestra a través de la siguiente fórmula:

$$I_1 = 1/0.5 = 2$$

Entonces, al sacrificar 70 bovinos se tomó la muestra cada 2 animales. En 50 bovinos, la frecuencia es:  $F = 50/139 = 0.35$ , y el intervalo de toma de la muestra es:

$$I_2 = 1/0.35 = 2.8 = 3$$

Esto equivale a tomar la muestra cada 3 animales.

Tabla 1. Análisis estadístico según Win Episcopa 2.0

TAMAÑO DE LA POBLACIÓN	PREVALENCIA ESPERADA	ERROR ACEPTADO	NIVEL DE CONFIANZA	TAMAÑO DE LA MUESTRA
2800 animales	90%	5%	95%	139

Para el reconocimiento postmortem, las vísceras rojas son llevadas al área dispuesta para tal efecto. Allí, se hace la inspección del hígado por parte del médico veterinario de la planta de sacrificio y un autor del trabajo. Este diagnóstico se realizó en todos los bovinos objeto de este estudio (figura 1), para lo cual se tuvo en cuenta, únicamente la presencia del parásito en este órgano (figura 1). Lo anterior, debido a que sólo la presencia de adultos en los canalículos biliares se relacionan con la salida de huevos en heces, Zineman et al, (1982). Sin embargo, otras lesiones como consecuencia de la parasitosis, en el ganado bovino ocasionan una enérgica reacción orgánica, Fredes, (1997) que da lugar a una intensa reacción tisular con fibrosis y calcificación de los conductos biliares, Vélez, (2003). "Las formas jóvenes al emigrar, provocan una acción traumática que da lugar a trayectos de migración necróticos y como consecuencia de su reorganización, a una fibrosis difusa del parénquima hepático que se puede ver sobre todo el lóbulo ventral, lugar preferente de entrada de los parásitos". Estas lesiones no se tuvieron en cuenta para categorizar al animal como poseedor del parásito. Cordero, (2001), excepto cuando F. hepática estaba presente.

La recolección de las muestras se realizó aproximadamente dos horas después del faenado de los animales, la materia fecal se extrajo de las vísceras blancas (recto), entre 16 y 35 por día, hasta completar 139 muestras, al finalizar el mes. Éstas fueron recolectadas, identificadas, refrigeradas y trasladadas al laboratorio para su análisis. (tabla 2); en el laboratorio, se utilizó la técnica de sedimentación Dennis, Vizcaíno, (2004) para la detección de huevos de *Fasciola hepática*. (figura 2). El procedimiento fue realizado durante las 8 horas siguientes a la radicación, con la siguiente secuencia:

Se pesaron 3gr de materia fecal, se midieron 50ml de solución detergente al 5 por 1000 en un vaso de precipitado; luego se mezclaron 3gr de materia fecal en la solución detergente, se homogenizó y dejó en reposo durante 15 minutos a temperatura ambiente. Enseguida se eliminaron las 2/3 partes del sobrenadante, hasta completar 5ml con solución detergente. Esto se dejó sedimentar durante 15 minutos. Después, se eliminaron las 2/3 partes, y se elevó la solución hasta 50ml con solución salina al 0.9%; se dejó sedimentar por 15 minutos. El paso siguiente fue eliminar el sobrenadante

hasta dejar 10 mililitros. Para dejar sedimentar durante 10 minutos, se trasladó a una caja de petri, con el fin de observar en microscopio bajo aumento de 4 x a 10x. Finalmente se reportó la presencia o ausencia de huevos de *Fasciola hepática* Melhorn, (1993).

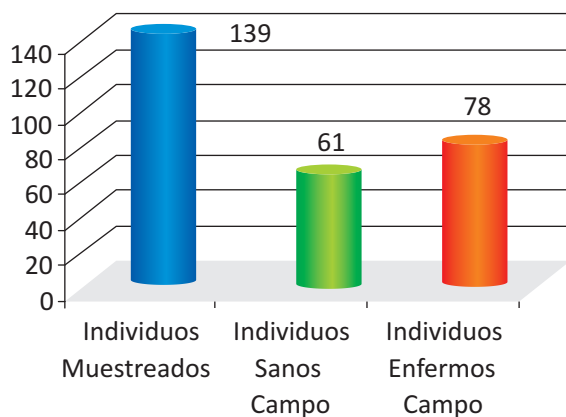
**Tabla 2.** Horario de la recolección de las muestras de materia fecal

ACCIÓN	RANGO
	02 a 06 horas
Trasporte	07 horas
Análisis en el laboratorio	14 a 20 horas. Se mantuvo en refrigeración hasta su procesamiento.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

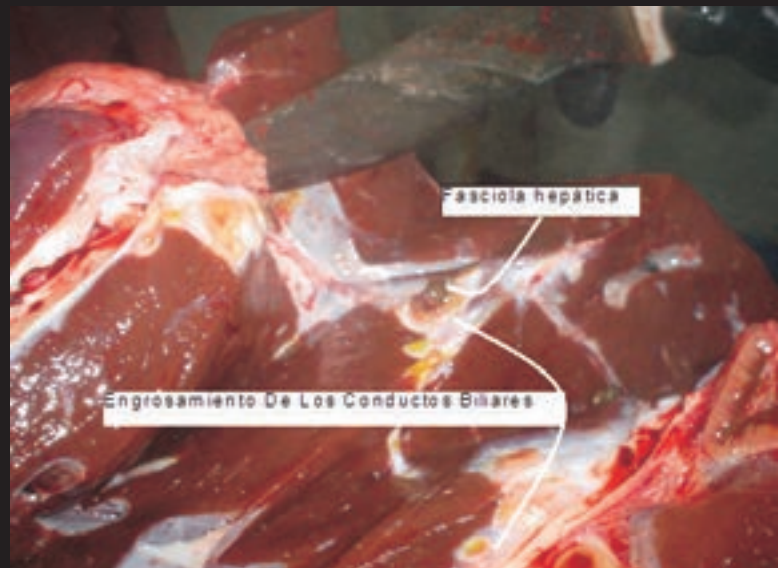
Los resultados de la inspección post-mortem señalan que de 139 órganos evaluados se encontraron 61 hígados sanos (44%), mientras 78 (56%) reportaron *F. hepática*. (gráfica 1).

**Gráfica 1:** Presencia de la enfermedad



A pesar del área de influencia de la empresa matadero de Tunja, la cual ofrece sus servicios de sacrificio de bovinos a los municipios de la Provincia del Centro del departamento de Boyacá, presenta un serio problema sanitario que incide de manera negativa en la salud de los animales de razas especializadas en producción lechera y de doble propósito.

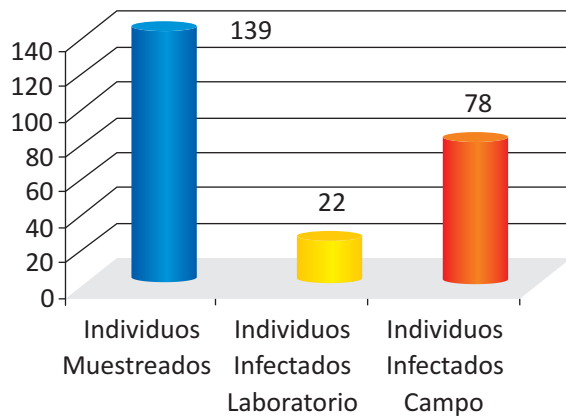
**Figura 1.** Adultos de *F. hepática* y lesiones hepáticas.



**Figura 2.** Huevo de *Fasciola hepática*.



**Gráfica 2.** Número de casos confirmados con la técnica de Dennis



Esta gráfica muestra la escasa sensibilidad de la técnica de Dennis para la identificación de los animales con *F. hepática*, pues ésta se fundamenta en la detección de huevos (figura 2) en heces de animales sospechosos de padecer la enfermedad. Se detectaron 22 individuos con la enfermedad mediante la técnica de Dennis (gráfica 2) y posteriormente en la planta de sacrificio se hallaron 78. Se presentó una diferencia de 56 muestras con respecto a los hallazgos post – mortem (gráfica 2). De acuerdo con lo anterior, el método de Dennis sólo detectó el 28% de los casos positivos en *F. hepática*, en comparación con la presencia del parásito, registrado por el método de observación directa en ese lugar. Los hallazgos negativos, corresponden a 61 hígados sin *F. hepática*, mientras que mediante la técnica de laboratorio (Dennis) se encontraron 117 casos negativos. En consecuencia 56 resultados negativos, obtenidos a través de la técnica de laboratorio, en realidad son falsos negativos. Por lo tanto este método de examen coprológico (utilizado rutinariamente) para el diagnóstico de fasciolosis, no logra detectar el 100% de los casos infectados, Gorman et al (1991). Además, no es

útil para diagnosticar la etapa prepatente de la infección, ya que los parásitos por ser inmaduros no producen huevos, Zineman et al (1982).

## CONCLUSIONES

El método de Dennis para la detección de huevos en *F. hepática*, en heces de bovinos arrojó un gran número de resultados falsos negativos, frente a los encontrados por el método de reobservación directa post mortem, en la planta de sacrificio.

Existe una diferencia marcada entre la cantidad de animales reportados como negativos desde la técnica de Dennis (117) y la inspección post mortem (61).

La técnica coprológica referida no presenta la sensibilidad suficiente, para ser utilizada como método único de diagnóstico de *F. Hepática*, más aún si se utiliza sólo una muestra. Esta técnica nos es útil para el diagnóstico de fasciolosis cuando la enfermedad es aguda o durante el período prepotente; es decir, entre el momento de la infección y la producción de huevos.

Más de la mitad (56%) de la ganadería faenada en el mes de febrero de 2009, especializada en producción de leche y doble propósito, estuvo infectada con *F. hepática*. La cantidad de animales con Fasciolosis constituye un hallazgo importante, referente para tomar medidas sanitarias, con miras a minimizar pérdidas económicas derivadas de la presencia del parásito.

Entre otras razones, la presencia significativa de *F. hepática* en los bovinos faenados está relacionada con el aumento de las lluvias antes y durante el período de muestreo. Adicionalmente, el criterio de elección de los animales para la venta y sacrificio es su bajo rendimiento; en consecuencia los bovinos que arriban al matadero son animales de desecho, provenientes de los diferentes hatos lecheros de la zona. Lo anterior, sumado a inadecuadas condiciones de manejo de los bovinos, los predispone a la enfermedad.

## BIBLIOGRAFÍA

- ATIAS y Col.1999. Parasitología clínica. Publicaciones técnicas mediterráneo Santiago de Chile.
- CORDERO, M. y VASQUEZ, R. 2001. Parasitología Veterinaria. Mc Graw Hill Ileramericana España. Edición 2001.
- ENCINAS, R. 1998. Frecuencia de la fasciolosis hepática e impacto económico en bovinos sacrificados en Ferreiro. Volumen XX. México.
- FREDES, F. et al. 2008. Evaluación diagnóstica de fracciones cromatográficas de *Fasciola Hepática* mediante Western Blot y Eliza en animales infectados. Archivos de Medicina veterinaria, issn 0301- 73 2X.
- GORMAN et al. 1991. Inmunodiagnóstico de la fasciolosis animal mediante una prueba inmunoenzimática (ELISA), Parasitología al Día.
- GUTIÉRREZ, G. 2004. Fasciolosis bovina. Facultad de Veterinaria Universidad Autónoma de Barcelona,
- MELHOM, H. et al. 1994. Manual de parasitología Veterinaria. Editorial presencia ltda.
- OLACHEA, F. 1994. Epidemiología y Control de *Fasciola hepática*. Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos.
- SOPORRI, H. y STONZI, H. 2000. Fisiopatología Veterinaria. sexta edición. Editorial Acribia. Zaragoza (España).
- UENO, A. y GUTIÉRREZ, U. 2003. Manual para diagnóstico de las helmintosis en rumiantes. Int. Coop. Ag. Japan, Tokio.
- VÉLEZ, H. 2002. Fundamentos de Medicina y Enfermedades infecciosas. C.I.B.
- ZIMMERMAN, G. y CLARK, C. 1986. Separation of parasite antigens by molecular exclusion, anion exchange and chromatofocusing utilizing FPLC protein fractionation systems. Veterinary Parasitology.