

## EVALUACIÓN DE ANTÍGENOS DE *Fasciola hepatica* POR TRES MÉTODOS INMUNOLÓGICOS

### ANTIGENS EVALUATION OF *Fasciola hepatica* FOR THREE IMMUNOLOGIC METHODS

Erasmus Colona, Libertad Alzamora y Julia Castro

#### RESUMEN

Se evaluaron los antígenos de excreción-secreción (AES) de *Fasciola hepatica* en muestras de heces de ganado vacuno procedente de áreas endémicas de la Región Andrés Bello Cáceres (Sierra Central), mediante los métodos inmunológicos de ELISA ("Fascidig"), hemaglutinación indirecta (HAI) y aglutinación en látex (AL). Los resultados obtenidos se correlacionaron con el método coproparasitológico de Dennis (CD). Se tomaron 106 muestras de heces de bovino en diferentes distritos, entre octubre y noviembre de 1995 (época lluviosa).

El método de AL no detectó los AES; mediante HAI la especificidad fue del 63,6% y la sensibilidad del 35% en relación al CD; por ELISA ("Fascidig") se obtuvo una especificidad del 68,2% y sensibilidad del 60% en relación al método CD y con respecto a HAI la especificidad fue 61,7% y la sensibilidad 50%.

Se determinó una correlación significativa entre el método de ELISA ("Fascidig") y el CD, lo que indica que un diagnóstico por ELISA permite conocer la enfermedad durante la fase prepatente o patente en relación al CD, que diagnostica la enfermedad durante la fase patente.

El diagnóstico de la infección o prevalencia por HAI, ELISA y CD fue 35,8%, 42,5% y 37,7% respectivamente. El índice encontrado corresponde a una zona de alta prevalencia de *Fasciola hepatica*.

El presente estudio permitió evaluar tres métodos inmunológicos y determinar la eficiencia de ELISA-Fascidig como el método que posibilitaría el diagnóstico de la fasciolosis durante la fase prepatente y patente de la enfermedad por hallazgo de coproantígenos.

**Palabras clave:** *Fasciola hepatica*, Fascidig, Fasciolosis, Coproantígenos, Antígenos de excreción-secreción.

#### ABSTRACT

Excretion-secretion antigens (ESA) of *Fasciola hepatica* were evaluated in bovine feces samples from endemic area (Andrés Bello Cáceres, Central Peruvian Andean). We employed ELISA (Fascidig), Indirect hemagglutination (IHA) and Latex agglutination (LA); the results were correlated with Dennis coproparasitologic method (DC). A number of 106 bovine feces samples were obtained from different places of the Region between October and November 1995 (rain time).

AES was not detected for LA, the specificity for IHA was 63,6% and the sensibility 35% in relation to DC; the specificity for Elisa (Fascidig) was 68,2% and the sensibility was 60% with regard to DC; and in relation to IHA the specificity was 61,7% and the sensibility 50%.

The correlation between ELISA (Fascidig) and DC was significant, it indicates that ELISA is the best method for the fasciolosis diagnostic in the prepatent and patent phases, while DC only is recommended for the patent phase diagnostic.

Diagnostic of infection or prevalence for IHA, ELISA and DC was 35,8%, 42,5% and 37,7% respectively. The results indicate that in the investigated area the prevalence of *Fasciola hepatica* is high.

Thanks to this investigation it was possible to evaluate three immunologic methods and to determine the performance of ELISA-Fascidig for the diagnostic of fasciolosis both prepatent and patent infection phases by means of the demonstration of coproantigens.

**Keywords:** *Fasciola hepatica*, Fascidig, Fasciolosis, Coproantigens, Excretion-secretion antigens.

## INTRODUCCIÓN

La fasciolosis o distomatosis hepática es una parasitosis cosmopolita de importancia médico-veterinaria ocasionada por *Fasciola hepática*, tremátode que localizándose en los conductos biliares afecta a mamíferos silvestres, domésticos (ganado vacuno y ovino) y al hombre.

Esta parasitosis generalmente presenta dos fases: la fase prepatente o aguda y la fase patente. La fase prepatente es el período durante el cual las fasciolas inmaduras migran a través de la cavidad peritoneal, ingresan al hígado y luego al parénquima hepático; y permanecen en los conductos biliares hasta su madurez. En esta fase no se eliminan huevos del parásito en heces o fluido biliar.

La fase prepatente de la enfermedad puede diagnosticarse mediante exámenes coproparasitológicos. Aunque la intermitencia en la expulsión de los huevos no permite un diagnóstico exacto, si durante esta fase se realiza una ingesta constante de un pequeño número de metacercarias el organismo produce resistencia al parásito, lo que se evidencia con una marcada fibrosis y engrosamiento de los canalículos biliares.

La dificultad en diagnosticar el parasitismo por métodos coproparasitológicos e inmunológicos convencionales (detección de anticuerpos) ha llevado al estudio de los antígenos parasitarios en diferentes muestras biológicas (Castro et al., 1994).

Durante las fases prepatente y patente de la enfermedad no se hacen notorios los signos patognomónicos, por lo cual la detección de antígenos parasitarios es de importancia, ya que estos se relacionan con una infección reciente (parasitosis activa), lo que constitu-

ye una ventaja con respecto a la determinación de anticuerpos.

Debido al incremento de esta parasitosis, la que es favorecida por las condiciones ambientales y factores socioeconómicos de nuestro país, este trabajo tiene por objeto la evaluación de tres métodos inmunológicos (ELISA-Fascidig, Hemaglutinación Indirecta y Aglutinación en látex) que permitan diagnosticar la fasciolosis durante el período prepatente de la enfermedad, comparando la eficiencia de los mismos con el examen coproparasitológico.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. Obtención de *Fasciola hepatica*

Se obtuvieron fasciolas vivas de hígados parasitados de ovino y se utilizaron en la preparación del antígeno de excreción-secretión (AES).

### 2. Colección de muestras de heces

Se colectaron 106 muestras de heces de bovino provenientes de los distritos de La Oroya, San Lorenzo, Cullpa Alta, Chaquicocha, Matahuasi, Huantaro, Acostambo, Sapallanga, Chongos Alto y el entonces Instituto Peruano de Seguridad Social (hoy EsSalud) de Huancayo, ubicados en la Región Andrés Bello Cáceres, durante los meses de octubre y noviembre de 1995 denominada época lluviosa por Leguía et al. (1988).

### 3. Procesamiento de las muestras de heces

Se pesó un gramo de heces de bovino en viales de penicilina y se homogenizó

con 3 mL de agua desionizada (pH 6,6), se filtraron en gasa recogiendo el filtrado en tubos. Los tubos se dejaron sedimentar durante toda la noche a 4 °C. El sobrenadante fue colectado y se procedió a la determinación de AES por ELISA y HAI.

#### **4. Preparación del antígeno de excreción-secreción empleado para la obtención de suero anti-AES**

Las fasciolas vivas de ovinos se colectaron en solución salina amortiguadora de fosfatos (SSAF) estéril pH 7,2, con 100 mg/mL de estreptomicina y de ampicilina (solución de mantenimiento: SM), se lavaron 6 veces con SM, se seleccionaron fasciolas vivas en un matraz con SM y se incubaron a 37 °C por 24 horas.

La solución se colectó a 4 °C (en baño de hielo) y se centrifugó a 3500 rpm por 45 minutos, el sobrenadante fue colectado a 4 °C y almacenado a -20 °C hasta su uso.

El dosaje de proteínas se realizó por el método de Biuret.

#### **5. Obtención del suero hiperinmune anti-AES**

Se inmunizó un conejo albino con AES (0,25 mg, por dosis) por vía intramuscular empleando Coadyuvante Completo de Freund. El suero fue repartido en alícuotas que se almacenaron a -20 °C hasta su uso.

### **6. Diagnóstico de Fasciolosis**

#### **6.1 Método coproparasitológico**

Se utilizó la técnica de concentración y cuantificación de Dennis (Dennis et al., 1954).

Cinco gramos de heces de bovino se diluyeron en 2 mL de agua potable y se filtraron en tamices metálicos con gasa. El filtrado se colocó en una copa de sedimentación y se diluyó con agua potable dejándose en reposo

durante 10 minutos. El sobrenadante se eliminó y se agregó al sedimento agua potable hasta llenar la copa de sedimentación. Este proceso se repitió dos veces consecutivas con la finalidad de clarificar el sobrenadante. Al finalizar el tercer pasaje se obtuvieron 2 a 3 mL de sedimento, y se observó al microscopio.

#### **6.2 Métodos inmunológicos**

##### **a) Aglutinación en Látex (pasiva reversa)**

Se mezclaron 1,5 mL de látex estandarizado (Bacto látex 0,81  $\mu$ , DIFCO) con 1,5 mL de suero hiperinmune sin diluir y se incubó a temperatura ambiente durante 30 minutos con agitación suave cada 10 minutos (Alzamora et al., 1999). El látex sensibilizado con anti-AES se empleó para detectar AES en las muestras de heces procesadas.

##### **b) Hemaglutinación indirecta (HAI-pasiva reversa)**

Se emplearon glóbulos rojos de carnero tanzados y sensibilizados (GRCS) con suero hiperinmune de conejo anti-AES. La mezcla se incubó en baño María a 37 °C durante 30 minutos. Los GRCS se centrifugaron a 1500 rpm durante 5 minutos, el sobrenadante se eliminó y las células se lavaron 2 veces usando SSAF con 1% de suero normal descomplementado de conejo (SNC); a 1500 rpm por 5 y 10 minutos. Del paquete obtenido se preparó una suspensión en SSAF-SNC 1%.

La determinación del AES se realizó mezclando 40  $\mu$ L del sobrenadante de la muestra de heces y 40  $\mu$ L de GRCS. Las placas se dejaron en reposo a 4 °C durante 18 horas.

##### **c) ELISA (Tipo Sandwich)**

Se empleó el kit diagnóstico "Fascidig" elaborado por el Instituto Pedro Kouri de La Habana-Cuba. Este método, que se aplicó según la técnica descrita por Espino et al. (1992 y 1994), se basa en la detección de antígenos en heces (coproantígenos) usando el anticuerpo monoclonal ES-78 de subclase IgG 2a.

**Tabla 1.** Detección de antígenos de excreción-secreción (coproantígenos) de *Fasciola hepatica* en heces de bovino mediante HAI, ELISA y coproparasitológico de Dennis. Las muestras se colectaron en los meses de Octubre y Noviembre de 1995.

MUESTRA	PROCEDENCIA	HAI	ELISA	DENNIS	
1	LA OROYA	+	+	+	
2		-	+	+	
3	SAN LORENZO	-	+	+	
4		+	+	-	
5		+	+	-	
6		-	+	-	
7		+	+	-	
8	CULLPA ALTA	-	+	+	
9		-	-	-	
10		-	-	+	
11		+	-	+	
12		-	+	-	
13		+	+	+	
14		-	-	-	
15	CHAQUICOCHA	-	-	-	
16		+	+	+	
17		-	+	+	
18		+	+	-	
19		-	-	-	
20		-	+	-	
21		-	+	-	
22		+	+	+	
23		+	-	-	
24		+	-	-	
25		-	-	+	
26		-	-	-	
27		-	-	-	
28		-	-	-	
29		+	-	-	
30		-	-	-	
31		-	+	-	
32		-	+	-	
33		-	+	-	
34		-	+	-	
35		-	-	-	
36		+	-	-	
37		-	-	-	
38		-	-	-	
39		+	-	-	
40		-	-	-	
41	-	-	-		
42	+	+	+		
43	+	-	-		
44	-	-	+		
45	-	+	-		
46	-	+	+		
47	MATAHUASI	-	-	-	
48		+	+	+	
49		-	+	+	
50	HUANTARO	+	+	-	
51		-	+	+	
52		-	+	+	
53		ACOSTAMBO	-	+	-
54			-	+	+
55			-	+	+
56	-		+	+	
57	-		-	+	
58	-		-	+	
59	-		-	-	
60	-		-	+	
61	-		-	+	
62	-		-	+	
63	+		-	-	
64	-		-	+	
65	-		-	+	
66	SAPALLANGA		-	-	-
67		+	-	-	
68		-	-	-	
69		-	-	-	
70		-	-	-	
71		+	-	-	
72		-	-	-	
73		-	-	-	
74		-	-	+	
75		-	-	-	
76		-	-	-	
77	CHONGOS ALTO	-	-	-	
78		-	-	-	
79		+	-	-	
80		+	-	+	
81		-	-	-	
82		+	-	+	
83		+	-	-	
84		+	-	-	
85		-	-	-	
86		-	-	-	
87		-	-	+	
88		+	-	-	
89		-	-	-	
90		+	-	-	
91		-	-	-	
92		-	-	-	
93	IPSS-HUANCAYO	+	-	+	
94		-	+	+	
95		-	+	+	
96		+	+	+	
97		+	-	+	
98		+	+	-	
99		+	+	+	
100		-	+	-	
101		+	+	-	
102		-	+	+	
103		+	+	-	
104		+	+	-	
105		-	+	-	
106		+	+	+	
TOTAL		HAI	ELISA	DENNIS	
MUESTRAS POSITIVAS		38	45	40*	

\* 1-5 huevos/gramo de heces

Las muestras se colectaron en los meses de octubre y noviembre de 1995.

**Tabla 2.** Determinación de parasitosis por *F. hepatica* según el lugar de procedencia.

PROCEDENCIA (Región Andrés A. Cáceres)	N.º de Casos Positivos		
	HAI	ELISA	DENNIS
La Oroya	1	2	2
San Lorenzo	3	5	1
Cullpa Alta	2	3	4
Chaquicocha	10	13	7
Matahuasi	1	2	2
Huantaro	1	3	2
Acostambo	1	4	10
Sapallanga	3	0	1
Chongos Alto	7	0	3
IPSS-Huancayo	9	13	8
Total	38	45	40

De cada muestra de heces se extrajeron 100  $\mu\text{L}$ , se colocaron en los pocillos de la placa de ELISA, y se incubaron dos horas a temperatura ambiente en cámara húmeda. Se lavaron 6 veces con el buffer de lavado del kit. Luego, a cada pocillo se agregaron 100  $\mu\text{L}$  del conjugado y se incubó durante 2 horas a temperatura ambiente en cámara húmeda. Los pocillos se lavaron 6 veces con el buffer de lavado y se añadió a cada pocillo 100  $\mu\text{L}$  de sustrato ortofenilendiamina (OPD) y posteriormente peróxido de hidrógeno al 30%.

La placa se incubó por 30 minutos a temperatura ambiente, en oscuridad, y se procedió a la lectura.

### 7. Procesamiento y análisis estadístico de los resultados

En pruebas diagnósticas en las que se manejan variables categóricas dicotómicas (+,-) la validez se conceptualiza en los términos de sensibilidad y especificidad. Para determinar la especificidad y la sensibilidad se emplearon las tablas de contingencia 2x2.

El valor predictivo positivo  $Vp(+)$  es definido como la proporción de sujetos con resul-

tados positivos para la prueba y que realmente son positivos.

El valor predictivo negativo  $Vp(-)$  es definido como la proporción de sujetos con resultados negativos para la prueba y que realmente son negativos.

Para determinar si existe correlación significativa entre los resultados de los 3 métodos inmunológicos y el examen coproparasitológico, se aplicó el método estadístico del Chi cuadrado.

## RESULTADOS

### I. Detección de AES en muestras de heces de ganado vacuno por los métodos de Aglutinación en Látex (AL), Hemaglutinación Indirecta (HAI) y ELISA (Fascidig)

Los resultados obtenidos en las pruebas de ELISA, HAI y CD por cada caso y distrito, se presentan en las tablas 1 y 2. El método de aglutinación en látex no detectó el AES.

Mediante el método de HAI la especificidad fue del 63,6% y la sensibilidad del 35% en relación al coproparasitológico. Los valores predictivos positivos y negativos fueron 34,2% y 61,8% respectivamente (Tabla 3).

**Tabla 3.** Especificidad y sensibilidad del método Hemaglutinación indirecta (HAI) con respecto al coproparasitológico de Dennis para coproantígenos de *Fasciola hepatica* en bovinos.

		Coproparasitológico de Dennis		
		Positivo	Negativo	Total
H	Positivo	14	24	38
A	Negativo	26	42	68
I	Total	40	66	106
		s= 35%	e= 63,6%	
		Vp(+)= 34,2%	Vp(-)= 61,8%	$\chi^2= 0,016$

El método de ELISA ("Fascidig") mostró una especificidad del 68,2% y sensibilidad del 60% en relación al método coproparasitológico. Los valores predictivos positivos y negativos fueron del 53,3% y 73,8% respectivamente (Tabla 4).

El método ELISA mostró con respecto a HAI una especificidad del 61,7%, sensibilidad 50% y valores predictivos positivos y negativos del 42,2% y 68,9% respectivamente (Tabla 5).

## II. Detección de huevos de *Fasciola hepatica* en muestras de heces por el método CD.

En cuarenta muestras, se determinaron de 1 a 5 huevos por gramo de heces.

## III. Comparación de los métodos de Hemaglutinación Indirecta (HAI) y ELISA ("Fascidig") con el método coproparasitológico de Dennis (CD)

Con la finalidad de determinar la correlación entre los 3 métodos inmunológicos y el CD se obtuvo el Chi cuadrado con un nivel de significación estadística del 10% que corresponde a un valor de 2,71.

La HAI con respecto al CD mostró un valor de 0,016, que no es significativo (menor que 2,71), mientras que ELISA en relación al CD obtuvo un valor de 8,19, que si es significativo (mayor que 2,71).

Cuando se correlacionaron ELISA y HAI se encontró un valor de 1,45 que no es significativo (Tabla 5).

**Tabla 4.** Especificidad y sensibilidad del método ELISA (Fascidig) con respecto al coproparasitológico de Dennis para coproantígenos de *Fasciola hepatica* en bovinos.

		Coproparasitológico de Dennis		
		Positivo	Negativo	Total
E				
L				
I	Positivo	24	21	45
S	Negativo	16	45	61
A	Total	40	66	106
		s= 60%	e= 68,2%	
		Vp(+)= 53,3%	Vp(-)= 73,8%	$c^2= 8,19$

**Tabla 5.** Especificidad y sensibilidad del método ELISA (Fascidig) con respecto al de Hemaglutinación Indirecta (Pasiva Reversa) para coproantígenos de *Fasciola hepatica* en bovinos.

		HAI		Total
		Positivo	Negativo	
E				
L				
I	Positivo	19	26	45
S	Negativo	19	42	61
A	Total	38	68	106
	s=	50%		e= 61,7%
	V <sub>P</sub> (+)= 42,2%		V <sub>P</sub> (-)= 68,9%	χ <sup>2</sup> = 1,45

#### IV. Detección del estado de infección con *F. hepatica* (casos positivos) según el lugar de procedencia.

En las tablas 1 y 2 se describe la incidencia en los distintos lugares de procedencia.

Los lugares de mayor incidencia, según HAI y ELISA fueron Chaquicocha e IPSS-Huancayo; mientras que por el CD fueron Acostambo e IPSS-Huancayo. Los de menor incidencia según HAI fueron la Oroya, Matahuasi, Huantaro y Acostambo; por Elisa Sapallanga y Chongos Altos y por el CD San Lorenzo y Sapallanga.

Se mostró una similar incidencia en los lugares de la Oroya y Matahuasi con los métodos de ELISA y CD.

#### V. Evaluación del estado de infección por los métodos inmunológicos de Hemaglutinación Indirecta y ELISA (Fascidig) y el coproparasitológico de Dennis.

Por medio de HAI se determinaron un total de 38 casos positivos lo que corresponde al 35,8% del total de casos evaluados (Tabla 5).

EL método de ELISA detectó 45 casos positivos, lo que equivale al 42,5 % del total de casos evaluados. El mayor número de muestras positivas fueron determinadas por este método. El CD determinó una prevalencia del 37,7% (Figura 1)

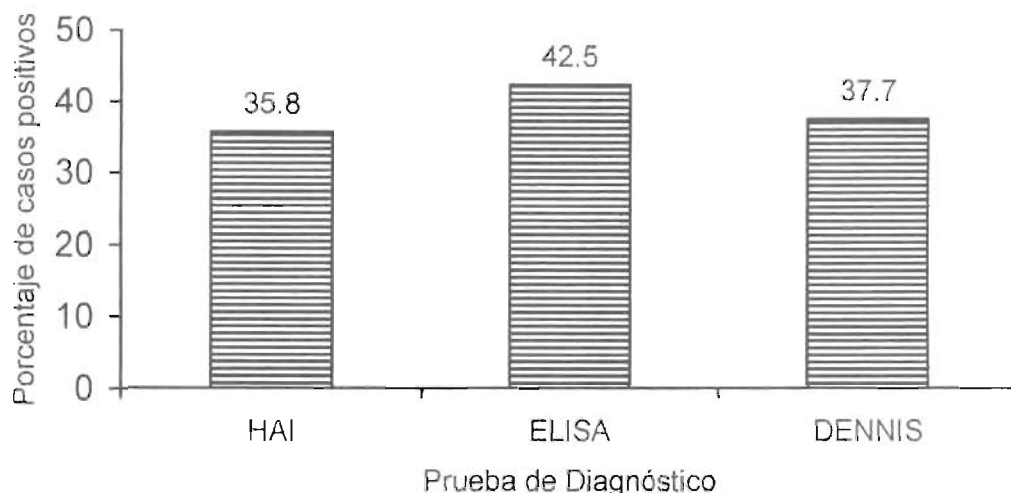
Se presentaron 9 casos negativos a CD y positivos tanto para HAI como para ELISA. Esto pondría en evidencia la fase prepatente o aguda de la enfermedad en la que la presencia de huevos del parásito es nula.

Los casos positivos por los tres métodos se relacionarían con la fase patente de la enfermedad. Los casos positivos se incrementaron en un 19,8% y 22,6% al relacionar el método de ELISA con el CD respectivamente.

## DISCUSIÓN

Los métodos inmunológicos convencionales y coproparasitológicos han sido lo suficientemente eficaces en el diagnóstico de las infecciones activas por parásitos; la alternativa para la detección se ha basado en la presencia de antígenos parasitarios en diversas muestras biológicas (Deplazes, et al. 1991; Espino, et al. 1994). En el caso particular de la fasciolosis, la fase prepatente se caracteriza por la ausencia de huevos del parásito y la fase patente por la intermitencia en la expulsión de los mismos (Levine et al., 1980; Chenm y Mott 1990).

La detección de antígenos parasitarios en muestras fecales (coproantígenos) debido a su fácil obtención, manejo y transporte resulta de gran ayuda para un diagnóstico certero.



**Figura 1.** Resultados comparativos entre los métodos inmunológicos y el Dennis para el diagnóstico de la fasciolosis bovina (Región A.A. Cáceres - 1995)

Con relación a la hemaglutinación indirecta (pasiva reversa) se mostró una especificidad de 63,6% y una sensibilidad del 35%, datos determinados tomando como método de referencia al coproparasitológico.

No hay reportes en los que se detecten antígenos en suero o heces por hemaglutinación indirecta que permitan comparar los resultados obtenidos en el presente estudio.

Sin embargo Knobloch (1985), evaluando anticuerpos en sueros de humanos con fasciolosis crónica, determinó por hemaglutinación indirecta una sensibilidad del 56%, mientras que Gorman et al., en 1990 encontraron en sueros de ovinos una sensibilidad del 55,4%.

De acuerdo a los resultados, el método HAI no es muy sensible (35%) respecto al CD y ELISA; sin embargo, para la determinación de la fase prepatente mostró mayor eficiencia que el CD (Tabla 2), con casos negativos por CD pero coincidentemente positivos por ELISA y HAI. La baja sensibilidad podría deberse a que otras proteínas del suero

hiperinmune utilizado interfieren en la prueba al unirse al glóbulo rojo de carnero tanizado, evitando una sensibilización uniforme con los anticuerpos anti-AES, se podría mejorar el método de HAI-pasiva reversa, ya que constituiría una alternativa económica para el diagnóstico de esta parasitosis.

Mediante la prueba de ELISA ("Fascidig") la especificidad y sensibilidad que se obtuvo con respecto al coproparasitológico de Dennis fue del 68,2% y 60% respectivamente. Estos datos son menores que los reportados por Castro et al., en 1994, los cuales utilizando el kit "Fascidig" para coproantígenos encontraron una especificidad del 99% y sensibilidad de 95,3%. La diferencia de resultados podría tener relación con la baja densidad parasitaria encontrada, a diferencia de lo reportado por Castro (1993), quien halló una elevada carga parasitaria por el método de Dennis (26 a 156 huevos/g de heces)..

El método de ELISA en relación con HAI demostró una especificidad del 61,7% y sensibilidad del 50%. No existen referencias que permitan discutir los datos encontrados.



Se determinó una correlación significativa entre el "Fascidig" y el método de Dennis (Tabla 3), lo que indica que se puede realizar el diagnóstico de la enfermedad durante la fase prepatente o patente; cabe recalcar que el método de Dennis sólo permite el diagnóstico de la enfermedad durante la fase patente. Esta correlación se compara a lo reportado por Castro (1993) que encontró una relación significativa entre ambos métodos.

Con respecto a la incidencia, el mayor número de casos coincidentemente según HAI y ELISA fueron Chaquicocha e IPSS-Huancayo mientras que por CD fueron Acostambo e IPSS-Huancayo (Tabla 2), datos que no se relacionan con los obtenidos por Castro y Colona (1996), quienes determinaron el mayor número de casos por ELISA en las comunidades de Chongos Alto y Matahuasi. Estos resultados indican variación de la parasitosis en relación al tiempo.

El menor número de muestras colectadas explicaría la diferencia demostrada con el reporte de Castro y Colona (1996); sin embargo, en Chongos Alto aunque el número de muestras fue mayor, no se detectaron casos positivos por el método de ELISA probablemente debido a una baja densidad parasitaria por individuo, ya que no se puede descartar totalmente el parasitismo, además de las investigaciones realizadas por Castro (1993), que demostró en animales de matadero la existencia de una correlación estadísticamente significativa entre la intensidad de la infección, la excreción de huevos y la concentración de antígenos en heces.

El estado de infección o prevalencia determinado por HAI fue del 35,8% mientras que el obtenido por ELISA y el método de Dennis fue del 42,5% y 37,7% respectivamente (Figura 1). El índice encontrado corresponde a una zona de alta prevalencia de fasciolosis de acuerdo a los datos reportados por Leguía et al, 1988.

Estos investigadores clasificaron la prevalencia de distomatosis por áreas, y se consi-

dera el departamento de Junín (Región A. A. Cáceres) como un lugar de alta prevalencia.

Los resultados obtenidos en el presente estudio (42,5%) y en el realizado por Castro y Colona en 1996 (74,02%) también demuestran que la zona investigada es de alta prevalencia para *Fasciola hepatica*.

El presente estudio permitió evaluar tres métodos inmunológicos (HAI, ELISA y CD) y determinar la eficiencia de ELISA-"Fascidig" para diagnosticar la fasciolosis durante la fase prepatente y patente de la enfermedad por hallazgo de coproantígenos.

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Jorge Ruiz Salomé, Jefe de la Oficina Veterinaria del Frigorífico Moderna S. A., y al Sr. Edinson Villanueva por la ayuda prestada para la obtención del material biológico.

A la Bach. María Maysundo Reyes por su apoyo en la colección y transporte del material biológico.

## LITERATURA CITADA

- Alzamora, L.; R. Torres and E. Colona. 1999. A rapid test for detection of antibodies against measles virus. Libro de Resúmenes del V Congreso Latinoamericano de Inmunología. Punta del Este-Uruguay. Pág. 120.
- Castro, J. 1993. Evaluación del estado de infección por *Fasciola hepatica* en tres unidades pecuarias de la ciudad de La Habana, utilizando el kit diagnóstico FASCIDIG (Tesis de Maestría). Instituto de Investigación "Pedro Kouri" La Habana-Cuba.
- Castro, J.; B. Duménigo y A. Espino. 1994. Detección de coproantígenos para evaluar la infección activa por *Fasciola hepatica* en ganado bovino. Parasitología al Día 18:33-38.
- Castro, J. y E. Colona. 1996. Diagnóstico de *Fasciola hepatica* a través de la captura de coproantígenos. Libro de Resúmenes de la V Reunión Científica ICBAR Lima-Perú.
- Chenm, M. K. and K. Mott. 1990. Progress in assessment of morbidity due to *Fasciola hepatica* infection: A review of recent literature. Tropical Diseases Bulletin 87:1-38.

- Dennis, W.; W. Stone and L. Swanson. 1954. A new Laboratory and field diagnostic test for fluke ova in feces. *Journal American Veterinary Medical Association* **124**: 47-50.
- Deplazes, P.; J. Eckert; Z. S. Pawlowski; L. Machowska and B. Gottstein. 1991. An enzyme-linked immunosorbent assay for diagnostic detection of *Taenia saginata* copro-antigens in humans. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **85**:391-396.
- Espino, A. M.; J. C. Millan and C. M. Finlay. 1992. Detection of antibodies and circulating excretory-secretory antigens for assessing cure in patients with fascioliasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **86**:000-000.
- Espino, A. M. and C. Finlay. 1994. Sandwich Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of excretory-secretory antigens in humans with fascioliasis. *Journal of Clinical Microbiology* **32**(1): 190-193.
- Gorman T.; J. Wenzel; M. Lorca; L. Ibarra; B. San Martín y H. Alcaíno. 1990. Pruebas de inmunoprecipitación y hemoaglutinación indirecta en el diagnóstico de la fascioliasis ovina. *Parasitología al Día* **14**: 51-56.
- Knobloch J. 1985. Human fascioliasis in Cajamarca/Perú. II Humoral antibody response and antigenaemia. *Tropical Medicine and Parasitology* **36**(2): 91-93.
- Leguía G.; H. Álvarez; F. Náquira y M. Beltrán. 1988. Distomatosis hepática en el Perú. *Anales del Seminario Nacional de Zoonosis y Enfermedades de Transmisión Alimentaria*. Págs. 96-106.
- Levine, D. M.; G. V. Hillyer and S. I. Flores. 1980. Comparison of counter-electrophoresis, the enzyme-linked immunosorbent assay, and Kato fecal examination for the diagnosis of fascioliasis in infected mice and rabbits. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **29**(4): 602-608.