



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

ESCUELA DE POSGRADO

DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD



TESIS

**EFICIENCIA DE ANTIGENOS DE FASCIOLA HEPÁTICA PROVENIENTES
DE GANADO VACUNO, OVINO Y ALPACAS, CON FINES DIAGNOSTICOS,
PUNO 2022**

PRESENTADA POR:

NADDYA VALENTINE JORDAN ROMERO

PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS DE LA SALUD

PUNO, PERÚ

2025



NADDYA VALENTINE JORDAN ROMERO

EFICIENCIA DE ANTIGENOS DE FASCIOLA HEPÁTICA PROVENIENTES DE GANADO VACUNO, OVINO Y ALPACAS, C...

- 9.- CIENCIAS DE LA SALUD
- 9.- CIENCIAS DE LA SALUD
- Universidad Nacional del Altiplano

Detalles del documento

Identificador de la entrega
trn:oid::8254:484951778

Fecha de entrega
20 ago 2025, 11:41 a.m. GMT-5

Fecha de descarga
20 ago 2025, 11:52 a.m. GMT-5


Nombre del archivo
EFICIENCIA DE ANTIGENOS DE FASCIOLA HEPÁTICA PROVENIENTES DE GANADO VACUNO, OVIN....docx

Tamaño del archivo
8.3 MB

87 páginas

19.190 palabras

109.026 caracteres



Dr. WILBER PAÑEDES UGARTE
DOCENTE
E.P. NUTRICIÓN HUMANA
UNA - PUNO





12% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Texto citado
- ▶ Texto mencionado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Fuentes principales

- 11% Fuentes de Internet
- 5% Publicaciones
- 6% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

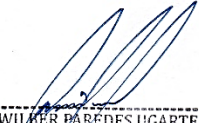
Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.



Dr. WILBER BARREDES UGARTE
DOCENTE
E.P. NUTRICIÓN HUMANA
UNA - PUNO





UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
ESCUELA DE POSGRADO
DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD

TESIS

**EFICIENCIA DE ANTIGENOS DE *Fasciola hepática* PROVENIENTES DE
GANADO VACUNO, OVINO Y ALPACAS, CON FINES DIAGNOSTICOS**

PUNO 2022

PRESENTADA POR:

NADDYA VALENTINE JORDAN ROMERO
PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS DE LA SALUD



APROBADA POR EL JURADO SIGUIENTE:

PRESIDENTE

.....
Dra. ROXANA DEL CARMEN MEDINA ROJAS

PRIMER MIEMBRO

.....
Dr. DANTE JONI CHOQUEHUANCA PANCLAS

SEGUNDO MIEMBRO

.....
Dra. TANIA CAROLA PADILLA CACERES

ASESOR DE TESIS

.....
Dr. WILBER PAREDES UGARTE

Puno, 13 de junio de 2025.

ÁREA: Ciencias de la salud.
TEMA: Eficiencia de antígenos de *Fasciola hepática*.
LÍNEA: Diagnóstico y epidemiología.



DEDICATORIA

Con inmensa gratitud a Dios por iluminar mi camino y darme toda fuente de sustento para el logro de mis ideales.

A mi Madre Julia Roxana y mi Padre Blas Nicolás, por darme la vida y la motivación por la cual vivirla, por su gran esfuerzo, ayuda e incondicional sacrificio para que siga alcanzando mis propósitos.

A mis Hermanos Olga Danila y Renzo Daniel, por su ayuda, compañía, confianza, diaria comprensión e incentivo para obtener mis propósitos.

Para aquella Persona tan Especial para mí, que día a día me ayudó en todo para que culmine este estudio y continúe en la lucha por nuestros sueños y propósitos.

A mi preciosa hija Alessia Ornela, quien con su amor es mi motor, motivo, e impulso diario para el logro de mis metas y sueños.

Naddya Valentine Jordan Romero.



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, la cual me acogió en sus salones en toda mi formación profesional.

A los Señores Docentes del programa de Doctorado en Ciencias de la Salud, los cuales aportaron en mi formación académica.

Con inmensa gratitud a la Dr. Wilber Paredes Ugarte, por su dirección acertada y ayuda intelectual y moral del estudio.

Mi reconocimiento a los miembros del jurado calificador: Dra. Roxana del Carmen Medina Rojas, Dr. Dante Joni Choquehuanca Panclas, Dra. Tania Carola Padilla Cáceres, por su ayuda y guía en este estudio.

A todas los que aportaron con todo su esfuerzo, voluntad asimismo dedicación haciendo viable la culminación de estudio.

Naddya Valentine Jordan Romero.



ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
ÍNDICE GENERAL	iii
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE ANEXOS	viii
ACRÓNIMOS	ix
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3

CAPÍTULO I

REVISIÓN DE LITERATURA

1.1	Marco teórico	5
1.1.1	Fasciolosis	5
1.1.2	Antígenos de <i>Fasciola hepática</i>	6
1.1.3	Características y utilidad de los antígenos en el diagnóstico	6
1.1.4	Características epidemiológicas	7
1.1.5	Fases de la enfermedad	8
1.1.6	Manifestaciones clínicas	8
1.1.7	Prevalencia	8
1.1.8	Respuesta inmunitaria por parte del huésped	9
1.1.9	Patogénesis	9
1.1.10	Cuantificación de Antígenos	10
1.1.11	Densidad Óptica	11
1.1.12	Cuantificación de proteínas	12
1.1.13	Antígeno y diagnóstico	12
1.1.14	Sensibilidad y especificidad	13
1.1.15	Eficiencia de antígenos de <i>Fasciola hepática</i>	14
1.2	Antecedentes	15
1.2.1	Internacionales	15
1.2.2	Nacionales	24



1.2.3	Locales	27
-------	---------	----

CAPÍTULO II

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2.1	Identificación del problema	28
2.2	Enunciados del problema	30
2.2.1	Problema general	30
2.2.2	Problemas específicos	30
2.3	Justificación	30
2.4	Objetivos	31
2.4.1	Objetivo general	31
2.4.2	Objetivos específicos	31
2.5	Hipótesis	32
2.5.1	Hipótesis general	32
2.5.2	Hipótesis específicas	32

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1	Lugar de estudio	33
3.2	Población	33
3.3	Muestra	33
3.4	Método de investigación	33
3.5	Descripción detallada de métodos por objetivos específicos	34
3.5.1	Descripción de las variables analizadas en los objetivos específicos	34
3.5.2	Detallada descripción del empleo de materiales, instrumentos, insumos, equipos, entre otros	34
I.	Lectura Con lector de ELISA:	39

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	Resultados	42
4.1.1	Cuantificación de los antígenos de <i>Fasciola hepática</i> obtenidos de ganado vacuno, ovino y alpacas	42
4.1.2	Evaluación del diagnóstico ELISA de los antígenos obtenidos de ganado vacuno, ovino y alpacas	44



4.1.3	Nivel de eficiencia según sensibilidad, especificidad y valor predictivo, a partir de resultados ELISA para antígenos de <i>Fasciola hepática</i> obtenidos, según ganado vacuno, ovino y alpacas	45
4.2	Discusión	50
	CONCLUSIONES	53
	RECOMENDACIONES	55
	BIBLIOGRAFÍA	56
	ANEXOS	62



ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
1. Soluciones para llevar a cabo el “ método de Lowry” para cuantificación de antígenos de Fasciola hepática provenientes de ganado vacuno, ovino y alpacas	36
2. Tablas tricomicas para distribución de resultados sobre REACTIVIDAD según la prueba de diagnóstico ELISA	40
3. Cuantificación de antígenos de Fasciola hepática, provenientes de ganado vacuno, ovino y alpacas	42
4. Resultados del diagnóstico ELISA de los antígenos de Fasciola hepática obtenidos de ganado vacuno, ovino y alpacas	44
5. Tabla de resultados según reacción de diagnóstico ELISA para antígenos de Fasciola hepática obtenidos de alpacas	45
6. Tabla de resultados según reacción de diagnóstico ELISA para antígenos de Fasciola hepática obtenidos de ganado ovinos	46
7. Tabla de resultados según reacción de diagnóstico ELISA para antígenos de Fasciola hepática obtenidos de ganado vacuno	46
8. Sensibilidad, especificidad y valor predictivo, a partir de resultados de diagnóstico ELISA para antígenos de Fasciola hepática obtenidos de ganado alpacas, ovino y vacuno	47
9. Comparación de indicadores sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo	47
10. Análisis ANOVA para la contrastación de hipótesis	49
11. Prueba de Tukey	49



ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
1. Curva de concentración vs. Densidad óptica	36



ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
1. Matriz de consistencia	62
2. Operacionalización de variables	63
3. Instrumentos de recolección de datos	64
4. Base de datos	65
5. Panel fotográfico	68
6. Declaración jurada de autenticidad de tesis	71
7. Autorización de depósito de tesis en el Repositorio Institucional	72

ACRÓNIMOS

AEE	:	Antígenos Excretorios-Secretorios (Excretory-Secretory Antigens)
AUROC	:	Área Bajo la Curva de la Característica Operativa del Receptor (Area Under the Receiver Operating Characteristic Curve)
cELISA	:	ELISA de Coproantígenos (Coproantigen Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)
dpi	:	Días Post-Infección (Daysx Post-Infection)
ELISA	:	Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)
EPG	:	Escuela de Posgrado
ES	:	Productos Excretorios-Secretorios (Excretory-Secretory Products)
FhCB	:	Catepsina B de Fasciola hepática (Fasciola hepática Cathepsin B)
FhCL	:	Catepsina L de Fasciola hepática (Fasciola hepática Cathepsin L)
FhES	:	Antígenos Excretorios-Secretorios de Fasciola hepática (Fasciola hepática Excretory-Secretory Antigens)
FhHDM-1	:	Molécula de Defensa de Fasciola hepática (Fasciola hepática Host Defense Molecule-1)
FhKT1	:	Inhibidor de Serina Proteasa de Tipo Kunitz de Fasciola hepática (Fasciola hepática Kunitz-Type Serine Protease Inhibitor)
FhSAMS	:	Antígenos Solubles de Fasciola hepática Asociados a Montanide y Saponina
GST	:	Glutación S-Transferasa (Glutathione S-Transferase)
HA	:	Hidroxiapatita (Hydroxyapatite)
HAC	:	Cromatografía de Hidroxiapatita (Hydroxyapatite Chromatography)
IC	:	Intervalo de Confianza (Confidence Interval)
IFN- γ	:	



IgG	:	Interferón Gamma (Interferón Gamma) Inmunoglobulina G (Immunoglobulin G)
IgM	:	Inmunoglobulina M (Immunoglobulin M)
IL-10	:	Interleucina 10 (Interleukin 10)
IL-2	:	Interleucina 2 (Interleukin 2)
IL-4	:	Interleucina 4 (Interleukin 4)
KLH	:	Hemocianina de Lapa (Keyhole Limpet Hemocyanin) Conteo de Huevos de Fasciola hepática en Heces (Liver Fluke Egg Count)
MAb	:	Anticuerpo Monoclonal (Monoclonal Antibody)
MHC-I	:	Complejo Mayor de Histocompatibilidad de Clase I (Major Histocompatibility Complex Class I)
MHC-II	:	Complejo Mayor de Histocompatibilidad de Clase II (Major Histocompatibility Complex Class II)
NAb	:	Anticuerpos Naturales (Natural Antibodies)
OD	:	Densidad Óptica (Optical Density)
PC	:	Fosforilcolina (Phosphorylcholine)
QUADAS	:	Herramienta de Evaluación de Calidad en Diagnóstico (Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies)
ROC	:	Curva Característica Operativa del Receptor (Receiver Operating Characteristic Curve)
SA	:	Sulfato de Amonio (Ammonium Sulfate)
SDS-PAGE	:	Electroforesis en Gel de Poliacrilamida con Dodecil Sulfato de Sodio (Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis)
SpAb	:	Anticuerpos Específicos (Specific Antibodies)
Th1	:	Respuesta Inmune de Tipo 1 (Type 1 Helper T Cells Response)
UHPLC-Tims- QTOF MS/MS	:	Cromatografía Líquida de Ultra Alta Resolución Acoplada a Espectrometría de Masas en Tándem con Análisis de Movilidad Iónica y Tiempo de Vuelo (Ultra-High Performance Liquid Chromatography Trapped Ion Mobility



Spectrometry Quadrupole Time-of-Flight Mass
Spectrometry)

- UNA : Universidad Nacional del Altiplano
Wpi : Semanas Post-Infección (Weeks Post-Infection)
WWE : Extracto de Gusano Completo (Whole Worm Extract)

RESUMEN

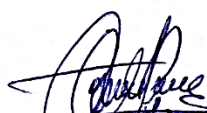
En la actualidad la fasciolosis presenta una prevalencia variable conforme a la región geográfica, la estación del año y las condiciones ambientales. El diagnóstico serológico de la fasciolosis depende de la eficiencia de los antígenos empleados en las pruebas de detección ya que en muchos casos se detecta la enfermedad cuando ya ha ocasionado afectaciones crónicas al paciente. El propósito fue determinar la eficiencia de antígenos de *Fasciola hepática* provenientes de ganado vacuno, ovino y alpacas, con fines diagnósticos. La metodología estuvo dentro del enfoque cuantitativo, donde se tomó muestras de 20 individuos por cada tipo: ganado vacuno, ovino y alpacas. Para resultados, el diagnóstico ELISA mostró un desempeño variable según la especie, mejor en ovinos y mayores limitaciones en vacunos y alpacas. En ovinos, ELISA fue altamente confiable, en vacunos y alpacas se observaron falsos positivos y negativos, lo que resalta el requerimiento de optimizar sus parámetros para optimizar la precisión diagnóstica. La sensibilidad y especificidad resultante según los datos obtenidos en la prueba ELISA fueron más altas en ovinos (90% y 100%), seguidas de vacunos (80% y 90%) y alpacas (90% y 80%). La prueba Tukey recomienda utilizar la prueba ELISA como método diagnóstico principal usando antígenos de ganado ovinos, la cual presenta mayor precisión en la detección del parásito. Se concluye que los antígenos con mayor eficiencia son provenientes de ovinos, moderada en vacunos y menor eficiencia en alpacas, por lo que se recomienda la utilidad de los antígenos de ovino en diagnóstico serológico oportuno para fasciolosis.

Palabras clave: Alpacas, *Fasciola hepática*, ganado ovino, ganado vacuno, prueba ELISA.

ABSTRACT

Currently, fasciolosis has a variable prevalence depending on the geographic region, season, and environmental conditions. Serological diagnosis of fasciolosis depends on the effectiveness of the antigens used in detection tests, since in many cases, the disease is detected only after it has already caused chronic disease in the patient. The objective was to determine effectiveness of *Fasciola hepatica* antigens from cattle, sheep, and alpacas for diagnostic purposes. The research methodology was quantitative, with samples taken from 20 individuals of each species: cattle, sheep, and alpacas. The ELISA diagnostic test showed variable performance depending on the species, with better performance in sheep and greater limitations in cattle and alpacas. In sheep, ELISA was highly reliable; false positives and negatives were observed in cattle and alpacas, highlighting the need to optimize its parameters to improve diagnostic accuracy. The resulting sensitivity and specificity based on the data obtained in the ELISA test were highest in sheep (90% and 100%), followed by cattle (80% and 90%) and alpacas (90% and 80%). The Tukey test recommends using the ELISA test as the primary diagnostic method using sheep antigens, which has greater accuracy in detecting the parasite. It is concluded that the antigens with the highest efficiency are from sheep, moderate efficiency in cattle, and lower efficiency in alpacas. Therefore, the usefulness of sheep antigens in the timely serological diagnosis of fasciolosis is recommended.

Keywords: Alpacas, cattle, ELISA test, *Fasciola hepática*, sheep



Mg. Sc. Uri Harold Pérez Guerra
Docente Asociado T.C.
UNA - PUNO

INTRODUCCIÓN

La fasciolosis es una enfermedad parasitaria de gran impacto en la salud animal y en la productividad ganadera, especialmente en regiones donde la cría de vacunos, ovinos y alpacas es una actividad económica fundamental. *Fasciola hepática*, el agente causal, afecta el hígado de los animales, generando pérdidas económicas por merma en la producción de carne, leche y fibra, asimismo del costo de tratamientos y medidas de control. En la provincia de Melgar, Puno, donde la ganadería es un pilar económico, la detección temprana de la enfermedad es esencial para mitigar sus efectos. En este contexto, la eficiencia de los antígenos utilizados en pruebas diagnósticas como ELISA juega un papel clave en la identificación de animales infectados y en la implementación de estrategias de control efectivas.

El diagnóstico serológico de la fasciolosis depende de la calidad y eficiencia de los antígenos empleados en las pruebas de detección. Estudios previos han demostrado que la sensibilidad y especificidad de los antígenos pueden variar según la especie de la que se obtienen, lo que influye directamente en la precisión de los resultados. Los antígenos excretorios-secretorios de *Fasciola hepática* son ampliamente utilizados en el diagnóstico, pero su rendimiento puede diferir en vacunos, ovinos y alpacas debido a factores como la respuesta inmunológica de cada hospedador y la cantidad de antígenos disponibles en circulación. Por ello, es fundamental evaluar qué antígenos ofrecen mayor precisión diagnóstica en cada especie, garantizando resultados confiables en zonas endémicas como Melgar.

Como problema de investigación se planteó: ¿Cuál de los antígenos provenientes de ganado vacuno, ovino y alpacas, es el más eficiente para el diagnóstico de *Fasciola hepática*?, donde se detalló como propósito determinar la eficiencia de antígenos de *Fasciola hepática* obtenidos de vacunos, ovinos y alpacas en la provincia de Melgar, Puno, con fines diagnósticos mediante la técnica ELISA. Para ello se cuantificó los antígenos excreción - secreción disponibles en cada especie por espectrofotometría utilizando el método de Lowry”, para luego evaluar su desempeño en la prueba serológica y analizar su eficiencia en términos de sensibilidad, especificidad y valor predictivo. Los resultados permitirán optimizar las herramientas diagnósticas utilizadas en la región, mejorando la detección de la fasciolosis y contribuyendo a la salud animal y la



sostenibilidad del sector ganadero en Puno, como al desarrollo de métodos diagnósticos que contribuyan a la identificación oportuna de la enfermedad.

Para ello, se estructuró en 4 capítulos, donde el capítulo I se desarrollan el marco teórico y los antecedentes. En el capítulo II se desarrollan el problema, objetivos e hipótesis. En el capítulo III se plantea el lugar de análisis, método general y por objetivos, además de la población y muestra. En el capítulo IV se plantean los resultados, y la discusión. Finalmente se sigue con las conclusiones y recomendaciones del estudio.

CAPÍTULO I

REVISIÓN DE LITERATURA

1.1 Marco teórico

1.1.1 Fasciolosis

La fasciolosis hepática es una enfermedad parasitaria generada por trematodos del género *Fasciola*, principalmente *Fasciola hepática* y, en menor medida, *Fasciola gigantica*. Estos parásitos afectan principalmente al hígado de mamíferos herbívoros, como bovinos y ovinos, pero también pueden infestar a los seres humanos, provocando una zoonosis de relevancia en salud pública. La infección ocurre por ingesta de vegetación o agua contaminada con metacercarias del parásito, que posteriormente migran al hígado, causando daño tisular y diversas manifestaciones clínicas (Lan et al., 2024).

Desde el punto de vista biológico, la *Fasciola hepática* presenta un ciclo de vida complejo que involucra hospederos intermediarios, como caracoles acuáticos de género *Lymnaea*. Tras su desarrollo en el caracol, las larvas del parásito emergen y se enquistan en la vegetación circundante en forma de metacercarias, las cuales son altamente infectivas. Una vez ingeridas, estas larvas atraviesan el intestino del hospedador definitivo, penetran la pared intestinal y migran a través de la cavidad peritoneal hasta llegar al hígado, donde completan su maduración (Siles-Lucas et al., 2021).

La importancia de la fasciolosis hepática radica en su impacto tanto en la salud animal como humana. En la ganadería, esta enfermedad genera grandes pérdidas a nivel económico dado a la reducción en la producción láctea, disminución de peso y condena de hígados en mataderos. En humanos, su impacto se refleja en manifestaciones clínicas que pueden variar desde síntomas leves hasta cuadros graves con compromiso hepático significativo, lo que subraya el requerimiento de implementar estrategias efectivas de control y prevención (Regasa y Seboka, 2021).

1.1.2 Antígenos de *Fasciola hepática*

Son componentes proteicos del parásito que el sistema inmunitario de los animales (y humanos) reconoce y contra los cuales produce anticuerpos. Estos antígenos se utilizan en pruebas serológicas para diagnóstico de la fascioliasis.

- Antígenos de *Fasciola hepática* utilizados en diagnóstico:
- Antígenos de excreción-secreción (Fh ES): Son antígenos metabólicos que *Fasciola hepática* libera al medio, y son muy importantes para el diagnóstico serológico.
- Antígenos somáticos: Son antígenos que se encuentran en la superficie del parásito.
- Antígenos recombinantes: Son antígenos producidos en laboratorio mediante ingeniería genética, que son más puros y pueden mejorar la precisión de las pruebas de diagnóstico.
- Coproantígenos: Son antígenos detectados en las heces, apropiados para diagnóstico durante la etapa patente de infección.

1.1.3 Características y utilidad de los antígenos en el diagnóstico

Los antígenos de excreción-secreción (Fh ES) se consideran potentes inductores de respuesta inmune humoral y se utilizan en pruebas ELISA para el diagnóstico (Dong et al., 2022).

Por su parte los antígenos recombinantes pueden ser más específicos y sensibles para el diagnóstico, y se están utilizando para mejorar la precisión de pruebas serológicas, los coproantígenos son apropiados para diagnóstico de la fascioliasis en etapa patente de la infección, cuando el parásito está eliminando huevos en las heces y las pruebas de diagnóstico basadas en antígenos - ELISA (Ensayos Inmunoenzimáticos) son pruebas serológicas que permiten detección de anticuerpos contra los antígenos de *Fasciola hepática* en muestras de suero, plasma o leche.

La prueba western blot se considera una técnica que permite identificar bandas proteicas específicas de *Fasciola hepática* en muestras biológicas (Dong et al., 2022).

1.1.4 Características epidemiológicas

La fasciolosis hepática es una enfermedad de distribución global, con mayor prevalencia en regiones húmedas y templadas, donde existen condiciones óptimas para la supervivencia del hospedero intermediario. Se ha documentado en América Latina, Europa, África y Asia, con focos endémicos en países como Bolivia, Perú y Egipto. La presencia del parásito en una región depende de factores ambientales como la disponibilidad de cuerpos de agua y la presencia de caracoles acuáticos, que permiten el desarrollo del ciclo de vida del parásito (Dong et al., 2022).

La transmisión de la fasciolosis está estrechamente vinculada a hábitos alimentarios y prácticas de higiene. La ingesta de vegetales crudos contaminados con metacercarias, como el berro y otras plantas acuáticas, representa la principal vía de infección en humanos. En los animales, la contaminación del agua y el pasto con larvas infectivas facilita la propagación de la enfermedad en rebaños ganaderos, contribuyendo a la persistencia de la infección en el ecosistema.

El clima y las estaciones del año desarrollan un rol primordial en la epidemiología de la enfermedad. La alta humedad y las temperaturas moderadas favorecen la proliferación de los caracoles intermediarios, lo que incrementa la diseminación del parásito. En contraste, en regiones áridas o con inviernos severos, la prevalencia tiende a ser menor debido a la menor supervivencia del hospedero intermediario y la merma de la actividad de las larvas (Oehm et al., 2023).

El control epidemiológico de fasciolosis hepática requiere enfoque integral que incluya el monitoreo de hospederos intermediarios, la aplicación de tratamientos antihelmínticos en animales infectados y la educación sanitaria de las comunidades en riesgo. Estrategias como el drenaje de zonas pantanosas, el uso de molusquicidas y la implementación de buenas prácticas ganaderas han señalado poseer efectividad en la merma de prevalencia de la enfermedad.

1.1.5 Fases de la enfermedad

La fasciolosis hepática se divide en tres fases clínicas principales: fase aguda, fase latente y fase crónica. La fase aguda ocurre cuando las larvas migran desde el intestino hacia el hígado, causando daño hepático severo y reacciones inflamatorias intensas. Esta fase puede poseer una duración de varias semanas y se particulariza por síntomas como fiebre, dolor abdominal en el hipocondrio derecho y hepatomegalia (Shoulah et al., 2024).

En la fase latente, los parásitos se alojan en conductos biliares, en el cual se desarrollan hasta conseguir la madurez. Durante este periodo, que puede durar meses, el paciente puede permanecer asintomático o presentar síntomas leves inespecíficos. La respuesta inmunitaria del huésped desarrolla un rol primordial en contención del parásito en esta etapa.

La fase crónica se manifiesta cuando los parásitos adultos provocan inflamación crónica y obstrucción de los conductos biliares. Esto puede derivar en colangitis, cirrosis y otras complicaciones hepatobiliares. En animales, la fase se vincula con la merma de peso, debilidad y disminución de la productividad.

1.1.6 Manifestaciones clínicas

Manifestaciones a nivel clínico de fasciolosis hepática poseen dependencia de carga parasitaria y respuesta inmunológica del huésped. En la fase aguda, los síntomas incluyen fiebre, dolor abdominal, hepatomegalia y eosinofilia marcada. En casos severos, pueden presentarse reacciones alérgicas e incluso cuadros de hepatitis aguda (Mahdee et al., 2022).

En la fase crónica, los síntomas predominantes incluyen dolor abdominal recurrente, ictericia leve, fatiga y trastornos digestivos. En animales, la enfermedad puede manifestarse con pérdida de peso, letargo y merma en generación de leche o carne, lo que impacta negativamente en la industria ganadera (Mahdee et al., 2022)

1.1.7 Prevalencia

La fasciolosis hepática presenta una prevalencia variable conforme la región geográfica, estación del año y circunstancias ambientales. En países con

climas húmedos y templados, donde la presencia de caracoles hospedadores es alta, la prevalencia en animales de producción puede superar el 50%, lo que simboliza una problemática de salud pública y veterinaria significativo (Lan et al., 2024).

El monitoreo constante de prevalencia de este padecimiento es fundamental para la implementación de estrategias de control efectivas. Programas de vigilancia epidemiológica, combinados con el tratamiento periódico de animales infectados y la educación de las comunidades en riesgo, han señalado ser eficaces en merma de transmisión del parásito (Opio et al., 2021).

1.1.8 Respuesta inmunitaria por parte del huésped

El sistema inmunológico del huésped responde a infección por *Fasciola hepática* mediante mecanismos innatos y adaptativos. En la fase aguda, la presencia de larvas en el hígado desencadena una respuesta inflamatoria mediada por células inmunes, como macrófagos y eosinófilos, que intentan contener la infección (Costa et al., 2024).

En la fase crónica, el parásito desarrolla mecanismos de evasión inmunológica, como la secreción de proteínas inmunomoduladoras que reducen la eficacia de la respuesta del huésped. Esto permite su permanencia en los conductos biliares y facilita su reproducción. A pesar de ello, algunos pacientes generan una respuesta inmune efectiva que limita la infección y previene la progresión de la enfermedad.

El estudio de la respuesta inmunitaria en la fasciolosis ha permitido el desarrollo de estrategias de vacunación en animales, aunque su aplicación a gran escala aún está en investigación. En humanos, la modulación de la respuesta inmune podría ser clave en la búsqueda de nuevas terapias (Costa et al., 2024).

1.1.9 Patogénesis

La patogénesis de la fasciolosis hepática está determinada por el daño tisular causado por la migración y actividad del parásito. En la fase inicial, las larvas penetran la pared intestinal y atraviesan la cavidad peritoneal, provocando inflamación y lesión en los tejidos circundantes.

Una vez en el hígado, los parásitos inmaduros excavan galerías en el parénquima hepático, causando necrosis e inflamación. La respuesta inmune del huésped genera la formación de granulomas y fibrosis, lo que puede comprometer la función hepática. En la etapa crónica, los adultos en conductos biliares inducen hiperplasia de las células epiteliales y engrosamiento de las paredes biliares, lo que puede derivar en colangitis o incluso obstrucción.

El grado de daño hepático depende de la carga parasitaria y la respuesta inmunológica del huésped. En casos severos, la enfermedad puede llevar a insuficiencia hepática o predisponer a infecciones bacterianas secundarias (Flores et al., 2023).

1.1.10 Cuantificación de Antígenos

A. Método de Lowry

El ensayo de proteínas de Lowry es un método bioquímico utilizado para cuantificar la concentración de la totalidad de proteínas en una solución. Esta determinación se realiza mediante un cambio de color que ocurre en la muestra, el cual se mide a través de técnicas colorimétricas. El procedimiento lleva el nombre de su creador, el bioquímico Oliver H. Lowry, quien desarrolló este reactivo en la década de 1940.

B. Fundamento:

El método efectúa la combinación de la reacción de los iones cúpricos con los enlaces peptídicos en medio alcalino (conocida como la prueba del Biuret) con la oxidación de los residuos aromáticos presentes en las proteínas. El ensayo de Lowry es especialmente útil para medir concentraciones proteicas en el rango de 0.01 a 1.0 mg/mL. Se fundamenta en la formación de Cu^+ durante la oxidación de enlaces peptídicos, que posteriormente reacciona con el reactivo de Folin-Ciocalteu, compuesto por una mixtura de ácido fosfotúngstico y ácido fosfomolibdico (Hashimoto et al., 2005).

Este método se basa en la combinación de 2 complementarias reacciones:

- Reacción del Biuret: específica para los grupos aminopeptídicos, los cuales forman complejos de color violeta al unirse con iones Cu(II) en medio alcalino mediante enlaces de coordinación.
- Reactivo de Folin-Ciocalteu: actúa sobre grupos -OH reductores y, en presencia de los complejos formados en la reacción del Biuret, reduce el reactivo de Folin, generando un color azul oscuro. El reactivo de Folin reducido detalla un pico de absorción máximo a 750 nm, y la intensidad de esta absorción es proporcional directamente a la cantidad de proteínas presentes en la muestra (Hashimoto et al., 2005).

1.1.11 Densidad Óptica

La densidad óptica (DO) es una medida logarítmica de la cuantía de luz absorbida por una sustancia, y se utiliza en espectrofotometría para determinar concentración de una sustancia en una solución o muestra. El espectrofotómetro es un instrumento que se utiliza para medición de la densidad óptica al irradiar una muestra con luz y medir la cuantía de luz que pasa por medio de ella. En este caso mide la transmitancia de una muestra a diferentes longitudes de onda de luz. A través de una fuente de luz, una muestra y un detector, el espectrofotómetro proporciona datos que permiten calcular la densidad óptica (Abril et al., 1984).

Debido a que la densidad óptica (DO) es medición de cantidad de luz absorbida por una muestra, es un método común para detectar y cuantificar proteínas en espectrofotometría. En este contexto, la espectrofotometría utiliza la luz ultravioleta (UV) y la luz visible para analizar la interacción de la luz con las proteínas, permitiendo determinar su concentración.

El proceso de detección y cuantificación de proteínas con espectrofotometría se basa en la siguiente lógica:

A. Absorción de luz por las proteínas:

Las proteínas, especialmente en la región UV, poseen capacidad de absorber luz a longitudes de onda específicas (Abril et al., 1984).

B. Medición de la absorbancia

La absorbancia, que es directamente proporcional a la concentración de la proteína, se mide usando un espectrofotómetro.

C. Calibración y cálculo

Se puede utilizar la absorbancia medida para determinar la concentración de la proteína, a menudo utilizando una curva estándar o el coeficiente de extinción específico de la proteína.

Aplicación de la densidad óptica en la detección de proteínas en esta investigación:

1.1.12 Cuantificación de proteínas

Se utilizó para determinar concentración de proteínas en ejemplares biológicos, como soluciones de proteínas purificadas o extractos celulares. Permitiendo identificar y cuantificar presencia de proteínas de *Fasciola hepática* provenientes de ganado vacuno, ovino y alpacas. Permitiendo evaluar su concentración en cada tipo de muestra (Abril et al., 1984).

1.1.13 Antígeno y diagnóstico

El diagnóstico de la fasciolosis hepática se fundamenta en detección de antígenos parasitarios y la visualiza de huevos en las heces. Sin embargo, durante la fase aguda, el diagnóstico coprológico no es confiable, ya que parásitos aún no han obtenido la madurez y no generan huevos (Nur et al., 2023).

Métodos serológicos, como detección de anticuerpos específicos por medio de ELISA o Western Blot, han demostrado alta sensibilidad y especificidad en la inicial etapa de infección. Además, pruebas de imagen como la ecografía hepática pueden revelar lesiones sugestivas de fasciolosis, especialmente en infecciones crónicas (Saadh et al., 2021).

En animales, el diagnóstico se complementa con pruebas post-mortem que permiten identificar lesiones características en el hígado y manifestación de parásitos adultos en conductos biliares. La combinación de técnicas serológicas y coprológicas es fundamental para un diagnóstico preciso y la implementación de estrategias de control adecuadas (Rufino et al., 2024).

1.1.14 Sensibilidad y especificidad

La sensibilidad se define como la proporción de personas con la enfermedad que son correctamente identificadas por la prueba diagnóstica (ver Tabla I). En otras palabras, indica cuántos verdaderos positivos detecta el test entre todos los individuos que realmente presentan la enfermedad, según el estándar de referencia. Mientras que la especificidad es la proporción de personas sanas que son correctamente reconocidas como tales por la prueba. Es decir, representa la cantidad de verdaderos negativos identificados entre todos los individuos sin la enfermedad, de acuerdo con el estándar de referencia. En términos matemáticos, la especificidad se calcula dividiendo los verdaderos negativos entre la suma de verdaderos negativos y falsos positivos (Bravo-Grau y Cruz, 2015).

Ambos indicadores son características propias de la prueba diagnóstica y, en general, no dependen de la prevalencia de la enfermedad. Sin embargo, como se deduce de sus definiciones, sensibilidad y especificidad están orientadas desde la perspectiva del rendimiento del test, más que desde la lógica clínica de toma de decisiones. Por lo tanto, su aplicabilidad directa en casos individuales puede ser limitada. La relevancia de estos parámetros dependerá en gran medida del contexto específico en el que se utilicen.

La sensibilidad y la especificidad son indicadores clave de la precisión diagnóstica de una prueba, sin embargo, no permiten determinar la probabilidad de enfermedad en un individuo específico. En cambio, los valores predictivos positivo (VPP) asimismo negativo (VPN) ofrecen una estimación de dicha probabilidad. Es decir, permiten conocer cuán probable es que el resultado del test sea correcto, ya sea positivo o negativo.

El Valor Predictivo Positivo se refiere a la probabilidad de que una persona realmente esté enferma cuando la prueba arroja un resultado positivo; en otras

palabras, indica el porcentaje de individuos con positivo resultado que efectivamente presentan la enfermedad (Bravo-Grau & Cruz, 2015).

El Valor Predictivo Negativo, por su parte, representa la posibilidad de que un individuo no tenga la enfermedad cuando la prueba resulta negativa. Dicho de otro modo, señala la certeza de que una persona está libre de la condición analizada si el test es negativo, y es equivalente al complemento de la probabilidad post-test de estar enfermo tras un resultado negativo.

1.1.15 Eficiencia de antígenos de *Fasciola hepática*

La eficiencia de antígenos de *Fasciola hepática* para el diagnóstico serológico de la fasciolosis es alta, mostrando una sensibilidad y especificidad cercanas al 100% en algunas pruebas como ELISA y Fh rFtn-1. Sin embargo, la eficiencia puede variar dependiendo de la técnica utilizada y del tipo de antígeno.

Las pruebas ELISA utilizando antígenos de *Fasciola hepática*, como el antígeno excretor-secretor (ES), han demostrado alta sensibilidad y especificidad en humanos, ovinos y bovinos. Algunas pruebas, como la evaluada en un estudio publicado en Scielo Salud Pública, mostraron sensibilidad de 97% y especificidad de 96,6% (Siles et al., 2021).

Antígeno Recombinante Fh rFtn-1 por su parte ha demostrado especificidad y sensibilidad cercanas al 100% en grupos humanos. La eficiencia diagnóstica también puede ser alta con otros antígenos, como la fracción semipurificada de *Fasciola hepática*, aunque con menor sensibilidad que los antígenos más purificados.

La eficiencia puede variar teniendo dependencia de la etapa de la infección (infecciones prepatentes) y de la población analizada (Siles et al., 2021).

Pruebas Rápidas: Las pruebas rápidas, como Fasciorap, han demostrado una concordancia sustancial con las pruebas de Western blot, lo que sugiere su utilidad para el diagnóstico de fasciolosis.

Interpretar Resultados: Es importante interpretar los hallazgos de pruebas serológicas en contexto, considerando prevalencia de la enfermedad en la región y la posible reacción cruzada con otras infecciones (Siles et al., 2021).

1.2 Antecedentes

1.2.1 Internacionales

Alzamora-Gonzales et al. (2016) desarrollaron un kit ELISA tipo sándwich para detección de antígenos de excreción-secreción de *Fasciola hepática*, el cual alcanzó un límite de detección de 100 ng/mL. Para ello, se utilizó una óptima concentración de anticuerpo de captura (anticuerpos policlonales de ratón) de 10 µg/mL y de anticuerpo detector (anticuerpos policlonales de conejo) de 5 µg/mL, junto con una dilución adecuada del conjugado (anticuerpo monoclonal anti-inmunoglobulinas de conejo unido a peroxidasa) de 1:1000. El kit mostró una sensibilidad de 100%, una especificidad de 96,6%, un valor predictivo positivo de 50% y un valor predictivo negativo de 96,6%, en comparación con el examen coproparasitológico directo.

Li et al. (2005) señalaron que se logró estandarizar la prueba de ELISA indirecta para detectar anticuerpos en el diagnóstico de *Fasciola hepática* en alpacas. Este método resultó ser sensible y adecuado para identificar casos de fasciolosis pasiva. Por otro lado, el ELISA para la detección de coproantígenos demostró ser una técnica simple, rápida y eficaz para diagnosticar infecciones activas por *Fasciola hepática*. Ambos enfoques diagnósticos se consideran opciones preferentes para estudios seroepidemiológicos en rebaños numerosos que están expuestos a un pastoreo intensivo.

Sierra Balcárcel et al. (2017) evaluaron la Estandarización de ELISA para el diagnóstico de fasciolosis bovina, ovina y humana, se analizaron 50 muestras de bovinos, 50 de ovinos además 39 de humanos, todos con diagnóstico confirmado de fasciolosis mediante serología y análisis de heces. Se evaluaron cuatro versiones del antígeno excretor-secretor de *Fasciola hepática* y se determinaron la sensibilidad, especificidad asimismo concordancia del ensayo. La sensibilidad del ELISA alcanzó el 100% en las tres especies, mientras que la especificidad fue de 97% en humanos, 85,2% en ovinos y 96,2% en bovinos. El coeficiente Kappa de Cohen superó 0,8 en todos los casos, lo que indica una alta concordancia. Estos resultados muestran que la prueba ELISA estandarizada es altamente sensible y presenta buena especificidad para diagnóstico de fasciolosis

en humanos e igualmente animales, por lo que se recomienda su validación a escala mayor para su posible empleo en programas de tamizaje.

Duménigo Ripoll y Finlay Villalvilla (1998) realizaron el diagnóstico de *Fasciola hepática* en ovinos por medio de un ensayo inmunoenzimático tipo sándwich utilizando el anticuerpo monoclonal ES78, anteriormente validado para fascioliasis en bovinos. Se detectaron antígenos de excreción-secreción de *Fasciola hepática* en 38 de los 40 ovinos infectados, y no se hallaron en animales sanos ni en aquellos con otras parasitosis. Estos hallazgos evidencian que el ELISA tipo sándwich con ES78, al igual que en bovinos, es una herramienta rápida, sencilla y eficaz para diagnosticar infecciones activas por *Fasciola hepática* en ovinos.

Drescher et al. (2023) realizaron un estudio cuyo propósito fue evaluar el diagnóstico serológico de *Fasciola* mediante el uso de antígenos recombinantes secretados por este parásito. Para ello, llevaron a cabo una revisión bibliográfica utilizando las bases de datos PubMed y Google Scholar, enfocándose en publicaciones relacionadas con “antígenos con potencial inmunogénico” empleados en pruebas serológicas para detectar anticuerpos contra *F. hepática* en humanos, ganado bovino y ovino. Aquellos estudios que aplicaban pruebas diagnósticas con criterios de referencia comunes fueron incluidos en un metanálisis bivariado que evaluó la especificidad y/o sensibilidad de dichas pruebas. En cuanto al análisis de calidad y riesgo de sesgo, de los 33 análisis seleccionados, 26 cumplían con al menos 6 de 8 ocho criterios establecidos por la herramienta QUADAS, por lo que fueron considerados como investigaciones de buena calidad. Los hallazgos señalaron que, en la gran parte de casos, las pruebas ELISA utilizaban antígenos excretorios-secretorios nativos y catepsina recombinante para diagnóstico serológico de fascioliasis en humanos, vacas y ovejas. El metanálisis señaló que la totalidad de antígenos señalaron apropiada precisión. Los hallazgos en términos de sensibilidad [intervalo de confianza (IC) de 0,931 - 2,5 % y IC de 0,985 - 97,5 %] y especificidad (IC de 0,959 - 2,5 % y IC de 0,997 - 97,5 %) se hallaron en FhES humana. Los antígenos FhrCL-1, FhES y FhrSAP-2 dieron resultados mejores para diagnóstico sérico de fasciolosis animal y humana.

Walsh et al. (2021) en su estudio compararon el reconocimiento de anticuerpos de un antígeno CL1 recombinante (rCL1) y productos ES de duelas adultas nativas. Si bien las muestras de animales infectados experimentalmente mostraron un fuerte reconocimiento de rCL1, los anticuerpos séricos de animales infectados naturalmente no lo hicieron. Estos resultados se confirmaron mediante una matriz de péptidos. Los sueros inmunoblotting contra productos ES mostraron que los animales infectados experimentalmente tenían una respuesta fuerte y específica a las proteínas CL1/CL2 mientras que los anticuerpos de animales infectados naturalmente reconocían múltiples proteínas y tenían una respuesta variable a CL1/CL2. La espectrometría de masas de proteínas separadas por SDS PAGE 2D identificó varios antígenos reconocidos por anticuerpos séricos de una vaca infectada naturalmente, incluyendo catepsinas L1, L2 y L5, glutatión S-transferasa y una dihidrolipoil deshidrogenasa. En general, estos resultados muestran que la respuesta de anticuerpos en animales infectados naturalmente a productos ES de duelas adultas es cualitativamente diferente a la de los animales infectados experimentalmente. Esto sugiere que una prueba diagnóstica basada únicamente en CL1 puede no ser apropiada para diagnóstico de infecciones naturales por *F. hepática* en ovejas y ganado.

Zerna et al. (2022) en su estudio exploraron el papel de los NAb bovinos, utilizando la glucoproteína exógena hemocianina de lapa (KLH), en respuesta a la infección por *F. hepática* y la producción de SpAb después de la infección y la vacunación. Los NAb del ganado se vieron influenciados de manera diferente por la infección parasitaria y la vacunación, con un aumento en los niveles de IgG e IgM de unión a KLH después de la infección y una reducción de los niveles de IgM de unión a KLH después de la vacunación. Los NAb subyacentes que reaccionaban a KLH no mostraron correlaciones con las cargas finales de duelas después de la infección o vacunación experimental. Sin embargo, los NAb que reaccionaban al extracto de gusano completo (WWE) antes de la infección se correlacionaron positivamente con mayores cargas de duelas dentro del huésped bovino infectado. Además, después de la infección, la IgG específica que reaccionaba a WWE se reflejó positivamente en la respuesta IgG de los NAb subyacentes. Después de la vacunación subcutánea con glutatión S-transferasa nativa (GST) de *F. hepática*, hubo una reducción no significativa del 33% en la

carga de duelas. Los animales vacunados con NAb subyacentes más altos tuvieron una mayor inducción de SpAb inducidos por la vacuna, con tendencias observadas entre la IgM que se une a KLH y las IgG e IgM anti-GST. Nuestros hallazgos proporcionan una plataforma para permitir una mayor investigación para determinar si los niveles de NAb podrían reflejar la producción de SpAb de duelas para su explotación en un programa combinado de cría selectiva y vacunación. Además, este trabajo sugiere que la duela del hígado podría posiblemente evadir el sistema inmunológico del huésped utilizando NAb IgM unidos a la superficie.

Akil et al. (2022) en su investigación se propuso como objetivo predecir epítopos específicos de células B y T de cuatro antígenos excretores/secretores (inhibidor de serina proteasa de tipo Kunitz, catepsina L1, molécula de defensa de helmintos y glutatión S-transferasa) de *Fasciola hepática* y construir un candidato a vacuna multiepítipo contra la fasciolosis. Inicialmente, se seleccionaron los epítopos de células B y T no alérgicos y los de mayor poder antigénico y, a continuación, se predijeron los parámetros fisicoquímicos y las estructuras secundaria y terciaria de la vacuna multiepítipo diseñada. La estructura terciaria se refinó y validó utilizando herramientas bioinformáticas en línea. Se determinaron los epítopos de células B lineales y discontinuos y los enlaces disulfuro. Por último, se realizó un análisis de acoplamiento molecular para los receptores MHC-I y MHC-II. En conclusión, este candidato a vacuna de múltiples epítopos, con altas propiedades inmunológicas, puede considerarse un candidato a vacuna prometedor para experimentos con animales y estudios de laboratorio.

Ubeira et al. (2024) en su estudio describe un método único y rápido para obtener una fracción antigénica de antígenos excretores-secretores (AEE) de *Fasciola hepática* adecuada para serodiagnóstico de fascioliasis. El procedimiento consiste en la selección negativa de los AEE de *F. hepática* mediante cromatografía de hidroxipatita (HA) (HAC; fracción HAC-NR) seguida de precipitación del antígeno con sulfato de amonio (SA) al 50% y posterior recuperación mediante un filtro Millex-GV o equivalente (fracción Fi-SOLE). Probados en ELISA indirecto, los antígenos Fi-SOLE detectaron infecciones naturales por *F. hepática* con una sensibilidad del 100% y especificidad de 98,9% en ovinos, y sensibilidad de 97,7% y especificidad de 97,7% en bovinos, según lo determinado por análisis ROC. El análisis de las

fracciones mediante SDS-PAGE y nano-UHPLC-Tims-QTOF MS/MS proteómico mostró que la abundancia relativa de L-catepsinas y fragmentos de las mismas fue del 57 % en la fracción HAC-NR y del 93,8 % en la fracción Fi-SOLE. Las segundas proteínas más abundantes en la fracción HAC-NR fueron las proteínas de unión a ácidos grasos (11,9 %). Por el contrario, el hemo libre y los complejos hemo:MF6p/FhHDM-1 permanecieron fuertemente unidos a las partículas HA durante la HAC. Curiosamente, los antígenos portadores de fosforilcolina (PC), que son una fuente frecuente de reactividad cruzada, se detectaron con un mAb anti-PC (BH8) en los ESA y la fracción HAC-NR, pero estuvieron casi ausentes en la fracción Fi-SOLE.

Drescher et al. (2024) en su investigación evaluó bovinos de matadero ($n = 139$) y granjas ($n = 500$) mediante inspección hepática y examen coprológico, respectivamente. El equipo de laboratorio optimizó y validó pruebas de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas basadas en antígeno somático, proteínas excretoras/secretoras y el antígeno recombinante catepsina L-1 para detectar anticuerpos séricos contra la fasciolosis en el ganado. Para los animales de matadero, 10 fueron positivos para fasciolosis según la inspección hepática. Tanto FhES como FhrCL-1 presentaron un área bajo la curva de la curva característica operativa del receptor (AUROC) de 0,80, con una sensibilidad de 0,80 (IC del 95%: 0,46-0,95) y 0,70 (IC del 95%: 0,38-0,90) y una especificidad de 0,81 (IC del 95%: 0,73-0,87) y 0,87 (IC del 95%: 0,80-0,92), respectivamente. De los bovinos de granjas, 28 fueron positivos solo para fasciolosis según el examen coprológico. En este escenario, FhES presentó el mejor desempeño, con un AUROC de 0,84, sensibilidad de 0,79 (IC del 95%: 0,60 - 0,90) y especificidad de 0,86 (IC del 95%: 0,82 - 0,89). En conclusión, nuestro estudio destaca el potencial del serodiagnóstico para detectar con precisión la fasciolosis bovina. Los prometedores valores de especificidad y sensibilidad de FhES en cotejo con inspección hepática o el examen coprológico aumentan su importancia para diagnosticar fasciolosis bovina.

Vera (2023) en su investigación desarrolló en camal municipal del cantón Ventanas, ubicado en la provincia de Los Ríos, durante febrero, marzo y abril de 2023. El propósito del estudio fue determinar la frecuencia de *Fasciola hepática* en bovinos sacrificados en dicho camal. Asimismo, se analizaron diversas

características de los animales positivos a la enfermedad, considerando variables como edad, sexo y procedencia. La investigación incluyó una muestra de 300 bovinos, aplicando un análisis estadístico no paramétrico mediante la prueba de Chi Cuadrado, con una evaluación post-mortem de los especímenes. Se llegaron a detectar cuatro positivos casos, lo que representa una incidencia de 1,33%. Al diferenciar por sexo, se obtuvo una incidencia del 1,29% en machos y del 1,38% en hembras. En cuanto a la edad, el grupo con mayor afectación fue el de 28 a 36 meses, donde se registraron cuatro casos positivos dentro de los 98 individuos analizados, con una tasa de infección del 4,08%. Respecto a la procedencia, el cantón Caluma presentó la mayor prevalencia, alcanzando un 5,88%. Con base en estos hallazgos, se concluyó que incidencia de *Fasciola hepatica* en bovinos sacrificados en el camal de Ventanas fue del 1,33% durante los meses evaluados. Se recomienda implementar estrategias de desparasitación en el ganado para reducir la propagación de la enfermedad y mejorar la calidad de la producción pecuaria, mediante prácticas sanitarias adecuadas y el manejo óptimo de la alimentación del ganado.

Andrade (2022) realizó un análisis que efectuó con la finalidad de analizar la prevalencia de *Fasciola hepática* mediante técnicas coprológicas cuantitativas en la parroquia Ingapirca, perteneciente al cantón Cañar. Para ello, se recolectaron especímenes fecales de bovinos, conseguidas directamente del recto de los animales, las cuales fueron debidamente etiquetadas y transportadas bajo condiciones adecuadas al laboratorio para su procesamiento. Se utilizó la técnica de sedimentación para la identificación del parásito. En esta investigación se consideraron tres variables principales: sexo, edad y raza. Los resultados evidenciaron que el 20,1% de los 288 bovinos muestreados fueron positivos a *Fasciola hepática*. En cuanto a la distribución por sexo, se indicó que 70,69% de los positivos casos correspondieron a hembras y el 29,31% a machos. Al analizar la relación con edad, se encontró que 62,07% de bovinos infectados eran mayores de 1 año, mientras que 37,93% eran inferiores de un año. En cuanto a la raza, se identificó una prevalencia del 24,14% en Brown Swiss y del 75,86% en Holstein Criolla. Asimismo, la prevalencia en animales que habían recibido desparasitación fue del 24,14%, mientras que en aquellos sin desparasitación fue del 75,86%. Se

concluyó que los bovinos jóvenes, de raza Holstein Criolla y sin desparasitación, presentan un mayor riesgo de infección por *Fasciola hepática*.

Sánchez (2023) en su análisis detalló como fin indicar la incidencia de *Fasciola hepática* en bovinos sacrificados en el camal. Se tomó una muestra de 120 bovinos, analizando variables como raza, sexo, edad y procedencia. Para procesamiento de información, se hizo empleo de un método porcentual con ayuda de Microsoft Excel para la organización y representación de hallazgos. La identificación de la enfermedad se realizó empleando inspección post-mortem. De los 120 casos evaluados, no se encontraron animales infectados, obteniendo una incidencia del 0%. En la variable de sexo, se registraron 61 hembras (50,83%) y 59 machos (49,17%), sin presencia de casos positivos en ninguno de los grupos. En cuanto a la edad, se agruparon los animales en tres rangos: de 1 a 3 años (32 bovinos, 26,7%), de 3 a 5 años (52 bovinos, 43,33%) y de 5 a 8 años (36 bovinos, 30%), sin evidenciarse casos positivos en ninguna categoría. En lo referente a la raza, se analizaron 10 bovinos Brahman (8,33%), 11 Holstein Friesian (9,17%), 8 Angus (6,67%) además 91 mestizos (75,83%), sin que ninguno resultara positivo. En cuanto a la procedencia, los bovinos sacrificados provenían mayormente del cantón San Miguel (48 animales, 40%), seguido por Caluma (34 animales, 28,33%), Montalvo (27 animales, 22,50%) y Chimbo (11 animales, 9,17%), sin encontrarse casos de *Fasciola hepática*. Debido a la ausencia de casos positivos, no fue posible establecer una relación entre la enfermedad y las variables analizadas.

Llanos Ugsha (2024) realizó un estudio en el camal municipal Metropolitano de Quito, en el cual se registró información detallada sobre la procedencia, sexo, raza y edad de los animales sacrificados, además de llevarse a cabo una evaluación de los hígados como parte de un estudio basado en el análisis de 2400 ejemplares. Se aplicó un diseño transversal descriptivo, utilizando pruebas estadísticas como comparación de proporciones y chi-cuadrado, con el software InfoStat para el procesamiento de información. Durante el estudio, se analizaron 2400 muestras bovinas en el camal de Quito, detectándose 81 positivos casos en julio y 70 en agosto, sumando un total de 151 situaciones de distomatosis. La totalidad de animales sacrificados se incluyeron en el análisis, y identificación del parásito se llevó a cabo mediante observación macroscópica, enfocándose en

órganos afectados, primordialmente el hígado y los conductos biliares, en el cual el parásito completa su ciclo de vida y desarrolla la enfermedad.

López et al. (2021) en su estudio se evaluaron el rendimiento de tres formas recombinantes funcionalmente activas de las principales catepsinas L secretadas por *F. hepatica*, rFhCL1, rFhCL2, rFhCL3, y una catepsina B, rFhCB3, como antígenos en un ELISA indirecto para diagnosticar serológicamente la infección por trematodos hepáticos en ovejas infectadas experimentalmente y de forma natural. rFhCL1 y rFhCL3 fueron los más eficaces de los cuatro antígenos para detectar la fasciolosis en ovejas tan pronto como tres semanas después de la infección experimental, al menos cinco semanas antes que las pruebas de coproantígeno y de huevo en heces. Además, las pruebas ELISA de rFhCL1 y rFhCL3 tuvieron un límite de detección muy bajo para la duela del hígado en corderos expuestos a la infección natural en pasturas y, por lo tanto, podrían desempeñar un papel importante en la vigilancia de las granjas y en un enfoque de “prueba y tratamiento” para el manejo de la enfermedad. Finalmente, los anticuerpos contra las tres proteasas de catepsina L permanecen altos durante toda la infección crónica, pero disminuyen rápidamente después del tratamiento farmacológico con el fluquicida, triclabendazol, lo que implica que la prueba puede adaptarse para rastrear la efectividad del tratamiento farmacológico.

Viana et al. (2024) en su investigación se planteó como objetivo evaluar una nueva formulación vacunal para ganado lechero, conteniendo antígenos solubles de *Fasciola hepática* asociados a Montanide 763 AVG y adyuvantes de saponina (FhSAMS). La vacuna se probó con dos protocolos, una dosis única y una dosis de refuerzo 6 meses después de la primera dosis. La vacuna FhSAMS demostró ser segura, sin efectos secundarios. Además, fue capaz de generar una respuesta inmune humoral más robusta cuando se utilizó una dosis de refuerzo a los seis meses, además de estimular una mayor producción de IFN- γ , indicando un estímulo inmune de perfil Th1.

Kelley et al. (2021) en su estudio se probó la prueba ELISA de coproantígenos (cELISA) y el kit de recuento de huevos fecales FlukeFinder® en vacas infectadas naturalmente en una región endémica de duelas de Victoria. El objetivo del estudio fue investigar la variación en la liberación de coproantígenos

y huevos en las heces en un lapso de 5 días, en los ordeños de la mañana (AM) y de la tarde (PM), y evaluar el impacto del momento de la recolección de muestras fecales en la sensibilidad de la prueba diagnóstica. Se inscribieron diez vacas en el estudio en función de los recuentos positivos de huevos fecales de *F. hepatica* (LFEC) y se recolectaron muestras fecales de las diez vacas dos veces al día, en el ordeño de las 7 a las 9 a. m. y de las 4 a las 6 p. m., durante cinco días consecutivos. Al concluir el período de muestreo, las vacas fueron sacrificadas y se determinó la carga de *F. hepatica* en la necropsia. Se observó una correlación negativa moderada entre la edad de la vaca y la densidad óptica (OD) de cELISA utilizando los datos de todas las muestras ($R = -0,63$; IC del 95 %: $-0,68$ a $-0,57$). Durante el período de muestreo de 5 días, observamos una variación dentro de los animales entre los días tanto para la OD de cELISA (2,6-8,9 veces) como para la LFEC (5-16 veces), con una mayor variación en los valores observados en las muestras de PM para ambas pruebas. La correlación con la carga total de duelas fue mayor en el muestreo de AM utilizando tanto el cELISA como el LFEC ($R = 0,64$ y $0,78$, respectivamente). La sensibilidad fue del 100 % para el cELISA utilizando varios puntos de corte de la literatura (0,014 OD, 0,030 OD y 1,3 % o 1,6 % del control positivo). La sensibilidad del kit FlukeFinder® (basado en 588 muestras fecales y sin tener en cuenta la falta de independencia de los datos) fue del 88 % (IC del 95 %: 85 %–90 %). Se registraron setenta y un falsos negativos en las 588 pruebas LFEC, todas ellas observadas en vacas con cargas de duelas <14 duelas; 42 de los 71 LFEC falsos negativos se produjeron en una vaca individual que tenía la carga más baja de nueve duelas. En las vacas lecheras, el límite de pérdidas de producción debido a la fasciolosis se estima en >10 duelas. Tanto la cELISA como la LFEC identificaron todas las vacas que tenían cargas iguales o superiores a este límite. Cinco de las diez vacas también mostraron recuentos de huevos de parafistoma relativamente altos.

Pérez et al. (2021) en su análisis se estudió la respuesta celular de células de ganglios linfáticos hepáticos y células T CD4+ en términos de respuesta proliferativa, eficiencia de presentación de antígenos y producción de citocinas, a moléculas derivadas de *F. hepática*, en fases tempranas y tardías de infección. Treinta y una ovejas fueron divididas en cinco grupos y fueron sacrificadas a los 16 dpi y 23 wpi. Para analizar la respuesta específica de antígeno, se utilizaron las

siguientes moléculas recombinantes de *F. hepática*: rFhCL1, rFhCL2, rFhCL3, rFhCB1, rFhCB2, rFhCB3, rFhStf-1, rFhStf-2, rFhStf-3 y rFhKT1. Se realizó un ensayo de proliferación celular utilizando células de ganglio linfático hepático y un ensayo de presentación de antígenos utilizando células T CD4+. A los 16 dpi, todas las moléculas excepto rFhStf-2 y rFhKT1 provocaron una respuesta proliferativa celular significativa en las células de ganglio linfático hepático de animales infectados. Tanto en la etapa temprana como tardía de la infección, la presentación de antígenos de rFhCB3 y rFhCL2 resultó en un mayor índice de estimulación de células T CD4+ mediada por IL-2, aunque no estadísticamente significativo en comparación con animales no infectados. La producción significativa de citosinas (IL-4, IL-10 e IFN- γ) estuvo condicionada por la estimulación celular específica del antígeno. No se detectó agotamiento de células T CD4+ en ovejas infectadas en la etapa crónica de la infección. Este estudio abordó la respuesta específica del antígeno a las moléculas derivadas de *F. hepática* que están involucradas en aspectos clave de la supervivencia del parásito dentro del huésped.

1.2.2 Nacionales

Aguilar (2024) en su investigación buscó determinar la prevalencia de *Fasciola hepática* y parásitos gastrointestinales en bovinos del distrito La Florida, provincia de Bongará, región Amazonas. Se trabajó con muestra de 579 bovinos, seleccionados mediante proporcional afijación considerando diferentes categorías. Para el análisis, se aplicó la técnica de flotación para identificar presencia de parásitos gastrointestinales y método de sedimentación para detectar *Fasciola hepática*. Los datos obtenidos fueron procesados con distribución de frecuencias, pruebas de T de Student y Chi cuadrado utilizando complemento Xrealstats de Excel 2019 y programa InfoStat versión 2018p. Se encontró que 233 bovinos estaban infectados con *Fasciola hepática*, con prevalencia de 40,38%, predominando en hembras (44,35%). En cuanto a las razas, la Holstein mostró la prevalencia mayor (60,87%), mientras que la Simmental presentó la menor (28,39%). En términos de categorías, las vaquillonas fueron las más afectadas (90,48%). Correspondiente a parásitos gastrointestinales, se identificaron prevalencias de 14,85% (*Eimeria* sp + HTS), 22,80% (*Eimeria* sp) asimismo 16% (HTS), con *Eimeria* sp predominando en ambos sexos (21,74% en hembras y

24,14% en machos). La raza Holstein mostró la superior prevalencia de parásitos gastrointestinales, y las categorías más afectadas fueron terneros y vaquillonas. El análisis de T de Student evidenció significativas diferencias entre prevalencias, mientras que la vinculación entre *Fasciola hepática* y parásitos gastrointestinales resultó significativa a nivel de categorías, pero no en relación con la raza.

Silva et al. (2023) en su investigación tuvo como finalidad identificar los factores relacionados con prevalencia de *Fasciola hepática* en bovinos faenados en de Huaura. Se analizaron registros de decomisos hepáticos, origen de los animales, sexo, edad y periodo del año, utilizando información de 2,198 bovinos sacrificados entre mayo hasta agosto de 2018. Se determinó que 59,51% de hígados analizados estaban infestados con *Fasciola hepática*. Se observó una mayor tasa de decomiso ($p < 0,05$) en bovinos procedentes de Churín (67%), Oyón (63%) y Ambar (57%), localidades situadas en altitudes entre 2,082 y 3,620 m s.n.m. con precipitaciones de 30 a 206 mm. Además, la prevalencia fue superior en mayo (69%, $p < 0,05$) en cotejo con junio (61%), julio (58%) y agosto (42%). La edad de bovinos también se asoció significativamente con el decomiso hepático ($p < 0,05$), siendo más frecuente en animales de 5 años o más (62%) y en inferiores de 2 años (64%), frente a los de 2 años (51%), 3 años (53%) y 4 años (52%). Se evidenció una incidencia superior de decomiso en hembras (61%, $p < 0,05$) en comparación con los machos (51%). La elevada prevalencia de *Fasciola hepática* en bovinos faenados en Huaura sugiere que factores como procedencia, sexo, edad y estación del año influyen en el decomiso de hígados.

Benzunze (2023) en su estudio tuvo el propósito de evaluar la influencia de elementos climáticos en la dinámica de infección por *Fasciola hepática*, se realizó un estudio en vacas lecheras del fundo cuartel “Basilio Cortegana” BIM ZEPITA N° 7, ubicado en Baños del Inca, Cajamarca. Se eligieron 14 vacas positivas y se recolectaron muestras fecales cada mes entre noviembre de 2021 y octubre de 2022. Se obtuvo información sobre precipitación, humedad, temperatura mínima y máxima del Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú. Se controlaron variables como hábitat, alimentación y restricciones de tratamientos antiparasitarios. El análisis coproparasitológico se llevó a cabo en Universidad Nacional de Cajamarca mediante la Técnica de Sedimentación Natural, con 3 repeticiones por muestra. Los hallazgos señalaron

que en mayo y noviembre se registró aumento en la cantidad de huevos por gramo de heces (HPG). Según coeficiente de Pearson, los valores de HPG mostraron una moderada relación con temperatura mínima y precipitación, aunque sin significancia estadística ($p > 0,05$). Se llega a concluir que la excreción de huevos de *Fasciola hepática* no sigue un patrón estacional, probablemente debido a cambios climáticos recientes. Se recomienda ampliar la muestra y evaluar la dinámica de los hospedadores intermediarios para mejorar las estrategias de control.

Tirado (2021) en su estudio se centró en prevalencia de *Fasciola hepática* en bovinos de Abancay, Curahuasi y Tamburco, provincia de Abancay – Apurímac, en la temporada de lluvias de 2018, así como en la relación entre la prevalencia del parásito y el distrito de origen. Se recolectaron 295 muestras fecales: 34 de Tamburco, 193 de Curahuasi y 68 de Abancay. Las muestras se extrajeron de forma directa del recto o al momento de la defecación para evitar contaminación y almacenadas a 4-6°C hasta su análisis en los laboratorios de la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac y la Universidad Científica del Sur. Se utilizó la Técnica de Cuatro Tamices de Girao y Ueno para el análisis coproparasitológico. La prevalencia total fue del 50,85% (150/295) con un intervalo de confianza del 95% (45,14% 56,55%), distribuyéndose en 42,65% (Abancay), 53,89% (Curahuasi) además 50% (Tamburco). No se halló significativa vinculación entre prevalencia y distrito de origen ($p > 0,05$), pero la regresión logística bivariada indicó una asociación significativa con la raza ($p = 0,008$), mostrando que los bovinos cruzados o criollos tienen 2,47 veces más riesgo de infección que los Holstein ($p = 0,002$).

Caicay (2023) en su investigación llevó a cabo un análisis del ganado sacrificado en el camal municipal de Lambayeque, utilizando los registros epidemiológicos del centro de beneficio para identificar la prevalencia de la distomatosis hepática a partir de la inspección directa de los hígados. En total, se sacrificaron 18,559 bovinos, de los cuales 15,554 eran hembras (83,8%) y 3,005 correspondían a machos (16,2%). Se decomisaron 2,859 hígados, lo que representa una prevalencia del 15,4%. Al desglosar la procedencia de los animales infestados, se observó que el 58,38% provenía de la región de la Sierra, 25,32% de la Selva y 16,3% de la Costa. Desde el punto de vista económico, estos

decomisos generaron una pérdida de 22,300.20 soles, equivalente a 3,08% en pérdidas a nivel económico atribuidas a la distomatosis hepática.

1.2.3 Locales

Miranda (2017) el fin de su análisis fue establecer la prevalencia de *Fasciola hepática* en escolares del distrito de Asillo, ubicado en la región Puno. Para ello, se llegaron a recoger 238 muestras de heces provenientes de cinco instituciones educativas, las cuales fueron trasladadas al Laboratorio de Inmunología e Investigación de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, durante los meses de septiembre y octubre del año 2017. Las muestras se examinaron por medio de la técnica de sedimentación rápida modificada por Lumbreras. La prevalencia fue calculada utilizando la fórmula: $(p = \text{número de casos positivos} / \text{total de muestras} \times 100)$. El estudio reportó una prevalencia general de F. hepática del 5,46% (13 casos positivos de 238 muestras), con un 2,22% (3/135) en estudiantes de primaria y un 12,82% (10/78) en estudiantes de secundaria, mostrando una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$). No se detectaron casos positivos en los niños del nivel inicial. Asimismo, los casos fueron levemente más frecuentes en varones (5,48%, 8/146) que en mujeres (5,43%, 5/92), aunque esta diferencia no resultó estadísticamente significativa ($p > 0,05$). En conclusión, se determinó que la prevalencia de fascioliasis en la población estudiada fue del 5,46%, lo cual se clasifica como un nivel mesoendémico.

CAPÍTULO II

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2.1 Identificación del problema

En el análisis de la problemática internacional, se tiene que la fasciolosis hepática es una de las principales enfermedades parasitarias que afectan tanto a animales como a humanos en diversas regiones del mundo. Se estima que más de 17 millones de personas están infectadas a nivel global, con una mayor prevalencia en regiones endémicas de América Latina, Asia y África. En la ganadería, esta enfermedad genera pérdidas económicas significativas dado a la merma en producción de leche y carne, así como a la condena de hígados infestados en mataderos. Uno de los principales desafíos internacionales es el desarrollo de metodologías de diagnóstico más eficientes, ya que los métodos coprológicos tradicionales presentan baja sensibilidad en iniciales etapas de la infección. La serología basada en antígenos de *Fasciola hepática* ha mostrado potencial para mejorar la detección temprana, pero la eficiencia de estos antígenos varía según la especie hospedadora de la que provienen, lo que dificulta su aplicación universal (Lan et al., 2024).

En países como Egipto, Bolivia y Vietnam, donde la fasciolosis es altamente endémica, se han desarrollado diversas estrategias de control y diagnóstico, pero aún persisten problemas como la falta de acceso a pruebas diagnósticas de calidad y la variabilidad en la respuesta inmunológica entre distintas especies de ganado. Esto ha llevado a la necesidad de evaluar la eficiencia de antígenos provenientes de diversas fuentes, como bovinos, ovinos y camélidos sudamericanos, para determinar cuál ofrece mejor sensibilidad y especificidad en diferentes contextos epidemiológicos. Además, las condiciones climáticas y ecológicas influyen en la distribución del parásito y la eficacia de las pruebas diagnósticas, lo que resalta la importancia de estudios localizados para optimizar estrategias de detección y control del padecimiento (Mahmoud et al., 2022).

En Perú, la fasciolosis hepática representa un grave problema sanitario y económico, afectando tanto a la salud pública como a la producción ganadera. Estudios epidemiológicos han demostrado que el país es una de las regiones con mayor carga parasitaria en América Latina, con prevalencias superiores al 60% en zonas altoandinas donde las condiciones climáticas favorecen la proliferación del caracol *Lymnaea*, el

principal hospedador intermediario del parásito. A pesar de los esfuerzos del Estado y de instituciones científicas por mejorar el control de la enfermedad, el diagnóstico sigue siendo un reto importante debido a la limitada disponibilidad de pruebas accesibles y confiables en las áreas rurales. Las pruebas coprológicas continúan siendo el método más utilizado, a pesar de sus limitaciones en sensibilidad y su incapacidad de detectar infecciones en etapas tempranas (Torrel et al., 2023).

El desarrollo de pruebas serológicas basadas en antígenos de *Fasciola hepática* provenientes de diversas especies animales ha surgido como una posible solución para mejorar la detección de la enfermedad. Sin embargo, en el contexto peruano, no se han realizado suficientes estudios comparativos sobre la eficiencia de estos antígenos en distintas especies hospedadoras. Existen diferencias inmunológicas entre bovinos, ovinos y alpacas que podrían influir en la capacidad de detección de las pruebas diagnósticas. Por ello, es crucial evaluar y estandarizar la eficiencia de estos antígenos en la población ganadera nacional para desarrollar un sistema diagnóstico más preciso y adaptado a las condiciones locales (Fernandez et al., 2024).

En la provincia de Melgar, ubicada en la región de Puno, la fasciolosis hepática es uno de los padecimientos más prevalentes en el ganado, afectando seriamente la economía de los productores locales. La actividad ganadera en esta zona se basa principalmente en la cría de bovinos, ovinos y alpacas, que son fundamentales para la subsistencia de muchas familias. Sin embargo, la falta de un diagnóstico oportuno y preciso ha dificultado la implementación de estrategias de control efectivas. Los productores enfrentan pérdidas económicas por la merma del rendimiento productivo de animales y la condena de órganos en los mataderos, lo que reduce sus ingresos y limita el desarrollo del sector pecuario.

A nivel local, la implementación de métodos serológicos para diagnóstico de la fasciolosis hepática aún es limitada por la falta de estudios que validen la eficiencia de los antígenos extraídos de diferentes especies animales. La evaluación comparativa de antígenos provenientes de bovinos, ovinos y alpacas es crucial para determinar cuál ofrece una mayor sensibilidad y especificidad en las condiciones epidemiológicas de Melgar. Además, la alta prevalencia de la enfermedad en esta región hace indispensable el desarrollo de pruebas diagnósticas más accesibles y precisas, que permitan una detección temprana y mejoren las estrategias de prevención y control.

2.2 Enunciados del problema

En este sentido, expresa la relación entre el problema de investigación, la pregunta de investigación y la intención para investigar.

2.2.1 Problema general

- ¿Cuál de los antígenos provenientes de ganado vacuno, ovino y alpacas, es el más eficiente para el diagnóstico de *Fasciola hepática*?

2.2.2 Problemas específicos

- ¿Qué cantidad de antígenos de *Fasciola hepática* son obtenidos de ganado vacuno, ovino y alpacas?
- ¿Cuál es el diagnóstico ELISA de los antígenos obtenidos de ganado vacuno, ovino y alpacas?
- ¿Cuál es el nivel de eficiencia según sensibilidad, especificidad y valor predictivo, a partir de resultados ELISA para Ag de *Fasciola hepática* obtenidos, según ganado vacuno, ovino y alpacas?

2.3 Justificación

La fasciolosis humana simboliza un desafío para la salud pública dado al aumento de casos registrados en los últimos años a nivel mundial. Tradicionalmente, su diagnóstico se ha basado en la detección de huevos del parásito en las heces o en el líquido duodenal del paciente infectado. No obstante, este método resulta poco sensible durante la fase prepatente de la enfermedad, ya que en esta etapa el parásito aún no ha alcanzado su madurez. Incluso en fases posteriores, cuando el parásito comienza a producir huevos, el diagnóstico puede complicarse por la eliminación intermitente de estos, lo que obliga a realizar múltiples exámenes parasitológicos.

Además, se ha identificado que los productos de excreción-secreción de *Fasciola hepática* contienen glicoproteínas, según análisis de proteínas y carbohidratos. Cuando estas sustancias se emplean como antígenos en pruebas diagnósticas, pueden generar resultados falsos positivos al reaccionar de forma inespecífica con sueros de personas no infectadas. Esto puede deberse a reacciones cruzadas con otros parásitos o a infecciones pasadas que ya han sido tratadas o se resolvieron espontáneamente. A esta problemática

se suma la limitada disponibilidad de técnicas diagnósticas en muchos centros de salud, lo que retrasa la detección oportuna y puede aumentar el riesgo de complicaciones. Asimismo, durante la fase aguda, la enfermedad no siempre se manifiesta con la triada típica de hepatomegalia, eosinofilia y fiebre, lo que dificulta aún más su identificación clínica.

La fasciolosis puede poseer morbilidad alta y por lo cual un precoz diagnóstico y en fase crónica de la enfermedad es importante, especialmente en zonas endémicas, por lo antes mencionado se ve el requerimiento de poseer métodos o técnicas de diagnóstico para *Fasciola hepática* de sensibilidad y especificidad mayor, para lo cual se requiere el uso de antígenos que sean adecuados y eficientes para la elaboración de kits diagnósticos, por lo cual la presente investigación es importante puesto que diferenciara los antígenos de *Fasciola hepática* de los ganados estudiados, y como resultado informara cual produce el mejor antígeno para desarrollo de kits diagnósticos para poder ser utilizados en diagnóstico, permitiendo identificarse la enfermedad en su fase más temprana y con ello evitar daños causados al paciente desde el enfoque clínico, tanto para práctica clínica como para indicar áreas endémicas, y sobre todo para la elaboración de material de diagnóstico cada vez más específico, así también esta investigación servirá como antecedente para estudios posteriores en cuestión de diagnóstico oportuno y control de esta importante parasitosis.

2.4 Objetivos

2.4.1 Objetivo general

- Determinar la eficiencia de antígenos de *Fasciola hepática* provenientes de ganado vacuno, ovino y alpacas, con fines diagnósticos, Puno 2022.

2.4.2 Objetivos específicos

- Cuantificar los antígenos de *Fasciola hepática* obtenidos de ganado vacuno, ovino y alpacas.
- Evaluar el diagnóstico ELISA de los antígenos obtenidos de ganado vacuno, ovino y alpacas.

- Determinar el nivel de eficiencia según sensibilidad, especificidad y valor predictivo, a partir de resultados ELISA para Ag de *Fasciola hepática* obtenidos, según ganado vacuno, ovino y alpacas.

2.5 Hipótesis

2.5.1 Hipótesis general

- Los antígenos de *Fasciola hepática* provenientes de alpacas tienen alta eficiencia para el diagnóstico

2.5.2 Hipótesis específicas

- Los antígenos de *Fasciola hepática* obtenidos de alpacas tienen una mayor cuantificación
- El diagnóstico ELISA de los antígenos obtenidos de las alpacas es el más favorable.
- El nivel de eficiencia según sensibilidad, especificidad y valor predictivo, a partir de resultados ELISA para Ag de *Fasciola hepática* obtenidos de alpaca tienen los mejores indicadores.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de estudio

La obtención de muestras se efectuó en el camal principal del distrito de Ayaviri (ganado proveniente de Ayaviri, Orurillo, Umachiri, Santa Rosa) localizado al sureste de la provincia de Melgar, en el área norte del departamento de Puno y en la zona sur del territorio peruano. Se ubica a una altura de 3.918 msnm, al norte de la cordillera de Carabaya y oeste de la cordillera de Vilcanota, en Puno, departamento situado al extremo sur este del Perú, entre 13°00'00" y 17°17'30" de latitud sur y 71°06'57" y 68°48'46" de longitud oeste del meridiano de Greenwich.

3.2 Población

Se considera una población infinita ya que según la teoría es aquella de cuyos elementos es imposible tener un registro identificable. Para esta investigación el tamaño de la población accesible depende del tiempo y de los recursos del investigador, considerándose el ganado vacuno, ovino y alpacas en el camal principal del distrito de Ayaviri.

3.3 Muestra

Para obtención de antígenos y prueba diagnóstica según estándar: 100 unidades de *Fasciola hepática* adultas por cada tipo de ganado.

Para estudio de sensibilidad, especificidad y valor predictivo y obtención de suero:

- 20 individuos ganado vacuno
- 20 individuos ganado ovino
- 20 individuos alpacas (según antecedentes).

3.4 Método de investigación

Debido a sus características este estudio fue de carácter descriptivo, explicativo, de corte transversal por lo que pretende reportar la eficiencia de los antígenos de *Fasciola hepática* provenientes de ganado vacuno, ovino y alpacas para utilidad diagnóstica.

3.5 Descripción detallada de métodos por objetivos específicos

3.5.1 Descripción de las variables analizadas en los objetivos específicos

Antígeno de *Fasciola hepática*: Se consideran productos de secreción-excreción propios del parásito.

Diagnóstico: Posee como fin reflejar el estado de un cuerpo, sistema o estado para que posteriormente se efectúe un tratamiento o acción. Se realizará un muestreo no probabilístico, se reportará los resultados obtenidos en los instrumentos para cada etapa del desarrollo de la investigación según objetivos.

3.5.2 Detallada descripción del empleo de materiales, instrumentos, insumos, equipos, entre otros

- Materiales biológicos: antígeno de *Fasciola hepática* y Suero de ganado vacuno, ovino y alpaca (anticuerpo).
- Procedimiento:

A. Obtención de la muestra Examen Post Mortem (Gold Estándar)

Antes del sacrificio de los vacunos de estudio estas fueron marcadas con un código, para así poder identificarlas cuando se realice la extracción de sus vísceras, de esta manera evitar equivocaciones.

El examen post mortem de los vacunos para la obtención de parásitos adultos de *Fasciola hepática* para ANTIGENOS, se efectuó en minuciosa forma, por medio de inspección, palpación, y cortes en el hígado, visualizándose minuciosamente los canalículos biliares para señalar presencia del parásito, una vez colectadas las muestras de *Fasciola hepática* de conductos biliares de los individuos pertenecientes a este estudio fueron depositadas en 10 ml de Solución Salina Amortiguadora de Fosfatos (SSAF) estéril pH 7.2 los mismos que fueron registrados en una ficha observacional (García et al., 2011) (Cornejo et al., 2010).

B. Obtención de muestras sanguíneas - Suero

La consecución de muestras de sangre se efectuó por punción venosa de la correspondiente forma:

Se inmovilizó al individuo (ganado vacuno, ovino, alpaca) obteniendo una muestra de sangre venosa a la cual se le efectuó la hemostasia detallando: con apoyo de una soga en el tercio inferior del cuello y se detectó el lugar de venopunción para posteriormente efectuar el aseo de la piel con alcohol yodado al 3%. y se realizó punción percutánea para conseguir sangre de la vena yugular en una cuantía cerca de 10 ml. en un tubo de ensayo de 20ml. apropiadamente rotulado y sin anticoagulante. La muestra de sangre recogida en viales se dejó coagular a temperatura del entorno (resguardada de la luz solar directa) cerrando el tubo y ubicándolo en inclinada posición.

Muestras tanto de Fasciolas adultas y muestras sanguíneas fueron transportadas en una caja de Preservación apropiadamente rotuladas para su labor en el laboratorio.

C. Objetivo 1

C.1 Técnica para obtención del antígeno

Una vez colectadas las muestras de *Fasciola hepática* de conductos biliares de los individuos pertenecientes a este estudio fueron depositadas en Solución Salina Amortiguadora de Fosfatos (SSAF) estéril pH 7.2 para ser conservadas, al llegar al laboratorio, se lavó las muestras en placas Petri con Solución Salina y trasvasar a un recipiente de 200 - 300ml de capacidad añadiendo nuevamente SS, dejar reposar por 24 hr y retirar el sobrenadante, almacenar (Mahmoud et al., 2022).

C.2 Cuantificación del antígeno

Se llevó a cabo por espectrofotometría “Método de Lowry” usando 1 grupo control (positivo a la enfermedad), 1 blanco (negativo a la enfermedad), y tres antígenos correspondientes a las muestras que provienen de ganado vacuno, ovino y alpacas.

Tabla 1

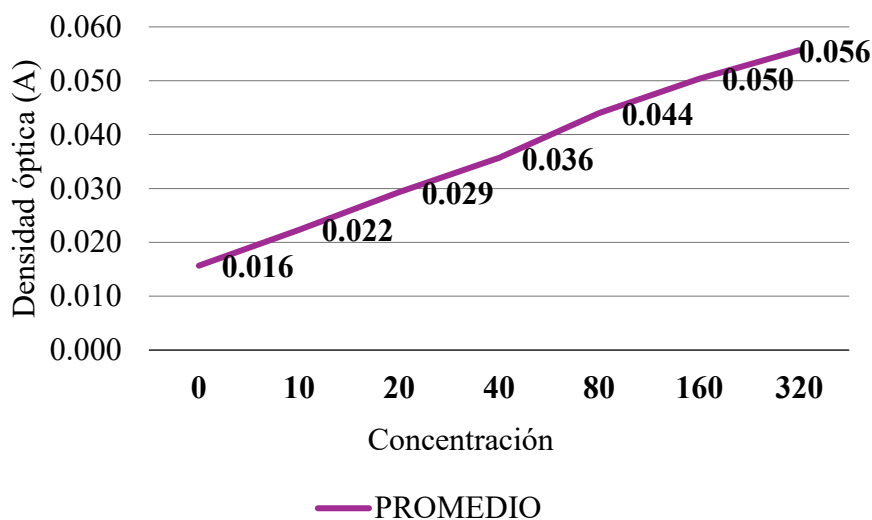
Soluciones para llevar a cabo el “ método de Lowry” para cuantificación de antígenos de Fasciola hepática provenientes de ganado vacuno, ovino y alpacas

Procedimiento	Blanco	Tubo 1	Tubo 2	<i>Fasciola hepática</i>	<i>Fasciola hepática</i>	<i>Fasciola hepática</i>
				Alpacas ug/ul	Ovino ug/ul	Vacuno ug/ul
BSA 1mg/ml	0	20	40			
Muestras				20	20	20
H2O Bidestilada (ml)	1000	980	980	980	980	980
Buffer alcalino	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Reactivo de cobre	400	400	400	400	400	400
Reposar x 10 minutos						
Folin 1:4 (ml)	800	800	800	800	800	800
Dejar reposar 10 min						
Vortexear y leer -700 nm						

Nota. Concentración de soluciones para aplicación del método

Figura 1

Curva de concentración vs. Densidad óptica



Nota. Análisis de datos de densidad óptica en base a la concentración de las muestras.

El gráfico presentado se estableció para mostrar la vinculación entre concentración de proteína (eje X, en µg/µl) y densidad óptica (DO)

medida a 700 nm (eje Y) en el ensayo de cuantificación de antígenos de *Fasciola hepática* mediante el método de Lowry. Se observa una tendencia creciente, lo que indica que a medida que la concentración de proteína aumenta, también lo hace la absorbancia registrada en el espectrofotómetro.

Cada punto en la gráfica representa una muestra con una concentración específica de proteína, y el valor asociado de densidad óptica refleja la cantidad de luz absorbida por la solución. La progresión de los valores sigue un comportamiento casi lineal, lo que sugiere que la respuesta del ensayo es proporcional en el rango analizado. Estos valores indican que el método de Lowry es sensible en este rango de concentraciones y permite detectar variaciones en la cantidad de proteínas con buena precisión.

Este gráfico sirve como curva de calibración, lo que significa que cualquier muestra con densidad óptica desconocida puede ser comparada con esta curva para determinar su concentración. En el caso del presente estudio, se utilizó esta relación para calcular la concentración de antígenos de *Fasciola hepática* en diferentes hospedadores (alpacas, ovinos y vacunos).

Dado que la curva presenta un patrón consistente y sin desviaciones abruptas, se puede concluir que el método utilizado es confiable y reproducible dentro del rango analizado. Esto es fundamental para cuantificación precisa de proteínas en muestras biológicas, ya que permite obtener resultados exactos sin la necesidad de recurrir a métodos más complejos o costosos.

C.3 Densidad óptica y cálculo de concentración

Los resultados se presentan en términos de densidad óptica (DO) en tres repeticiones para cada muestra, permitiendo determinar un promedio más confiable.

Control blanco: Presenta el valor más bajo (0,016), lo cual indica la ausencia de proteínas.

Curva de calibración (T1 - T6): Muestra un incremento progresivo de la DO conforme aumenta la concentración de la muestra estándar, confirmando la linealidad del método.

Muestras de *Fasciola hepática*: Se presentan valores de DO cercanos a los obtenidos en la curva estándar, permitiendo la estimación de sus concentraciones.

C.4 Obtención de suero: anticuerpo

Luego de recepcionar en el laboratorio las muestras sanguíneas, centrifugarlas a 3500 RPM. En el paso de 5 minutos, con apoyo de una pipeta Pasteur se efectuó el retiro del suero conseguido de cada tubo hacia un vial de plástico, cerca de 2 ml. de capacidad., se cerró herméticamente y rotulo los viales, Se guardó en refrigeración (4° C) por 24 hasta 48 horas y por mayor lapso en congelación (freezer. - 20° C) (INS, 2002).

D. Objetivo 2

D.1 Sensibilización de la placa - Antígeno

Luego de haber obtenido el Antígeno de *Fasciola hepática* a partir de ganado vacuno, ovino y alpacas con concentración de 1 µg de proteínas / µl, de la cuantificación del antígeno.

Se procedió a sensibilizar las placas de micro titulación adicionando 100 µL de antígeno en cada pocillo excepto en los pozos en blanco, para luego cubrir los pocillos con parafilm a fin de evitar que se evapore. Se incubó por 2 horas y refrigerar durante toda la noche a 4°C.

D.2 Diagnóstico ELISA

El presente análisis se centra en la aplicación del método ELISA preparados con los antígenos de *Fasciola hepática* en ganado vacuno, ovino y alpacas.

La evaluación se realizó con 20 muestras por tipo de ganado, analizando los resultados POSITIVO O NEGATIVO según reacción al

momento de ser sometidos a la muestra de SUEROS obtenidos de los ganados en estudio.

La aplicación del método ELISA inicio con la sensibilización de placas, se retiró las mismas refrigeraciones y se dejó a temperatura ambiente por 20 min. Luego se procede a lavar los pozos de las placas adicionando 200 μ L de buffer de lavado. Repetir el lavado 5 veces, adicionar 100 μ L de solución diluyente los pozos, luego se incubo en la estufa a 38° C durante 30 min. y a continuación, repitiendo el proceso de lavado.

Una vez lavadas las placas se añadió los sueros: control positivo diluido, suero control negativo y el suero positivo 1:500 en solución diluyente y cubrir las placas con parafilm e incubar a 37° C por 1 hora. Eliminar el contenido de pozos sobre un recipiente teniendo hipoclorito de sodio al 5 %, por medio de inversión de micro placa y lavarlos, luego situar 100 μ L en cada pozo de Anti IgG diluido 1:1000 en S.D. Se efectuó la incubación en estufa a 37°C por 1 hora y lavar los pozos nuevamente.

Luego se retiró de la incubadora y ubicar 100 μ L en cada pozo de una solución sustrato dejar en obscuridad a T° ambiente por 15 min. Y detener la reacción añadiendo 25 μ l de ácido sulfúrico 2.5M en cada pozo.

I. Lectura Con lector de ELISA:

Lectura visual: Reactivo da coloración amarilla intensa y no reactivo son aquellas muestras que no muestran coloración (INS, 2002).

E. Objetivo 3

Luego de los resultados de prueba diagnóstica de ELISA (positivos asimismo negativos), se confrontaron los resultados con el reporte de la evaluación post mortem “Gold estándar” para establecer los “VERDADEROS POSITIVOS y NEGATIVOS” y FALSOS POSITIVOS Y NEGATIVOS, datos que serán utilizados para determinar sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo e igualmente negativo de los kit

ELISA elaborados con los antígenos de *Fasciola hepática* proveniente de los tres tipos, ello para evaluar la diferencia entre sensibilidad, especificidad y valores predictivos y con ello reportar eficiencia de cada una de las pruebas diagnósticas ELISA elaborados con dichos antígenos, los resultados serán representados en tablas tricomicas para luego aplicarlas en las formulas respectivas:

Tabla 2

Tablas tricomicas para distribución de resultados sobre REACTIVIDAD según la prueba de diagnóstico ELISA

Test de referencia				
evaluación post mortem – “Gold estándar”				
		Enfermos	Sanos	TOTAL
Test estudiado	Resultado positivo	VP	FP	VP+FP
	Resultado negativo	FN	VN	FN+VN
		VP+FN	FP+VN	VP+FP+FN+VN

Fuente: Exactitud diagnostica (Bravo-Grau & Cruz, 2015)

Donde:

- VP = Verdaderos positivos
- VN= Verdaderos negativos
- FP = Falsos positivos
- FN =Falsos negativos

E.1 Sensibilidad (S)

Luego de los hallazgos de prueba diagnóstica de ELISA, se determinará la sensibilidad utilizando la fórmula:

$$Sensibilidad = \frac{VP}{VP+FN}$$

- VP = verdaderos positivos

- FN = falsos negativos

E.2 Especificidad (E)

$$\text{Especificidad} = \text{VN}/\text{VN}+\text{FP}$$

- VN= verdaderos negativos
- FP = falsos positivos

E.3 Valor predictivo (VP)

Se aplicarán fórmulas del valor predictivo positivo asimismo negativo para conseguir seguridad del kit de ELISA elaborado a partir de antígenos excreción – secreción de *Fasciola hepática* provenientes de ganado vacuno, ovino y alpacas si verdaderamente los animales que hayan conseguido un positivo resultado a la prueba en realidad posean el padecimiento.

Valor Predictivo Positivo (VPP)

$$VPP = \text{VP}/\text{VP}+\text{FP}$$

Valor Predictivo Negativo (VPN)

$$VPN = \text{VN}/\text{FN}+\text{VN}$$

3.5.3 Ejecución de prueba estadística inferencial

Según la estadística se obtuvieron cuadros de frecuencia de los cuales finalmente se realizó una comparativa entre los tres casos (ganado) según los resultados del ANOVA, los datos se procesaron en SPSS.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados

4.1.1 Cuantificación de los antígenos de *Fasciola hepática* obtenidos de ganado vacuno, ovino y alpacas

Tabla 3

Cuantificación de antígenos de Fasciola hepática, provenientes de ganado vacuno, ovino y alpacas

Tubos	Muestras	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Sumatoria	Promedio
Blanco	0	0,015	0,016	0,016	0,047	0,016
T1	10	0,023	0,022	0,022	0,067	0,022
T2	20	0,029	0,030	0,029	0,088	0,029
T3	40	0,036	0,035	0,036	0,107	0,036
T4	80	0,043	0,045	0,044	0,132	0,044
T5	160	0,051	0,050	0,050	0,151	0,050
T6	320	0,056	0,055	0,056	0,167	0,056
M1	<i>Fasciola hepática</i> ALPACAS	0,026	0,025	0,025	0,076	0,025
M2	<i>Fasciola hepática</i> OVINO	0,028	0,028	0,029	0,085	0,028
M3	<i>Fasciola hepática</i> VACUNO	0,026	0,025	0,026	0,077	0,026

Nota. Promedio de muestras.

Para el cálculo de la concentración de antígenos en las muestras se emplea la correspondiente ecuación para estimar la concentración de proteínas en las muestras desconocidas:

$$C_X = (C_{ST} / [DO]_{ST}) \times [DO]_X$$

Donde:

- CX = Concentración desconocida a determinar.
- CST = Concentración estándar utilizada (20 µg/µl).
- DOST = Densidad óptica correspondiente a la concentración estándar (0,029).
- DOX = Densidad óptica medida para la muestra de interés.

Los valores obtenidos son:

- *Fasciola hepática* en alpacas: 17,273 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
- *Fasciola hepática* en ovinos: 19,318 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
- *Fasciola hepática* en vacunos: 17,500 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$

En el análisis de cuantificación de antígenos mediante el método de Lowry, se detalla una vinculación directa entre concentración de proteínas y densidad óptica (DO), lo que permite determinar con precisión la cantidad de antígenos presentes en las muestras.

Los valores obtenidos para la densidad óptica de las muestras reales se hallan en el rango de curva de calibración, lo que valida la medición y confirma la confiabilidad del método. Esta correspondencia entre la DO y las concentraciones conocidas indica que el método de Lowry responde de manera predecible a la cantidad de proteínas presentes, lo que garantiza su efectividad para la detección de antígenos. La tendencia observada respalda la capacidad del ensayo para identificar variaciones en la concentración proteica con buena precisión.

Al evaluar los resultados en función del hospedador, se observa que la concentración de antígenos de *Fasciola hepática* es más alta en ovinos (19,318 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) en comparación con alpacas (17,273 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) y vacunos (17,500 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$).

El método de Lowry demostró ser una técnica efectiva para diferenciar la concentración de antígenos entre los distintos hospedadores. Además, la consistencia en las repeticiones de cada medición confirma la confiabilidad del ensayo, garantizando que los resultados obtenidos son precisos y reproducibles. Esta confiabilidad es clave para futuras aplicaciones en estudios epidemiológicos y en generación de estrategias de control de *Fasciola hepática* en diferentes especies.

4.1.2 Evaluación del diagnóstico ELISA de los antígenos obtenidos de ganado vacuno, ovino y alpacas

Tabla 4

Resultados del diagnóstico ELISA de los antígenos de Fasciola hepática obtenidos de ganado vacuno, ovino y alpacas

	alpacas	%	ovino	%	vacuno	%
positivo	11	55	9	45	11	55
negativo	9	45	11	55	9	45
total	20	100	20	100	20	100

La tabla 4 detalla hallazgos de la prueba ELISA aplicada a muestras de suero de ganado vacuno, ovino y alpacas, con el fin de evaluar detección de *Fasciola hepática* a partir de dicha prueba. Para ello, los resultados obtenidos mediante el ELISA fueron reportados según la clasificación POSITIVO o NEGATIVO, clasificación correcta de cada muestra (positiva o negativa).

Así mismo se muestran los resultados ELISA según tipo de ganado, de donde se deduce la prueba ELISA elaborada con antígenos de alpaca y vacunos tienen un 55% de casos positivos y 45% de casos negativos para ambos tipos de ganado, mientras que en el caso de los resultados ELISA para antígeno ovino presenta un 45% positivos y 55% negativos.

Estos hallazgos son homólogos a los señalados por (Alzamora-Gonzales et al., 2016), los cuales desarrollaron el kit de ELISA tipo sandwich para detectar antígenos de excreción-secreción de *Fasciola hepática*, el cual obtuvo un límite de para detectar de 100 ng/mL, haciendo uso de apropiada concentración de anticuerpo de captura (anticuerpos policlonales de ratón). El kit de ELISA tipo sándwich a base de antígenos excreción - secreción, detalló valor de sensibilidad de 100%, especificidad de 96,6% y valores predictivos positivos asimismo negativos de 50% y 96,6% correspondientemente; con vinculación al examen coproparasitológico directo; con vinculación al examen

coproparasitológico directo, muy similar a lo encontrado en esta investigación. De igual forma (Li et al., 2005), se estandarizó la prueba de ELISA indirecta para detectar anticuerpos para diagnóstico de *Fasciola hepática* en alpacas, el ELISA indirecto señaló ser un sensible e igualmente apropiado método para diagnosticar fasciolosis pasiva en alpacas y sirve como método de diagnóstico de elegir análisis seroepidemiológicos en rebaños de gran cuantía de animales que se sometieron a intenso pastoreo.

Por su parte Cornejo y colaboradores (2010) en su análisis sobre evaluación de prueba de ELISA con antígeno metabólico de *Fasciola hepática* para diagnosticar fasciolosis humana en Cajamarca, Perú. Indican que la prueba de ELISA generada partiendo de antígeno metabólico de *F. hepática* ha señalado mejor sensibilidad que otras pruebas inmunológicas efectuadas en Perú, como FAS2 y FAS1-ELISA, western blot y arco2 (Cornejo et al., 2010).

4.1.3 Nivel de eficiencia según sensibilidad, especificidad y valor predictivo, a partir de resultados ELISA para antígenos de *Fasciola hepática* obtenidos, según ganado vacuno, ovino y alpacas

Tabla 5

Tabla de resultados según reacción de diagnóstico ELISA para antígenos de Fasciola hepática obtenidos de alpacas

		Test de referencia evaluación post mortem – “Gold estandar”		
		Enfermos	Sanos	TOTAL
Test estudiado	Resultado positivo	9	2	11
	Resultado negativo	1	8	9
TOTAL		10	10	20

Tabla 6

Tabla de resultados según reacción de diagnóstico ELISA para antígenos de Fasciola hepática obtenidos de ganado ovinos

Test de referencia				
Evaluación Post mortem – “Gold estándar”				
		Enfermos	Sanos	TOTAL
Test Estudiado “ELISA”	Resultado positivo	9	0	9
	Resultado negativo	1	10	11
TOTAL		10	10	20

Tabla 7

Tabla de resultados según reacción de diagnóstico ELISA para antígenos de Fasciola hepática obtenidos de ganado vacuno

Test de referencia				
evaluación post mortem – “Gold estándar”				
		Enfermos	Sanos	TOTAL
Test estudiado “ELISA”	Resultado positivo	10	1	11
	Resultado negativo	0	9	9
TOTAL		10	10	20

Tabla 8

Sensibilidad, especificidad y valor predictivo, a partir de resultados de diagnóstico ELISA para antígenos de Fasciola hepática obtenidos de ganado alpacas, ovino y vacuno

Test estudiado						
ELISA						
	Evaluación post mortem "Gold Estándar"	VP	FP	VN	FN	TOTAL
Ganado vacuno		10	1	9	0	20
Ganado ovino		9	0	10	1	20
Alpacas		9	2	8	1	20

Tabla 9

Comparación de indicadores sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo

Tipo de Ganado	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP	VPN	Valor Global del Test (%)
Alpacas	90	80	81,82	88,89	85
Ovinos	90	100	100	90	94,74
Vacunos	80	90	88,89	81,82	85

La prueba de diagnóstico ELISA mostró una alta sensibilidad en alpacas, lo que indica que detecta de manera efectiva gran parte de positivos casos. No obstante, su especificidad fue inferior (80%), lo que sugiere que algunos casos negativos fueron incorrectamente clasificados como positivos.

En ovinos, el ELISA presentó el mejor desempeño, con una sensibilidad alta (90%) y una especificidad del 100%, lo que detalla que no se reportaron falsos positivos. Esto indica que la prueba es altamente efectiva para detección de *Fasciola hepática* en esta especie.

El ELISA mostró una sensibilidad del 80% en vacunos, lo que significa que no detectó correctamente el 20% de positivos casos. Su

especificidad de 90% es adecuada, pero aún presenta falsos positivos e igualmente negativos que podrían afectar la precisión del diagnóstico.

Al comparar los tres grupos de animales, se observa que el ELISA tiene su mejor desempeño en ovinos, con un V.G. del 94,74% y una especificidad perfecta del 100%. En alpacas y vacunos, el test también muestra resultados aceptables, pero con algunas limitaciones, particularmente en la detección de negativos en alpacas y en la identificación de positivos en vacunos.

En alpacas, la prueba mostró una sensibilidad del 90%, identificando correctamente 9 de las 10 muestras positivas, aunque con un falso negativo. La especificidad fue del 80%, lo que significa que, de las 10 muestras negativas, 2 fueron clasificadas erróneamente como positivas. En general, la eficiencia global del test fue del 85%, lo que indica que, si bien el ELISA es confiable, existe un margen de error en la clasificación de negativos, lo que podría generar falsos positivos y afectar la elección de decisiones sanitarias.

En la situación de los ovinos, la prueba obtuvo los mejores resultados. La sensibilidad alcanzó el 90%, con solo un falso negativo, mientras que la especificidad fue del 100%, lo que indica que el test no generó ningún falso positivo. Como resultado, el valor global del test fue del 94,74%, lo que posiciona al ELISA como una herramienta altamente confiable para la detección de *Fasciola hepática* en esta especie.

Por otro lado, en vacunos, la prueba presentó una sensibilidad del 80%, con 2 falsos negativos entre las 10 muestras positivas, lo que sugiere que el ELISA tiene una menor capacidad para detección correctamente de la enfermedad en esta especie. La especificidad fue de 90%, con solo un falso positivo. En términos generales, el valor global de prueba fue del 85%, semejante al conseguido en alpacas, lo que indica la prueba ELISA es útil, pero con limitaciones en la detección precisa de positivos.

Tabla 10

Análisis ANOVA para la contratación de hipótesis

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	320,525	2	160,263	7,682	0,007
Dentro de grupos	250,341	12	20,862		
Total	570,867	14			

A partir de estos resultados, se puede concluir que el ELISA tiene un alto desempeño en ovinos, donde su especificidad del 100% lo convierte en un método confiable para detectar tanto positivos como negativos. En cambio, en alpacas y vacunos, aunque la prueba presenta un desempeño aceptable, su menor especificidad y sensibilidad pueden llevar a errores en la categorización de muestras, generando falsos positivos o negativos. Esto se evidencia en el análisis ANOVA, donde indica que la significancia es menor a $p < 0,05$, indicando que existen diferencias significativas entre los resultados de los grupos analizados.

Tabla 11

Prueba de Tukey

Tipo de ganado	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
Alpacas	5	85,1420	
Vacunos	5	85,1420	
Ovinos	5		94,9480

Se visualizan medias para grupos en subconjuntos homogéneos.

a. Emplea el tamaño de la muestra de media armónica = 5,000.

En base a la prueba de Tukey, se recomienda utilizar la prueba ELISA como método diagnóstico principal usando antígenos de ganado ovinos, la cual presenta mayor precisión en la detección de *Fasciola hepática* seguido de ganado vacuno y alpacas.

4.2 Discusión

El diagnóstico puntual de la fasciolosis en rumiantes es primordial para la implementación de estrategias de control efectivas, dado el impacto que esta enfermedad genera en la productividad ganadera. En este estudio, se evaluó la eficiencia de antígenos de *Fasciola hepática* obtenidos de ganado vacuno, ovino y alpacas mediante la técnica ELISA, considerando su sensibilidad, especificidad y valores predictivos. Los resultados indicaron que la eficiencia diagnóstica de los antígenos varió según la especie, observándose un mejor desempeño en ovinos en comparación con vacunos y alpacas.

Estudios previos han demostrado que la respuesta inmunológica de cada especie ante *Fasciola hepática* influye en la cantidad y calidad de los antígenos circulantes. Drescher et al. (2023) encontraron que los antígenos excretores-secretorios son altamente sensibles para la detección de fasciolosis en ovinos, mientras que en vacunos la respuesta puede ser más variable debido a la presencia de infecciones crónicas que alteran los niveles de antígenos. Esto coincide con los resultados del presente estudio, donde el ELISA mostró una alta precisión en ovinos, pero una menor sensibilidad en vacunos y alpacas.

Por otro lado, la menor eficiencia diagnóstica en alpacas puede estar relacionada con la respuesta inmunológica específica de los camélidos sudamericanos, la cual difiere significativamente de la de ovinos y vacunos. Investigaciones como la de Ubeira et al. (2024) han señalado que la detección serológica en alpacas puede verse afectada por la presencia de reacciones cruzadas con otros parásitos, lo que incrementa la posibilidad de falsos positivos. En este estudio, la especificidad del ELISA en alpacas fue menor en comparación con otras especies, lo que sugiere la necesidad de optimizar los antígenos utilizados para mejorar la precisión del diagnóstico.

Adicionalmente, la eficiencia de los antígenos también puede depender del tipo de técnica de extracción y purificación empleada. Walsh et al. (2021) destacaron que el uso de fracciones antigénicas específicas, como la catepsina recombinante, mejora la especificidad del ELISA en múltiples especies. En el presente estudio, si bien la eficiencia diagnóstica de los antígenos fue aceptable en general, los resultados sugieren que la selección de antígenos más específicos para cada especie podría optimizar la detección de *Fasciola hepática*.

La cuantificación de antígenos de *Fasciola hepática* en diferentes especies es crucial para evaluar su potencial diagnóstico. En este estudio, se encontró que la concentración de antígenos varió entre vacunos, ovinos y alpacas, lo que puede deberse a diferencias en la carga parasitaria y en la respuesta inmunológica de cada especie. Los antecedentes revisados, como el estudio de Drescher et al. (2023) sugirieron que los antígenos excretores-secretorios son altamente efectivos para la detección de la fasciolosis, pero su expresión puede diferir según el huésped. Esto concuerda con los resultados obtenidos, donde se observó que los ovinos presentaron una mayor cantidad de antígenos detectables en comparación con vacunos y alpacas, lo que podría estar relacionado con la fisiología de cada especie y la capacidad del parásito para excretar proteínas inmunogénicas en diferentes hospedadores.

El desempeño del ELISA como método diagnóstico varió entre las especies estudiadas. En ovinos, la prueba mostró una alta precisión con una especificidad del 100%, mientras que en vacunos y alpacas se detectaron mayores tasas de falsos positivos y negativos. Estos hallazgos coinciden con los de Walsh et al. (2021), quienes indicaron que la respuesta inmunitaria de cada especie puede afectar en detectar anticuerpos contra *Fasciola hepática*. En vacunos, la presencia de infecciones crónicas puede alterar los niveles de antígenos circulantes, disminuyendo la sensibilidad del ELISA. Asimismo, en alpacas, se ha documentado que otras infecciones parasitarias pueden generar reacciones cruzadas, lo que explicaría la menor especificidad de la prueba en esta especie.

El análisis de eficiencia del ELISA en función de sensibilidad, especificidad y valores predictivos reveló que la prueba fue más confiable en ovinos que en vacunos y alpacas. Antecedentes, como el de Ubeira et al. (2024) demostraron que la selección del antígeno empleado en ELISA es un factor determinante para su rendimiento diagnóstico. En este estudio, la correlación entre los resultados del ELISA y presencia real de *Fasciola hepática* fue alta en ovinos, pero menor en vacunos y alpacas. Esto sugiere que el uso de antígenos específicos para cada especie podría mejorar la precisión del diagnóstico, minimizando los casos de falsos positivos y negativos.

Los hallazgos detallan que la eficiencia del ELISA varía según especie analizada. La mayor precisión en ovinos indica que los antígenos de *Fasciola hepática* obtenidos de esta especie podrían ser más adecuados para pruebas diagnósticas. Sin embargo, en vacunos y alpacas, la presencia de falsos positivos e igualmente negativos sugiere la



necesidad de optimizar los antígenos utilizados o combinar ELISA con otros métodos de diagnóstico. Estos hallazgos resaltan la importancia de continuar investigando la variabilidad en la respuesta inmunológica de cada especie para mejorar la detección de la fasciolosis en diferentes sistemas productivos.

CONCLUSIONES

- PRIMERO:** Se determinó que la eficiencia del uso de antígenos de *Fasciola hepática* para el diagnóstico mediante ELISA varía según la especie analizada. En ovinos, la prueba mostró una alta sensibilidad (90%) y especificidad (100%), lo que indica su confiabilidad para detectar la infección sin generar falsos positivos. En contraste, en vacunos y alpacas la eficiencia fue menor dado a la presencia de falsos positivos e igualmente negativos, con sensibilidades del 80% y 90%, respectivamente. Estos resultados evidencian que la capacidad de detección del test puede depender de factores inmunológicos propios de cada especie, así como de calidad del antígeno empleado.
- SEGUNDO:** La cuantificación de los antígenos obtenidos de las tres especies permitió evidenciar diferencias en la cantidad de material antigénico disponible para la prueba ELISA. La variabilidad en la cantidad de antígeno obtenido sugiere que la carga parasitaria y la respuesta a nivel inmunitaria del hospedador pueden influir en la cantidad de antígenos circulantes detectables. Esto indica la necesidad de considerar la fuente del antígeno al momento de desarrollar pruebas diagnósticas, ya que la calidad y cantidad de los antígenos podrían afectar la sensibilidad y especificidad de los ensayos serológicos.
- TERCERO:** El diagnóstico ELISA mostró un desempeño variable según la especie, con el mejor rendimiento en ovinos y mayores limitaciones en vacunos y alpacas. En ovinos, el ELISA se presentó como una herramienta confiable para el diagnóstico de la fascioliasis, mientras que en vacunos y alpacas la presencia de falsos negativos y falsos positivos sugiere la necesidad de optimizar los parámetros de la prueba. Estos resultados resaltan la importancia de evaluar de manera específica la efectividad del ELISA en cada especie para garantizar diagnósticos más precisos y evitar errores que puedan afectar la toma de decisiones en programas de control y tratamiento.
- CUARTO:** Se estableció que la sensibilidad y especificidad del ELISA son variables en función de la especie analizada, con una mayor eficiencia en ovinos



(sensibilidad de 90% y especificidad de 100%) en cotejo con vacunos (80% y 90%) y alpacas (90% y 80%). Estas diferencias en el desempeño del test podrían estar influenciadas por la presencia de reacciones cruzadas, diferencias en la respuesta inmune de cada especie y la variabilidad en la expresión de antígenos de *Fasciola hepática*. Por lo tanto, se concluye que el nivel de eficiencia del ELISA es alto en ovinos, moderado en vacunos y menor en alpacas, lo que sugiere la necesidad de ajustes específicos para cada especie.

RECOMENDACIONES

- PRIMERO:** Se recomienda mejorar la selección de antígenos utilizados en ELISA para cada especie con el fin de aumentar la precisión del diagnóstico. Es fundamental realizar estudios adicionales para identificar qué fracciones antigénicas proporcionan una mejor respuesta inmune en vacunos y alpacas, evitando la aparición de falsos positivos y negativos. Además, se sugiere la combinación del ELISA con otras pruebas complementarias, como la detección de huevos en heces o técnicas moleculares, para mejorar la certeza del diagnóstico.
- SEGUNDO:** Para garantizar una mejor uniformidad en la calidad del diagnóstico, se recomienda establecer protocolos estandarizados para la obtención y cuantificación de antígenos en las diferentes especies. Esto incluye la validación de métodos de extracción y purificación de antígenos que minimicen la variabilidad en los resultados del ELISA. También se sugiere analizar el impacto de factores como carga parasitaria, la fase de infección y las condiciones ambientales en la disponibilidad de antígenos en cada especie.
- TERCERO:** Se recomienda realizar pruebas de validación adicionales para ajustar los parámetros del ELISA en función de la especie de origen. Esto permitiría disminuir la tasa de falsos negativos en vacunos y alpacas, así como mejorar la especificidad en estas especies. Además, sería beneficioso desarrollar variantes de la prueba que incluyan controles internos más estrictos y optimizar los puntos de corte de la prueba para cada especie.
- CUARTO:** Para mejorar la eficiencia del ELISA, se recomienda que los planes de control de fascioliasis en la provincia de Melgar establezcan criterios diferenciados de interpretación de los resultados para cada especie. Esto implica considerar la sensibilidad y especificidad obtenida en cada caso y, en base a ello, definir umbrales de diagnóstico adecuados. Asimismo, se aconseja capacitar a los profesionales encargados del diagnóstico en la interpretación adecuada de los resultados, promoviendo el uso de herramientas complementarias cuando sea necesario.

BIBLIOGRAFÍA

- Abril, N., Barcena, A., Fernandez, E., Galban, A., Jorin, J., Peinado, J., Melendez, F., & Tunez, I. (1984). Series flow tandem fan: A high-speed V/STOL propulsion concept. *SAE Technical Papers*, 1–8. <https://doi.org/10.4271/841496>
- Aguilar Vela, E. M. (2024). *Prevalencia de Fasciola hepatica y parásitos gastrointestinales en bovinos del distrito de Florida, provincia de Bongará, región Amazonas*. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i1.17560>
- Akıl, M., Aykur, M., Karakavuk, M., Can, H., & Döşkaya, M. (2022). Construction of a multiepitope vaccine candidate against *Fasciola hepatica*: an in silico design using various immunogenic excretory/secretory antigens. *Expert Review of Vaccines*, 21(7), 993–1006. DOI: 10.1080/14760584.2022.1996233
- Alzamora-Gonzales, L., Echevarria, R. J., Colona-Vallejos, E. H., Aguilar-Luis, M. A., & De Amat-Herbozo, C. C. (2016). Development of indirect sandwich ELISA for determination of excretory-secretory antigens of *Fasciola hepatica* | Desarrollo de ELISA sándwich indirecto para la determinación de antígenos de excreción-secreción de *Fasciola hepatica*. *Revista Peruana de Biología*, 23(1), 47–52. <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v23i1.11833>.
- Andrade Padilla, M. V. (2022). *Prevalencia de fasciola hepática en ganado bovino mediante análisis coprológico y de factores de riesgo*. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/23365>
- Benzunce Pacheco, H. A. (2023). *Factores climáticos y su relación con la excreción de huevos de fasciola hepatica en el ganado bovino lechero del fundo “Basilio Cortegana” Bim Zepita N° 7, Baños del Inca Cajamarca*. <https://orcid.org/0000-0002-4437-4798>.
- Bravo-Grau, S., & Cruz, J. P. (2015). Exactitud - Bravo & Cruz, 2015. *Revista chilena de radiología*, 21(1), 1–7. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-93082015000400007>
- Caicay Silva, S. J. (2023). *Prevalencia de Fasciola hepática y su repercusión económica en vacunos sacrificados en el camal municipal de Lambayeque*. 1–46. <https://hdl.handle.net/20.500.12893/11253>.

- Cornejo, H., Oblitas, F., Cruzado, S., & Quispe, W. (2010). Evaluación de una prueba de ELISA con antígeno metabólico de *Fasciola hepatica* para el diagnóstico de fasciolosis humana en Cajamarca, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 27(4), 569–574. <https://doi.org/10.1590/s1726-46342010000400012>
- Costa, M., Mansilla, F., Manuel Sala, J., Saravia, A., Ubios, D., Lores, P., Capozzo, A. V., & Freire, T. (2024). *Fasciola hepatica* infection modifies IgG1 specific immune response to foot-and-mouth disease virus induced by vaccination. *Vaccine*, 42(3), 541–547. DOI: 10.1016/j.vaccine.2023.12.067
- Dong, H., Gan, F., Mehmood, K., Zeng, J. Y., Abbas, R. Z., Gondal, M. A., Chang, Z., & Wu, Q. (2022). Epidemiological and Clinical Features of *Fasciola hepatica* Infection in Yaks (*Bos grunniens*) on Tibetan Plateau, China. *Pakistan Journal of Zoology*, 54(1), 479–482. DOI:10.17582/journal.pjz/20190823220816
- Drescher, G., dos Santos, H. G., Pinto, M. M. da G., Morello, L. G., & Figueiredo, F. B. (2024). Diagnosis of fasciolosis antibodies in Brazilian cattle through ELISA employing both native and recombinant antigens. *Microbiology Spectrum*, 12(5). <https://doi.org/10.1128/spectrum.00095-24>
- Drescher, G., Vasconcelos, T. C. B. de, Belo, V. S., Pinto, M. M. da G., Rosa, J. de O., Morello, L. G., & Figueiredo, F. B. (2023). Serological diagnosis of fasciolosis (*Fasciola hepatica*) in humans, cattle, and sheep: a meta-analysis. *Frontiers in Veterinary Science*, 10. doi: 10.3389/fvets.2023.1252454. eCollection 2023.
- Duménigo Ripoll, B. E., & Finlay Villalvilla, C. M. (1998). Detección y cuantificación de coproantígenos de *Fasciola hepatica* en ganado ovino. *Rev Cubana Med Trop*, 50(1), 82–84. Doi:10.1371/journal.pone.0053387. e53387
- Fernandez, R., Limaymanta, M., & Zarate, D. (2024). Eficacia del albendazol y rafoxanida contra *Fasciola hepatica* en vacunos procedentes del norte del Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 35(5), 1609–9117. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v35i5.26969>
- Flores-Velázquez, L. M., Ruiz-Campillo, M. T., Herrera-Torres, G., Martínez-Moreno, Á., Martínez-Moreno, F. J., Zafra, R., Buffoni, L., Rufino-Moya, P. J., Molina-

- Hernández, V., & Pérez, J. (2023). Fasciolosis: pathogenesis, host-parasite interactions, and implication in vaccine development. *Frontiers in Veterinary Science*, *10*. doi: 10.3389/fvets.2023.1270064
- García, E., Pulido, S., Andrade, M., & Roy, J. (2011). Comparación de métodos de diagnóstico para *Fasciola hepática* en el matadero de Chiquinquirá (Boyacá). *Ciencia y Agricultura*, *7*(2), 71–79. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v32i5.21341>
- Hashimoto, A., Hirose, K., & Iino, M. (2005). BAD detects coincidence of G2/M phase and growth factor deprivation to regulate apoptosis. *Journal of Biological Chemistry*, *280*(28), 26225–26232. <https://doi.org/10.1074/jbc.M409363200>
- Kelley, J. M., Stevenson, M. A., Rathinasamy, V., Rawlin, G., Beddoe, T., & Spithill, T. W. (2021). Analysis of daily variation in the release of faecal eggs and coproantigen of *Fasciola hepatica* in naturally infected dairy cattle and the impact on diagnostic test sensitivity. *Veterinary Parasitology*, *298*. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109504>
- Lan, Z., Zhang, X. H., Xing, J. L., Zhang, A. H., Wang, H. R., Zhang, X. C., Gao, J. F., & Wang, C. R. (2024). Global prevalence of liver disease in human and domestic animals caused by *Fasciola*: A systematic review and meta-analysis. *Journal of global health*, *14*, 04223. DOI: 10.7189/jogh.14.04223
- Li, O., Leguia, G., Espino, A., Dumenigo, B., Diaz, A., & Otero, O. (2005). Detección de anticuerpos y antígenos para el diagnóstico de *fasciola hepatica* en alpacas naturalmente infectadas. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru*, *16*(2), 143–153. DOI:10.15381/rivep.v16i2.1554
- Llanos Ugsha, L. A. (2024). *Prevalencia de Fasciola hepática en Ganado Bovino Faenado en el camal municipal Metropolitano de la Ciudad de Quito*. <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/16371>
- López Corrales, J., Cwiklinski, K., De Marco Verissimo, C., Dorey, A., Lalor, R., Jewhurst, H., McEvoy, A., Diskin, M., Duffy, C., Cosby, S. L., Keane, O. M., & Dalton, J. P. (2021). Diagnosis of sheep fasciolosis caused by *Fasciola hepatica* using cathepsin L enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA). *Veterinary Parasitology*, *298*. DOI: 10.1016/j.vetpar.2021.109517

- Mahdee, N. K., Karim, S. M., Mansour, K. A., & Alfatlawi, M. A. (2022). Indicative parameters for liver fascioliasis at pre-clinical and clinical phases in cows from Al-Diwaniyah city, Iraq. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, *36*(3), 653–657. DOI:10.33899/ijvs.2022.132266.2076
- Mahmoud, H. Y., Ali, A. A. A., Khalil, A. M., Amin, Y. A., & Ali, A. O. (2022). The Infection Rate of Fasciola and Anaplasma in Cattle and Buffaloes in Qena, Egypt. *International Journal of Veterinary Science*, *11*(3), 308–314. DOI:10.47278/journal.ijvs/2021.110
- Miranda, R. (2017). Prevalencia de *Fasciola hepática* en humanos de edad escolar en el distrito de Asillo, Puno-2017. *Universidad Nacional de Cajamarca*. <http://hdl.handle.net/20.500.14074/2985>
- Nur Hafizah, S., Noor Izani, N. J., Ahmad Najib, M., & Wan-Nor-amilah, W. A. W. (2023). Immunodiagnosis of Fascioliasis in Ruminants by ELISA Method: A Mini-Review. *Malaysian Journal of Medical Sciences*, *30*(4), 25–32. doi: 10.21315/mjms2023.30.4.3
- Oehm, A. W., Zablotski, Y., Campe, A., Hoedemaker, M., Strube, C., Springer, A., Jordan, D., & Knubben-Schweizer, G. (2023). Random forest classification as a tool in epidemiological modelling: Identification of farm-specific characteristics relevant for the occurrence of *Fasciola hepatica* on German dairy farms. *PLoS ONE*, *18*(12 December). DOI: 10.1371/journal.pone.0296093
- Opio, L. G., Abdelfattah, E. M., Terry, J., Odongo, S., & Okello, E. (2021). Prevalence of fascioliasis and associated economic losses in cattle slaughtered at lira municipality abattoir in northern Uganda. *Animals*, *11*(3), 1–10. DOI: 10.3390/ani11030681
- Pérez-Caballero, R., Martínez-Moreno, F. J., Corripio-Miyar, Y., McNeilly, T. N., Cwiklinski, K., Dalton, J. P., Zafra, R., Pérez, J., Martínez-Moreno, Á., & Buffoni, L. (2021). Antigen-specific response of CD4+ T cells and hepatic lymph node cells to *Fasciola hepatica*-derived molecules at the early and late stage of the infection in sheep. *Veterinary research*, *52*(1), 99. <https://doi.org/10.1186/s13567-021-00963-5>

- Regasa, A., & Seboka, M. (2021). Review on Fasciolosis, its Effect on Meat Quality/Hazards and Economical Importance. *Entomol Ornithol Herpetol*, *10*(6), 1–9. DOI:10.35248/2161-0983.21.10.247
- Rufino-Moya, P. J., Zafra Leva, R., Martínez-Moreno, Á., Buffoni, L., Valderas García, E., Pérez Arévalo, J., Molina-Hernández, V., Ruiz-Campillo, M. T., Herrera-Torres, G., & Martínez-Moreno, F. J. (2024). Advancement in Diagnosis, Treatment, and Vaccines against *Fasciola hepatica*: A Comprehensive Review. *Pathogens*, *13*(8). DOI: 10.3390/pathogens13080669
- Saadh, M. J., Tanash, S. A., Almaaytah, A. M., Sa'Adeh, I. J., Aldalaen, S. M., & Al-Hamaideh, K. D. (2021). Immunodiagnosis of cattle fascioliasis using a 27 kDa *Fasciola gigantica* antigen. *Veterinary World*, *14*(8), 2097–2101. DOI: 10.14202/vetworld.2021.2097-2101
- Sánchez Iza, R. A. (2023). *Determinación de la incidencia de Fasciola Hepática en bovinos faenados en el camal municipal del cantón Montalvo, Provincia de Los Ríos*. <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/14913>
- Shoulah, S. A., Gaballa, M. M. S., Al-Assas, M. M., Saqr, S. A., Gattan, H. S., & Selim, A. (2024). Histopathological changes and oxidative stress associated with Fascioliasis in bovines. *Tropical Animal Health and Production*, *56*(2). DOI:10.1007/s11250-024-03896-1
- Sierra Balcárcel, R., Martínez Vega, R. A., GutiérrezMarín, R., Dolores Colmenares, C., & Uribe, N. (2017). Estandarización de ELISA para el diagnóstico de fasciolosis bovina, ovina y humana. *Revista de la Universidad Industrial de Santander: Salud*, *49*(4), 549–556. <https://doi.org/10.18273/revsal.v49n4-2017004>. <https://doi.org/10.18273/revsal.v49n4-2017004>.
- Siles-Lucas, M., Becerro-Recio, D., Serrat, J., & González-Miguel, J. (2021). Fascioliasis and fasciolopsiasis: Current knowledge and future trends. *Research in Veterinary Science*, *134*, 27–35. DOI: 10.1016/j.rvsc.2020.10.011.
- Silva-Castro, J., Rentería-Mendoza, J., Hidalgo-Vasquez, Y. N., & Velásquez-Vergara, C. (2023). *Fasciola hepática* como causal de decomiso de hígados en bovinos faenados en la provincia de Huaura, Perú. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*,

24(2). https://doi.org/10.21930/rcta.vol24_num2_art:3090

- Tirado Nicoletti, M. F. (2021). *Prevalencia de Fasciola hepatica en bovinos de los distritos de Abancay, Curahuasi y Tamburco, provincia de Abancay - Apurímac durante el período de lluvias del 2018*. <https://doi.org/10.21142/tl.2021.2209>.
- Torrel, S., Rojas-Moncada, J., Saldaña, K., Silva, M., Gallardo, I., Cadenillas, R. del P., Alfaro, D., Irigoín, C., Murga-Moreno, C. A., & Vargas-Rocha, L. (2023). Trematodos del ganado vacuno lechero al pastoreo en Cajamarca, Perú: Fasciola hepatica y Calicophoron microbothrioides. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 34(4), e24296. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v34i4.24296>
- Ubeira, F. M., González-Warleta, M., Martínez-Sernández, V., Castro-Hermida, J. A., Paniagua, E., Romarís, F., & Mezo, M. (2024). Increased specificity of Fasciola hepatica excretory-secretory antigens combining negative selection on hydroxyapatite and salt precipitation. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-54290-8>.
- Vera, F. (2023). *Determinación de la incidencia de Fasciola Hepática en el ganado bovino faenado en el camal municipal del cantón Ventanas, Provincia de Los Ríos*. 1–65. <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/13915>
- Viana, K. F., Sperandio, N. do C., Neto, F. B., Donatele, D. M., de Souza, A. B., dos Santos, A. G. V., Rivas, A. V., Barcellos, E. C. de A., & Martins, I. V. F. (2024). Safety and Immunogenicity of an FhSAMS Vaccine Against Fasciola hepatica in Dairy Cattle. *Parasite Immunology*, 46(11). DOI: 10.1111/pim.13074.
- Walsh, T. R., Ainsworth, S., Armstrong, S., Hodgkinson, J., & Williams, D. (2021). Differences in the antibody response to adult Fasciola hepatica excretory/secretory products in experimentally and naturally infected cattle and sheep. *Veterinary Parasitology*, 289. DOI: 10.1016/j.vetpar.2020.109321.
- Zerna, G., Cameron, T. C., Toet, H., Spithill, T. W., & Beddoe, T. (2022). Bovine Natural Antibody Relationships to Specific Antibodies and Fasciola hepatica Burdens after Experimental Infection and Vaccination with Glutathione S-Transferase. *Veterinary Sciences*, 9(2). DOI: 10.3390/vetsci9020058.

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLE INDEPENDIENTE	DIMENSION	INDICADOR
Problema General ¿Cuál de los antígenos provenientes de ganado vacuno, ovino y alpacas, es el más eficiente para el diagnóstico de <i>Fasciola hepática</i> ?	Objetivo General Determinar la eficiencia de antígenos de <i>Fasciola hepática</i> provenientes de ganado vacuno, ovino y alpacas, con fines diagnósticos, Puno 2022.	Hipótesis General Los antígenos de <i>Fasciola hepática</i> provenientes de alpacas tienen alta eficiencia para el diagnóstico	Antígeno de <i>Fasciola hepática</i>	Ganado vacuno	Cuantificación de antígeno Diagnóstico de ELISA Lectura de placa
Problemas Específicos ¿Qué cantidad de antígenos de <i>Fasciola hepática</i> son obtenidos de ganado vacuno, ovino y alpacas?	Objetivos Específicos Cuantificar los antígenos de <i>Fasciola hepática</i> obtenidos de ganado vacuno, ovino y alpacas	Hipótesis Específicas Los antígenos de <i>Fasciola hepática</i> obtenidos de alpacas tienen una mayor cuantificación		Alpacas	Cuantificación de antígeno Diagnóstico de ELISA Lectura de placa VP: VERDADEROS POSITIVOS FN: FALSOS NEGATIVOS
¿Cuál es el diagnóstico ELISA de los antígenos obtenidos de ganado vacuno, ovino y alpacas?	Evaluar el diagnóstico ELISA de los antígenos obtenidos de ganado vacuno, ovino y alpacas.	El diagnóstico ELISA de los antígenos obtenidos de las alpacas es el más favorable.	DEPENDIENTE	SENSIBILIDAD	VP: VERDADEROS POSITIVOS FN: FALSOS NEGATIVOS
¿Cuál es el nivel de eficiencia según sensibilidad, especificidad y valor predictivo, a partir de resultados ELISA para Ag de <i>Fasciola hepática</i> obtenidos, según ganado vacuno, ovino y alpacas?	Determinar el nivel de eficiencia según sensibilidad, especificidad y valor predictivo, a partir de resultados ELISA para Ag de <i>Fasciola hepática</i> obtenidos, según ganado vacuno, ovino y alpacas	El nivel de eficiencia según sensibilidad, especificidad y valor predictivo, a partir de resultados ELISA para Ag de <i>Fasciola hepática</i> obtenidos de alpaca tienen los mejores indicadores.	DIAGNOSTICO	ESPECIFICIDAD	VN: VERDADEROS NEGATIVOS FP: FALSOS POSITIVOS
				VALOR PREDICTIVO POSITIVO Y NEGATIVO	VP: VERDADEROS POSITIVOS FN: FALSOS NEGATIVOS VN: VERDADEROS NEGATIVOS FP: FALSOS POSITIVOS

Anexo 2. Operacionalización de variables

VARIABLE	DIMENSIÓN	INDICADOR
INDEPENDIENTE		
Antígeno de <i>Fasciola hepática</i>	Ganado vacuno	Cuantificación de antígeno Diagnóstico de ELISA Lectura de placa
	Ganado ovino	Cuantificación de antígeno Diagnóstico de ELISA Lectura de placa
	Alpacas	Cuantificación de antígeno Diagnóstico de ELISA Lectura de placa
DEPENDIENTE		
DIAGNOSTICO	SENSIBILIDAD	VP: VERDADEROS POSITIVOS FN: FALSOS NEGATIVOS
	ESPECIFICIDAD	VN: VERDADEROS NEGATIVOS FP: FALSOS POSITIVOS
	VALOR PREDICTIVO POSITIVO Y NEGATIVO	VP: VERDADEROS POSITIVOS FN: FALSOS NEGATIVOS VN: VERDADEROS NEGATIVOS FP: FALSOS POSITIVOS

Anexo 3. Instrumentos de recolección de datos

FICHA OBSERVACIONAL PARA IDENTIFICACION DE INDIVIDUOS (GANADO) PARA RECOLECCION DE MUESTRA EVALUACION POST MORTEM – GOLD ESTANDAR

N°	CODIGO	FECHA DE RECOLECCION	GANADO					
			OVINO		VACUNO		ALPACAS	
			MF	MS	MF	MS	MF	MS

MF: Muestra Fasciola hepatica

MS: Muestra sanguínea

KIT ELISA PARA DIAGNOSTICO DE FASCIOLOSIS – GANADO VACUNO- OVINO Y ALPACAS - PROTOCOLO DE RESULTADOS

FECHA DE PRODUCCION:

ELABORADO POR:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	BLANCO								
B	SCP								
C	SCN								
D	SCN								
E	SCN								

Anexo 4. Base de datos

RESULTADOS DE LA PRUEBA ELISA

ANTIGENO ALPACAS

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	B	1	9		11	19						
2	C.N	2	10		12	20						
3	C.N	3			13							
4	C.N	4			14							
5	C.P	5			15							
6		6			16							
7		7			17							
8		8			18							

B	BLANCO	
C.N	CONTROL NEGATIVO	
C.P	CONTROL POSITIVO	
M.P	MUESTRAS PROBLEMA	

VP 9 FN 1
SENSIBILIDAD $VP/(VP+FN)*100$
90
VN 8 FP 2
ESPECIFICIDAD $VN/(VN+FP)*100$
80

VALOR GLOBAL DEL TEST
 $((VP+VN)/(VP+FP+VN+FN))*100$

V.G. = 85,00

ANTIGENO OVINO

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	B	1	9		11	19						
2	C.N	2	10		12	20						
3	C.N	3			13							
4	C.N	4			14							
5	C.P	5			15							
6		6			16							
7		7			17							
8		8			18							

B	BLANCO	
C.N	CONTROL NEGATIVO	
C.P	CONTROL POSITIVO	
M.P	MUESTRAS PROBLEMA	

VP 9 FN 1
SENSIBILIDAD $VP/(VP+FN)*100$
90
VN 9 FP 0
ESPECIFICIDAD $VN/(VN+FP)*100$
100

VALOR GLOBAL DEL TEST
 $((VP+VN)/(VP+FP+VN+FN))*100$

V.G. = 94,74

ANTIGENO VACUNO

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	B	1	9		11	19						
2	C.N	2	10		12	20						
3	C.N	3			13							
4	C.N	4			14							
5	C.P	5			15							
6		6			16							
7		7			17							
8		8			18							

B	BLANCO	
C.N	CONTROL NEGATIVO	
C.P	CONTROL POSITIVO	
M.P	MUESTRAS PROBLEMA	

VP 8 FN 2
SENSIBILIDAD $VP/(VP+FN)*100$
80
VN 9 FP 1
ESPECIFICIDAD $VN/(VN+FP)*100$
90

VALOR GLOBAL DEL TEST
 $((VP+VN)/(VP+FP+VN+FN))*100$

V.G. = 85,00

Resultado test ELISA VS GOLD ESTANDAR en alpacas para búsqueda de verdaderos positivos y negativos y falsos positivos y negativos.

Muestra	Gold Estándar	Resultado ELISA
1	Positivo	Positivo
2	Positivo	Positivo
3	Positivo	Positivo
4	Positivo	Positivo
5	Positivo	Positivo
6	Positivo	Positivo
7	Positivo	Positivo
8	Positivo	Positivo
9	Positivo	Negativo
10	Positivo	Positivo
11	Negativo	Negativo
12	Negativo	Negativo
13	Negativo	Positivo
14	Negativo	Negativo
15	Negativo	Negativo
16	Negativo	Negativo
17	Negativo	Negativo
18	Negativo	Positivo
19	Negativo	Negativo
20	Negativo	Negativo

Nota. Resultados de laboratorio

Resultado test ELISA VS GOLD ESTANDAR en ovinos para búsqueda de verdaderos positivos y negativos y falsos positivos y negativos.

Muestra	Gold Estándar	Resultado ELISA
1	Positivo	Positivo
2	Positivo	Positivo
3	Positivo	Positivo
4	Positivo	Positivo
5	Positivo	Positivo
6	Positivo	Negativo
7	Positivo	Positivo
8	Positivo	Positivo
9	Positivo	Positivo
10	Positivo	Positivo
11	Negativo	Negativo

Muestra	Gold Estándar	Resultado ELISA
12	Negativo	Negativo
13	Negativo	Negativo
14	Negativo	Negativo
15	Negativo	Negativo
16	Negativo	Negativo
17	Negativo	Negativo
18	Negativo	Negativo
19	Negativo	Negativo
20	Negativo	Negativo

Nota. Resultados de laboratorio

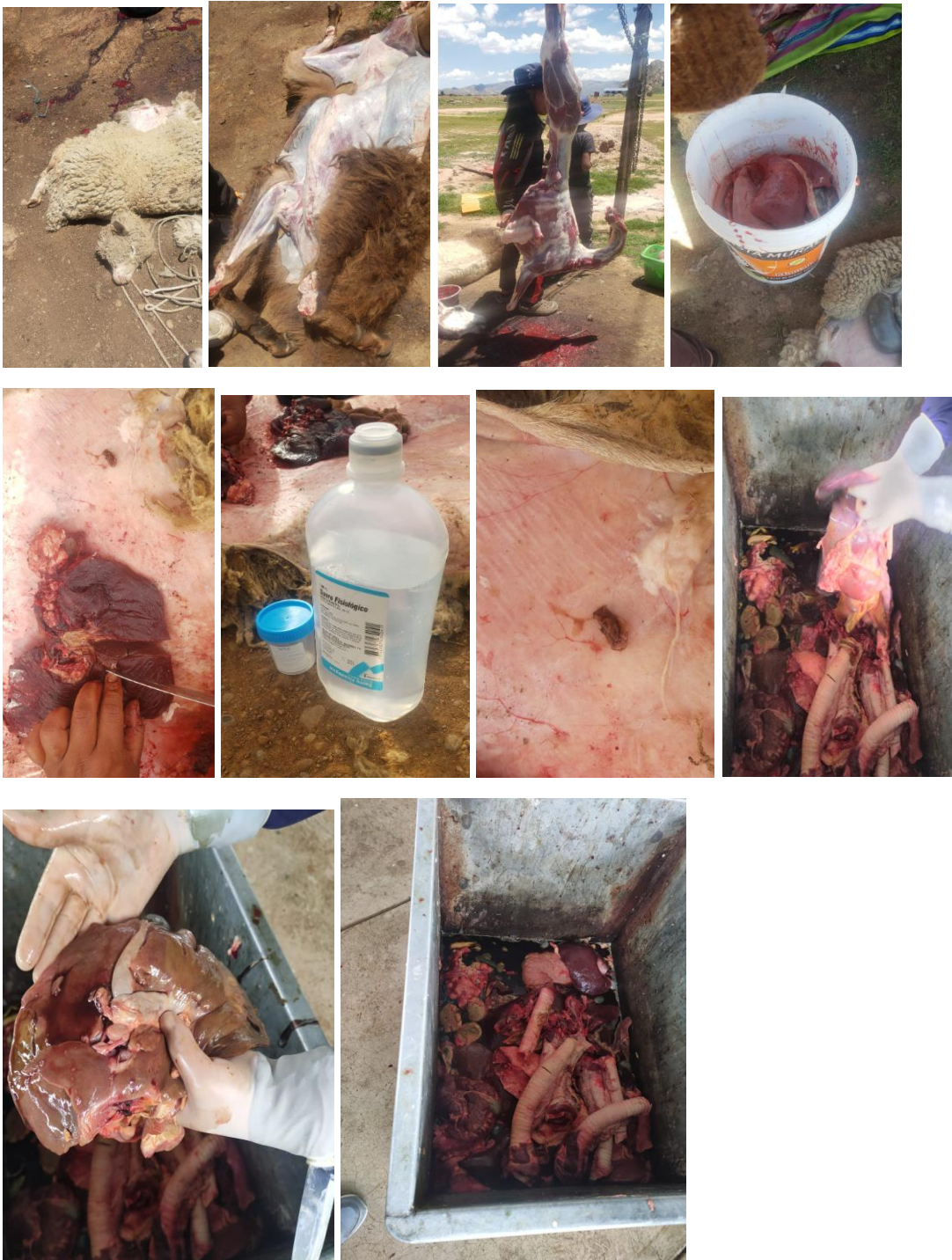
Resultado test ELISA VS GOLD ESTANDAR en vacunos para búsqueda de verdaderos positivos y negativos y falsos positivos y negativos.

Muestra	Gold Estándar	Resultado ELISA
1	Positivo	Positivo
2	Positivo	Positivo
3	Positivo	Positivo
4	Positivo	Positivo
5	Positivo	Positivo
6	Positivo	Positivo
7	Positivo	Positivo
8	Positivo	Positivo
9	Positivo	Positivo
10	Positivo	Positivo
11	Negativo	Positivo
12	Negativo	Negativo
13	Negativo	Negativo
14	Negativo	Negativo
15	Negativo	Negativo
16	Negativo	Negativo
17	Negativo	Negativo
18	Negativo	Negativo
19	Negativo	Negativo
20	Negativo	Negativo

Nota. Resultados de laboratorio

Anexo 5. Panel fotográfico

*Obtencion de muestras de Fasciola hepatica en el camal para su traslado a laboratorio
(Evaluacion post mortem - Gold estandar).*

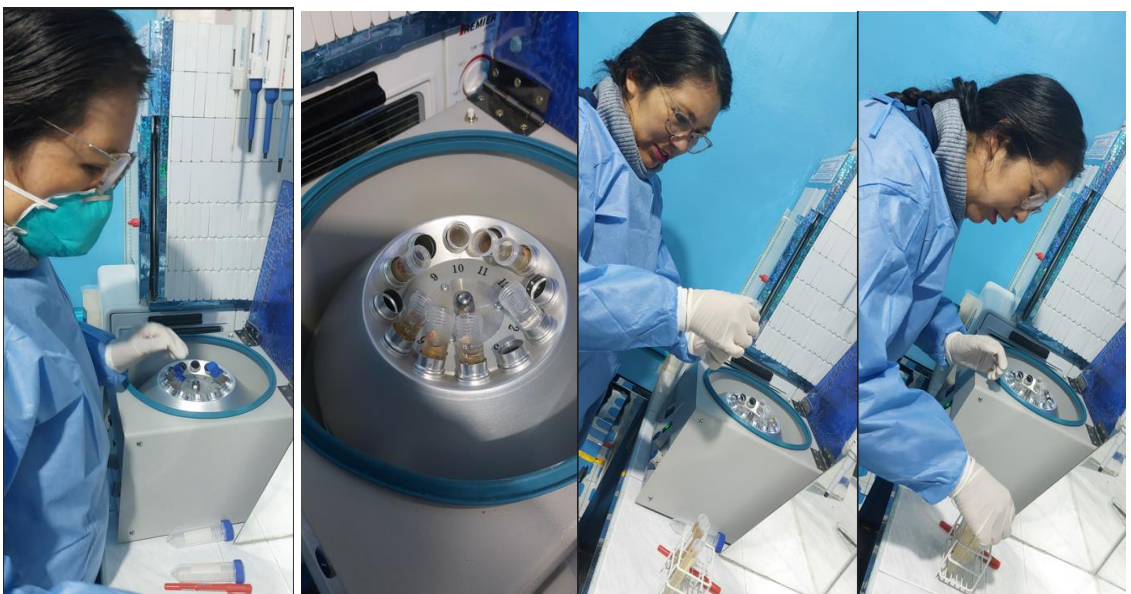




Traslado de muestras a provetas para aislar la vomica y calculo del volumen para traslado a tubos para centrifugacion.

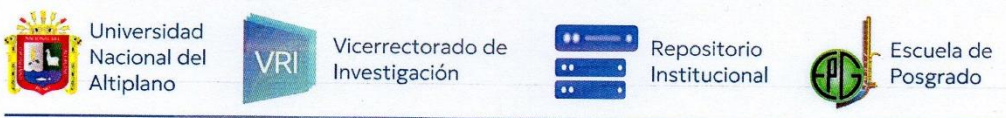


Centrifugacion de tubos con la vomica para retirar sobrenadante y trabajar la cuantificacion segun tipo de ganado.





Anexo 6. Declaración jurada de autenticidad de tesis



DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo **NADDYA VALENTINE JORDAN ROMERO** identificado(a) con N° DNI: **46318336** en mi condición de egresado(a) del:

DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD

con código de matrícula N° **204668**, informo que he elaborado la tesis denominada:

EFICIENCIA DE ANTIGENOS DE FASCIOLA HEPÁTICA PROVENIENTES DE GANADO VACUNO, OVINO Y ALPACAS, CON FINES DIAGNOSTICOS, PUNO 2022

Es un tema original.


Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y no existe plagio/copia de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno, 20 de Agosto del 2025.


FIRMA (Obligatorio)



Anexo 7. Autorización de depósito de tesis en el Repositorio Institucional



Universidad
Nacional del
Altiplano



Vicerrectorado de
Investigación



Repositorio
Institucional



Escuela de
Posgrado

AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo **NADDYA VALENTINE JORDAN ROMERO** identificado(a) con N° DNI: 46318336, con código de matrícula N° 204668, en mi condición de egresado(a) del Programa de Maestría o Doctorado:

DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD

Informo que he elaborado la tesis denominada:

EFICIENCIA DE ANTIGENOS DE FASCIOLA HEPÁTICA PROVENIENTES DE GANADO VACUNO, OVINO Y ALPACAS, CON FINES DIAGNOSTICOS, PUNO 2022

para la obtención de **[X] Grado**.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los "Contenidos") que serán incluidos en el Repositorio Institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno, 20 de Agosto del 2025.


FIRMA (Obligatorio)

