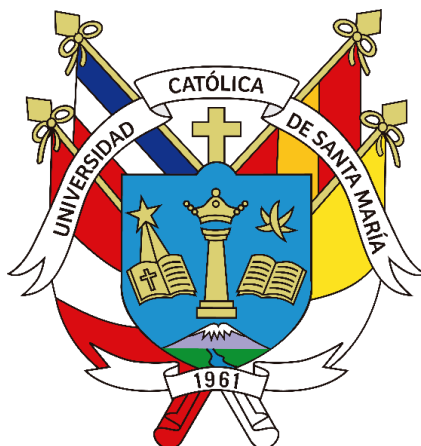


Universidad Católica de Santa María
Facultad de Ciencias e Ingenierías Biológicas y Químicas
Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia



“ELABORACIÓN DE UN MEDIO DE DIAGNÓSTICO PARA HIDATIDOSIS BOVINA EN SUERO SANGUÍNEO, MEDIANTE PARTÍCULAS ANTIGÉNICAS Y NANO-PERLAS DE LÁTEX”

“DEVELOPMENT OF A DIAGNOSTIC MEDIUM FOR BOVINE HYDATIDOSIS IN BLOOD SERUM, USING ANTIGENE PARTICLES AND LATEX NANO-PEARLS”

**Tesis presentada por el
bachiller:**

Ortiz Salazar, Juan Diego

**Para optar el Título Profesional
de:**

Médico Veterinario y Zootecnista

Asesor:

Dr. Fernández Fernández,
Fernando

**Arequipa
2023**

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
TITULACIÓN CON TESIS
DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 03 de Mayo del 2023

Dictamen: 003409-C-EPMVZ-2023

Visto el borrador del expediente 003409, presentado por:

2015203221 - ORTIZ SALAZAR JUAN DIEGO

Titulado:

**ELABORACION DE UN MEDIO DE DIAGNOSTICO PARA HIDATIDOSIS BOVINA EN SUERO
SANGUINEO, MEDIANTE PARTICULAS ANTIGENICAS Y NANO-PERLAS DE LATEX**

Nuestro dictamen es:

APROBADO



**01280819 - VILLANUEVA GANDARILLAS GARY ROLANDO
DICTAMINADOR**



**29327492 - VALDEZ NUÑEZ VERONICA ROCIO
DICTAMINADOR**



**29729675 - ZUÑIGA VALENCIA ELOISA GABRIELA
DICTAMINADOR**



ELABORACIÓN DE UN MEDIO DE DIAGNÓSTICO PARA HIDATIDOSIS BOVINA EN SUERO SANGUÍNEO, MEDIANTE PARTÍCULAS ANTIGÉNICAS Y NANO-PERLAS DE LÁTEX

INFORME DE ORIGINALIDAD

18%

INDICE DE SIMILITUD

18%

FUENTES DE INTERNET

6%

PUBLICACIONES

5%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	cybertesis.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	2%
2	docshare.tips Fuente de Internet	2%
3	core.ac.uk Fuente de Internet	2%
4	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	1%
5	repositorio.cientifica.edu.pe Fuente de Internet	1%
6	iris.paho.org Fuente de Internet	1%
7	www.scielo.org.pe Fuente de Internet	1%
8	www.tesis.unjbg.edu.pe Fuente de Internet	1%

9	www.wjgnet.com Fuente de Internet	<1 %
10	tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
11	www.westgard.com Fuente de Internet	<1 %
12	renatiqa.sunedu.gob.pe Fuente de Internet	<1 %
13	bibliotecadigital.exactas.uba.ar Fuente de Internet	<1 %
14	earthpapers.net Fuente de Internet	<1 %
15	www.scielo.org.ar Fuente de Internet	<1 %
16	cybertesis.urp.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
17	repositorio.unamba.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
18	alicia.concytec.gob.pe Fuente de Internet	<1 %
19	repositorio.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
20	www.bvs.ins.gob.pe Fuente de Internet	<1 %

21	www.researchgate.net Fuente de Internet	<1 %
22	repositorio.uap.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
23	www.colibri.udelar.edu.uy Fuente de Internet	<1 %
24	repositorio.uta.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
25	www.scielo.org.bo Fuente de Internet	<1 %
26	1library.co Fuente de Internet	<1 %
27	catalogo.exactas.uba.ar Fuente de Internet	<1 %
28	brieflands.com Fuente de Internet	<1 %
29	Javier Arredondo Montero, Nerea Martín-Calvo. "Estudios de rendimiento diagnóstico: interpretación del análisis ROC y de los puntos de corte", Cirugía Española, 2022 Publicación	<1 %
30	pt.scribd.com Fuente de Internet	<1 %
31	Submitted to Southern Utah University Trabajo del estudiante	<1 %

32	www.comunidad.madrid Fuente de Internet	<1 %
33	www.biopolymers.org.ua Fuente de Internet	<1 %
34	Submitted to University of Newcastle upon Tyne Trabajo del estudiante	<1 %
35	www.cambridge.org Fuente de Internet	<1 %
36	www.scielo.cl Fuente de Internet	<1 %
37	eic.cefet-rj.br Fuente de Internet	<1 %
38	link.springer.com Fuente de Internet	<1 %
39	repositorio.unprg.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
40	repositorio.unsaac.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
41	www.elsevier.es Fuente de Internet	<1 %
42	www.tdx.cat Fuente de Internet	<1 %

43	Delgado Kalinchuk Esmeralda Itsarit. "Rendimiento de los signos directos e indirectos ultrasonográficos en pacientes con sospecha de apendicitis aguda", TESIUNAM, 2018 Publicación	<1 %
44	Submitted to Universidad Cesar Vallejo Trabajo del estudiante	<1 %
45	api.ning.com Fuente de Internet	<1 %
46	www.frontiersin.org Fuente de Internet	<1 %
47	repositorio.unac.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
48	docplayer.es Fuente de Internet	<1 %
49	pesquisa.bvsalud.org Fuente de Internet	<1 %
50	revistas.lasalle.edu.co Fuente de Internet	<1 %
51	www.univo.edu.sv:8081 Fuente de Internet	<1 %
52	bibliodigital.saludpublica.uchile.cl:8080 Fuente de Internet	<1 %

53	doczz.fr Fuente de Internet	<1 %
54	remi.uninet.edu Fuente de Internet	<1 %
55	www.scielosp.org Fuente de Internet	<1 %
56	María Pilar Romero-Gómez, Iván Bloise-Sánchez, Bartolomé Gómez-Arroyo, Patricia González-Donapetry et al. "Rapid antigen test for adenovirus in children: Age and onset of symptoms are important", Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 2022 Publicación	<1 %
57	eujournal.org Fuente de Internet	<1 %
58	parasitesandvectors.biomedcentral.com Fuente de Internet	<1 %
59	rdi.uncoma.edu.ar Fuente de Internet	<1 %
60	tesis.ipn.mx Fuente de Internet	<1 %
61	www.coursehero.com Fuente de Internet	<1 %
62	www.slideshare.net Fuente de Internet	<1 %

63 Soto Serna Laura Enedina. "Asociación especie/genotipo de cryptosporidium y cuadro clínico en becerros menores de tres meses de edad de la cuenca lechera Tizayuca, Hidalgo", TESIUNAM, 2014

Publicación

<1 %

64 canal7ibarrota.com.ar

Fuente de Internet

<1 %

65 doku.pub

Fuente de Internet

<1 %

66 hdl.handle.net

Fuente de Internet

<1 %

67 prezi.com

Fuente de Internet

<1 %

68 rephip.unr.edu.ar

Fuente de Internet

<1 %

69 repositorio.unheval.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

70 repositorio.unsch.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

71 www.agrointernet.com

Fuente de Internet

<1 %

72 www.caymanchem.com

Fuente de Internet

<1 %

www.mef.gob.pe

73

Fuente de Internet

<1 %

74

Serrano Jaimes Lidia. "Desarrollo de una prueba de co-aglutinación para el diagnóstico serológico de mycoplasma hyopneumoniae en cerdos", TESIUNAM, 2014

Publicación

<1 %

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias

Apagado

Excluir bibliografía

Apagado

DEDICATORIA

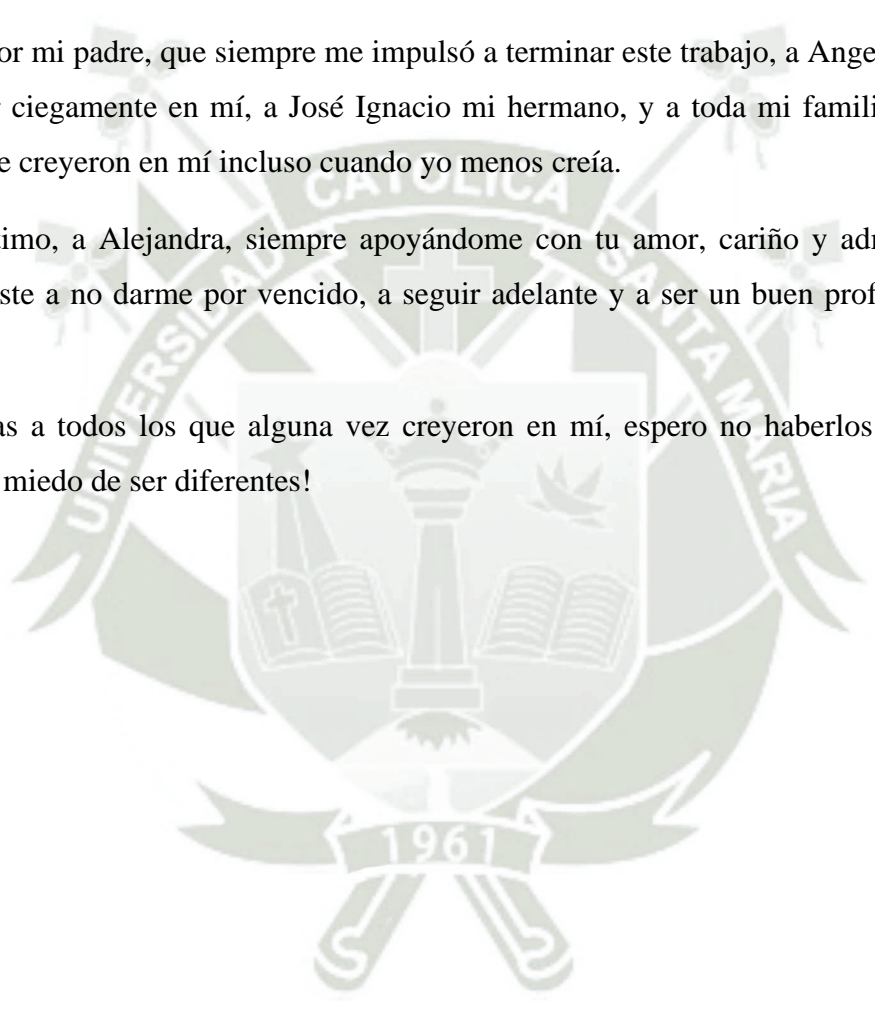
Este trabajo, lo dedico principalmente a mi Perú, un lugar tan bello y a veces tan olvidado. Sé que es minúsculo el aporte que doy, pero espero que sea la puerta para que más profesionales veterinarios se atrevan a dar su aporte, con mucho amor y cariño para todos.

A la carrera de medicina veterinaria, porque primero tengo un compromiso con la humanidad y la gente.

A Víctor mi padre, que siempre me impulsó a terminar este trabajo, a Angela mi madre por confiar ciegamente en mí, a José Ignacio mi hermano, y a toda mi familia y amigos que siempre creyeron en mí incluso cuando yo menos creía.

Por último, a Alejandra, siempre apoyándome con tu amor, cariño y admiración, tú me motivaste a no darme por vencido, a seguir adelante y a ser un buen profesional para los demás.

¡Gracias a todos los que alguna vez creyeron en mí, espero no haberlos defraudado, no tengan miedo de ser diferentes!



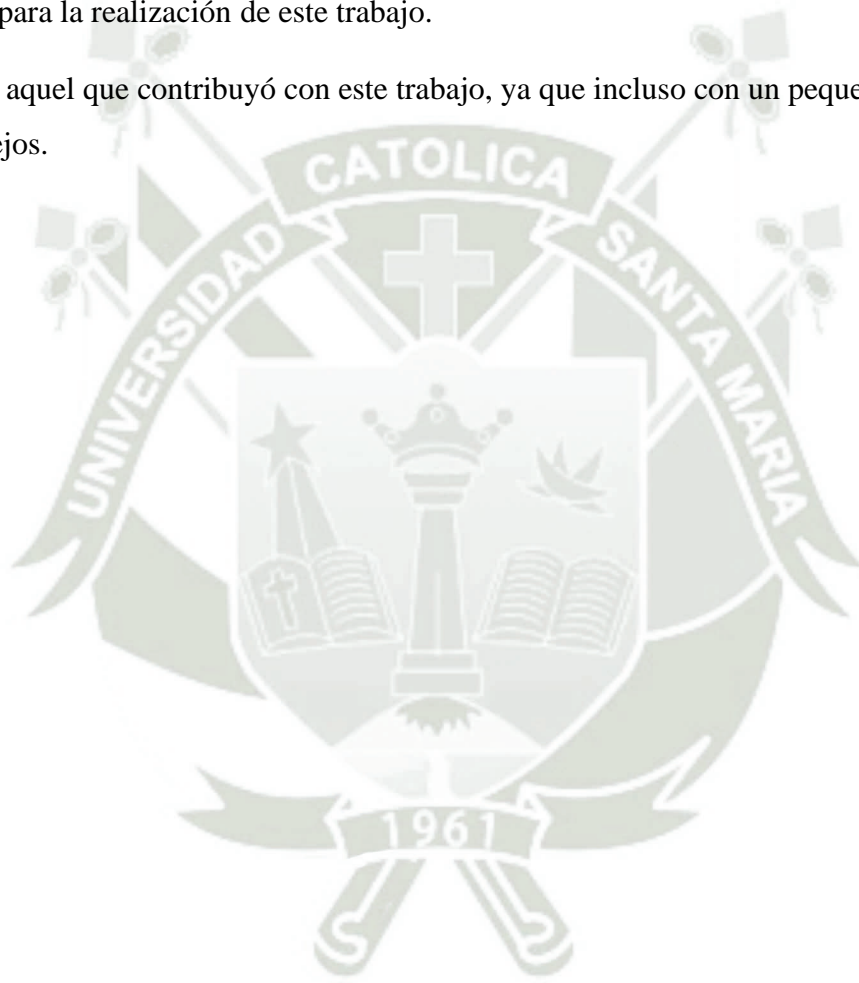
AGRADECIMIENTO

Agradezco principalmente a la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, ya que de no haberla cursado no podría haber llegado hasta aquí.

A mi Colegio San José, donde siempre se me inculco el " Ser más para servir mejor".

A mi asesor el Doctor Fernando Fernández, que confió plenamente en mi capacidad y resiliencia, también a todos los Colegas Veterinarios y profesionales afines que dieron su aporte para la realización de este trabajo.

A todo aquel que contribuyó con este trabajo, ya que incluso con un pequeño aporte se llega lejos.



RESUMEN

El objetivo principal de este trabajo de investigación fue el desarrollo y elaboración de una prueba de aglutinación en Látex modificada para hidatidosis bovina, para lo cual se adaptó el método anteriormente utilizado, pero con pequeños cambios, como la ausencia de liofilización. Dado que representaba un coste extra y el acceso a dicho procedimiento era muy complicado.

Se obtuvieron muestras de suero bovino sospechoso de ser portador de la enfermedad, de las cuales solo se seleccionó a toda muestra perteneciente a bovinos que presentaban quistes hidatídicos tanto en Pulmón como en Hígado y se les consideró positivas a la enfermedad, asimismo, se extrajo líquido hidatídico de los quistes en forma aséptica, lo que sirvió como material antigénico en pro de la elaboración de nuestro antígeno hidatídico.

Ya elaborado nuestro antígeno, el mismo se sometió a 34 pruebas de aglutinación a distintos sueros bovinos, de los cuales 24 eran confirmados positivos y 10 confirmados negativos, con resultados de 21 positivos de 24, y 10 negativos de 10 negativos. Se realizó el cálculo de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo con resultados de 100%, 76.92%, 0.875 y 1 respectivamente. Lo que sugiere que es posible lograrla aglutinación en sueros positivos a Hidatidosis, además se sugiere que esta prueba podrá ser utilizada a futuro como alternativa diagnóstica de la enfermedad Hidatídica, con la finalidad de establecer medidas de control y prevención de esta enfermedad.

Palabras clave: Hidatidosis, Aglutinación, Látex, Sensibilidad, Especificidad

ABSTRACT

The main objective of this research work was the development and elaboration of a modified Latex Agglutination test for bovine hydatidosis, for which the previously used method was adapted, but with small changes, such as the absence of freeze-drying. Since it represented an extra cost and access to that procedure was very complicated.

Samples of bovine serum suspected of being a carrier of the disease were obtained, from which only all samples belonging to cattle that had hydatid cysts in both the lung and liver were selected and they were considered positive for the disease, likewise, hydatid fluid was extracted from the cysts in an aseptic form, which served as an antigenic material for the elaboration of our hydatid antigen test.

Once our antigen has been developed, it underwent 34 agglutination tests on different bovine serums, of which 24 were confirmed positive and 10 confirmed negatives, with results of 21 positive of 24 and 10 negative of 10 negatives. The calculation of sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value was performed with results of 100%, 76.92%, 0.875 and 1 respectively. What suggests that it is possible to achieve agglutination in Hydatid positive serums, it is also suggested that this test may be used in the future as a diagnostic alternative for the Hydatid disease, in order to establish control and prevention measures for this disease.

Keywords: Hydatidosis, Agglutination, Latex, Sensitivity, Specificity

ÍNDICE

DEDICATORIA	1
AGRADECIMIENTO.....	2
RESUMEN	3
ABSTRACT	4
INTRODUCCIÓN.....	7
CAPÍTULO I	8
1. PLANTEAMIENTO TEÓRICO	8
1.1 Determinación del problema.....	8
1.2. Enunciado del problema	9
1.3. Descripción del problema.....	9
1.4. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO.....	10
2. OBJETIVOS.....	12
3. MARCO TEÓRICO O CONCEPTUAL.....	13
3.1. ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO	13
.....	24
3.2. REVISIÓN DE ANTECEDENTES DE INVESTIGACIÓN	42
2.2.1. Análisis de Tesis.....	42
2.2.2. Análisis de trabajos de Investigación.....	44
4. HIPÓTESIS.....	46
CAPÍTULO II PLANTEAMIENTO OPERACIONAL	47
1. MATERIALES Y MÉTODOS.....	47
1.1. MATERIALES.....	47
1.1.1. Localización del trabajo.....	47
1.2.1. Materiales de laboratorio.....	47
1.2.2. Materiales de campo	48
1.2.3. Equipos y maquinarias	48
1.2.4. Otros materiales	49
2. CAMPO DE VERIFICACIÓN O EVALUACIÓN	49
2.1. Muestreo	49
2.2. Métodos de evaluación.....	50
3. ESTRATEGIAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	51
3.4. EVALUACIÓN ESTADÍSTICA.....	52
CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN	54

RESULTADOS	54
DISCUSIÓN.....	56
CONCLUSIONES	58
RECOMENDACIONES	59
REFERENCIAS	60
ANEXOS	64





INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO I

1. PLANTEAMIENTO TEÓRICO

1.1 Determinación del problema

La hidatidosis es una enfermedad que tiende a afectar al ganado bovino, ovino, porcino, seres humanos y otros mamíferos, está caracterizada por ser una enfermedad de carácter subclínico ya que no presenta síntomas aparentes, esta enfermedad cursa con formación de quistes hidatídicos en cualquier órgano, pero principalmente en los pulmones, hígado, riñones, e incluso se demostró su presencia en el bazo de algunos animales, y muy raramente el cerebro y páncreas, dichos quistes se observan en el momento de sacrificio del animal. La enfermedad provocada por la tenia *Echinococcus granulosus* y *Echinococcus multilocularis* según la ubicación de los quistes. (1) (2)

En la actualidad, ocurren grandes pérdidas económicas por parte de los criadores de ganado vacuno, dichas pérdidas se dan por decomiso de vísceras y carcasas al momento del beneficio en el Camal de Río Seco o Camal Metropolitano (SERMAMET). Por lo que se considera que la prevención de este decomiso es la medida ideal para evitar pérdidas económicas por parte de los ganaderos. La metodología utilizada es adaptar una prueba diagnóstica recientemente elaborada en medicina humana, la cual es el diagnóstico serológico que utiliza el principio de Seroaglutinación en placa. Es decir, un complejo entre antígeno y anticuerpo, en donde el antígeno es el látex y el anticuerpo es el que obtuvimos de las muestras sanguíneas al centrifugar y aislar el suero. (3) (Antayhua Anco, 2016)

Por lo que el siguiente trabajo se basa en la elaboración de un Antígeno de *Echinococcus Granulosus* y *Echinococcus multilocularis* con la finalidad de utilizarlo como una prueba de diagnóstico rápido, y de esta manera los ganaderos cuyo ganado está siendo afectado, podrán administrar tratamientos y medidas para evitar grandes pérdidas económicas que suponen el decomiso de carcasa y vísceras con quistes Hidatídicos. (4)

Las repercusiones económicas en lo que se refiere a animales cuyo fin es el abasto de alimento, se valora en el decomiso de órganos y carcasas, es importante tener en cuenta los costes derivados de la disminución en la producción animal. (5)

1.2. Enunciado del problema

ELABORACIÓN DE UN MEDIO DE DIAGNÓSTICO PARA HIDATIDOSIS BOVINA EN SUERO SANGUÍNEO, MEDIANTE PARTÍCULAS ANTIGÉNICAS Y NANO-PERLAS DE LÁTEX

1.3. Descripción del problema

La hidatidosis o equinococosis, afecta a gran parte del ganado bovino en la ciudad de Arequipa y a también a nivel Perú, causando grandes pérdidas económicas por el decomiso de vísceras dañadas por los quistes hidatídicos. Además de esto, realizar un diagnóstico temprano de la enfermedad es difícil sino imposible debido al carácter subclínico de la enfermedad, esto conjunto al elevado coste de medios diagnósticos como ELISA, PCR, y la incapacidad de poderse realizar un diagnóstico imagenológico adecuado, por la dificultad de realizarse el procedimiento por el hecho de que muy pocos Médicos Veterinarios poseen la maquinaria de rayos x, y ultrasonografía para trabajo de campo. Realizar un correcto diagnóstico temprano solo se remite al diagnóstico clínico, obteniendo un diagnóstico presuntivo más no el definitivo. (4)

En animales domésticos, la hidatidosis es una enfermedad que se tornará mortal de romperse un Quiste lo que desencadenará una reacción anafiláctica masiva, reacción que es difícil de controlar debido al poco conocimiento del tema por parte del ganadero dueño de los animales afectados y sus ayudantes.

En el ámbito de la producción cárnica, se verá afectada con descenso en los índices de conversión alimenticia que se traduce en disminución del peso de carcasa, y en cuanto a los descensos en la producción de leche la composición de esta estará modificada disminuyendo su proporción de caseína, grasas, lactosa y se elevarán los cloruros. (5)

Otra problemática es la mortalidad que esta enfermedad produce, al romperse uno o varios quistes hidatídicos y la posterior mortandad producida por una reacción anafiláctica, así mismo según estudios de prevalencia en el departamento de Arequipa se determinó que de 170 muestras de canes en zonas rurales como de zonas urbanas, 2 de estas eran positivas a *Echinococcus granulosus*. (6)

En algunas zonas del Perú, donde la enfermedad Hidatídica es endémica, es poco viable la implementación de pruebas como Inmunofluorescencia Indirecta, ELISA o Inmunoblot, ya

que los laboratorios no cuentan con la maquinaria y recursos para la realización de dichos procedimientos. (7)

Dada la naturaleza subclínica de la enfermedad (Hidatidosis), se producirán elevadas pérdidas económicas, esto por la disminución los índices productivos, a los que no se les atribuye una causa y origen específico, lo que impedirá la óptima manifestación de fenotipos e índices productivos, y todo esto por el daño a los órganos internos que albergan los quistes, siendo principalmente el pulmón e hígado (órgano importante tanto en la regulación del metabolismo animal, y que repercute en la producción láctea y cárnica).

La presencia de dicha enfermedad en animales consumidos por el ser humano representa un gran problema o riesgo para la salud pública, además de las grandes pérdidas económicas al país, ya que se invierte bastante dinero en el tratamiento de la hidatidosis humana.

1.4. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

1.4.1. Aspecto General

Este trabajo de investigación tiene como finalidad, la elaboración de un rápido diagnóstico por medio del principio de seroaglutinación, que de esta manera nos permita establecer medidas de prevención, control y erradicación de la hidatidosis animal, como también humana.

1.4.2. Aspecto Tecnológico

La salud pública y medicina en general requiere de nuevas modalidades profilácticas, ya que, para realmente atacar el núcleo del problema, debemos diagnosticar la enfermedad en bovinos y ovinos, algo que anteriormente se complicaba dadas las pocas alternativas diagnósticas a las que se tiene acceso en sistemas de producción bovina y ovina.

Para lo cual, es necesaria la implementación de una nueva alternativa diagnóstica, de rápido resultado que así mismo detecte a tiempo animales enfermos positivos a dicha enfermedad, lo que producirá una significativa disminución de la incidencia de la enfermedad, ya que se complementará y sería eslabón clave en las políticas de prevención, control y erradicación de la enfermedad.

1.4.3. Aspecto Social

Aspecto muy importante dado el potencial zoonótico de la enfermedad, aunado al riesgo latente de las personas que laboran en los camales o centros de beneficio y propietarios del ganado enfermo, además de la población consumidora de vísceras infectadas.

1.4.4. Aspecto económico

La Hidatidosis o enfermedad hidatídica tiende a generar grandes pérdidas económicas principalmente por parte de los criadores, dadas las pérdidas en leche, así como las pérdidas en peso en animales de engorde, lo que se traduce en una crianza de menor rentabilidad.

Se es sabido que todo órgano infestado con quistes es decomisado como medida de control y profilaxis, por lo que estos necesitan ser debidamente eliminados y esto significa costes adicionales, además no es posible vender ningún órgano infestado de quistes por el riesgo latente que representa.

En cuanto a la infestación en seres humanos, el tratamiento muchas veces tardío por su naturaleza subclínica, significa grandes costos en tratamientos farmacológicos como quirúrgicos. Aunado a los planes de control y erradicación.

1.4.5. Importancia

Este trabajo es importante tanto para la salud pública, como para el sector productivo, aportando con un diagnóstico oportuno que nos permitirá administrar una terapéutica adecuada enfocada a evitar el contagio de la enfermedad, así mismo que nos permitiría realizar una vigilancia epidemiológica, de esta manera saber que zonas presentan mayores índices de incidencia de la enfermedad, lo que le facilitará a entidades del estado como el SENASA establecer adecuadas medidas de prevención, control y erradicación.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos generales

- Elaborar un medio diagnóstico que nos permita identificar bovinos in vivo, infectados con el parásito *Equinococcus granulosus*, bajo el principio de aglutinación modificado.

2.2. Objetivos específicos

- Realizar la sensibilización de nuestro antígeno en perlas de Látex, lo que nos permitirá dar un diagnóstico rápido y oportuno de la enfermedad hidatídica en ganado bovino mediante el método de aglutinación modificado.
- Determinar la sensibilidad y especificidad del medio diagnóstico modificado para el diagnóstico de Hidatidosis.

3. MARCO TEÓRICO O CONCEPTUAL

3.1. ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO

HIDATIDOSIS:

Los términos hidatidosis y equinococosis se utilizan indistintamente para describir a la enfermedad zoonótica producida por los cestodos del género *Echinococcus*, si bien el primer término se refiere a la enfermedad producida en la fase larvaria del parásito en los hospedadores intermediarios. Se denomina equinococosis a la infección del hospedero definitivo por el cestodo adulto. (5)

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA E IMPORTANCIA ECONÓMICA Y SANITARIA

La hidatidosis es considerada una *ciclozoonosis* presente en todo el mundo, esta enfermedad está extendida desde el norte del círculo ártico hasta la tierra de fuego, está muy asociada con la actividad ganadera de crianza extensiva o animales hacinados con infraestructura cuyo control sanitario es deficientes, normalmente asociadas a un bajo nivel socioeconómico además de la ausencia de educación sanitaria. (5)

Alcanza una elevada incidencia en países de América del Sur, pero el Perú es probable que sea actualmente la nación con mayores índices de incidencia y prevalencia de Hidatidosis; se reportaron en el hombre tasas de hasta 113.07 por cada 100.000 habitantes (Pasco) y 49.85 por cada 100.000 habitantes (Huancavelica). En animales beneficiados se alcanzan porcentajes de hasta un 87% en provincias de Junín, y 73% en la provincia de Melgar (Puno). (8)

La prevalencia en perros alcanza índices de hasta 70%.. En el Perú, la hidatidosis está limitada a la región de la sierra central y el sur, donde se encuentra el medio ambiente necesario que favorezca la crianza ovina y en la que además se da la presencia del perro en calidad de "pastor" del ganado. (8)

Se considera que una alta prevalencia e incidencia de casos se da en lugares de crianza de ganado ovino y bovino, además del elevado número de perros, en los alrededores de sitios de crianza, e incluso dentro de los propios sitios de crianza estos son especialmente perros vagabundos o de la calle". Este padecimiento es de importancia tanto sanitaria como social y económica. Su importancia se relaciona tanto con el índice de mortalidad humana y animal,

sino que también por decrecimiento o pérdida del rendimiento productivo y laboral en casos de hidatidosis humana. (5)

IMPACTO SOCIOECONÓMICO NIVEL PERÚ

La enfermedad de equinocosis quística causada por el cestodo *Equinococcus granulosus*, representa una problemática para el sector salud en el Perú. A pesar de la alta tasa de prevalencia en comunidades donde la enfermedad es endémica, no se han realizado estudios que tengan como fin estimar el impacto económico de la Equinocosis Quística en la sociedad peruana. (9) Por lo que se utilizaron fuentes oficiales de información epidemiológica y económica para estimar los costes directos e indirectos que se asocian con las pérdidas en producción del ganado, y enfermedad humana. (9)

Se encontró que el costo total estimado de pérdidas económicas por Equinocosis Quística humana fue de US \$ 2, 420,348 anualmente, y en cuanto al ganado se dieron cifras que van desde US \$196,681 A US \$ 3,846,754, la base de este estudio fue demostrar la gran cantidad de pérdidas para establecer medidas control y prevención de la enfermedad. (9)

Las pérdidas en cuanto a ganado se dan por el decomiso de vísceras y carcasas, además de disminuir los índices productivos, en cuanto al ser humano las pérdidas se refieren a los gastos que significan tratar esta enfermedad.

ETIOLOGÍA:

La Hidatidosis o también llamada la equinocosis quística, tiene su origen del parásito *Echinococcus granulosus*, el cual taxonómicamente hablando se le considera un complejo multi especie denominado *E. granulosus sensu lato*(s.l.). A este complejo la conforman varias especies de *E. granulosus* como: *E. granulosus sensu stricto* (s.s.) (genotipos G1, G2, G3), *E. equinus* (genotipo G4). *E. ortleppi* (genotipo G5), *E. canadensis* (genotipos G6/G7/G8/G9/G10) y *E. felidis* (cepa león). El *E. granulosus s.s.* (genotipo G1), se distribuye en todo el mundo y es la causa del 80 % de casos de Hidatidosis Humana. (10) (11)

Clasificación taxonómica de *Echinococcus granulosus* :**Phylum:** Platyhelminthes**Clase:** Cestoda**Orden:** Cyclophyllidea**Familia:** Taeniidae**Género:** *Echinococcus*

(12)

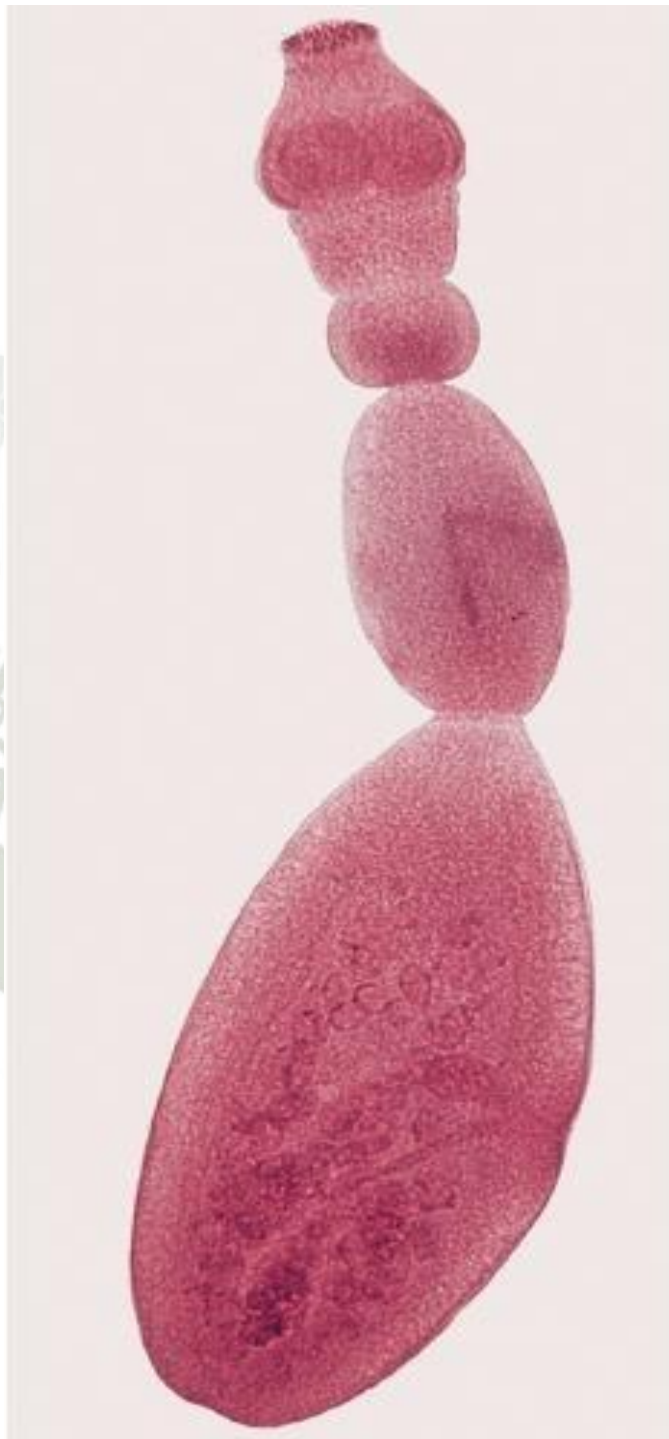
Existen 4 especies de este género: *E. granulosus*, *E. multilocularis*, *E. oligarthrus* y *E. vogeli* (13); causante de la Equinococosis quística en el ser humano, además de la Equinococosis alveolar, siendo los dos últimos causantes de equinococosis poliquística. En el Perú se encuentra únicamente *E. granulosus*. (14) (15)

En épocas pasadas se observó una variabilidad genotípica y genética, donde se logró identificar varias cepas (Pearson, 2002). Actualmente se reconocieron 9 cepas las cuales son: Ovina (G1), Ovina de Tasmania (G2), Equina (G4), Bovina (G5), Camélidos (G6), Porcina (G7), Cérvidos(G8), León y Lagomorfo (16) (17) (15) la cepa ovina (G1) sobrevive gracias a que perpetúa su ciclo vital en los que participan el perro y la oveja, suele infectar también a humanos, cabras, vacas, camellos, búfalos, y suinos (hospederos intermedios) como a zorros y otros de la familia de los cánidos (hospederos definitivos). (16)

Podemos encontrarla en América del Norte, Centroamérica, Sudamérica, Asia, Australia, Europa. África (18). Se detectó otra cepa ovina secundaria en Tasmania. Esta cepa descubierta, difiere respecto a la morfología de la cepa 1, habiendo un acortamiento significativo del período patente en perros, al compararse con la cepa ovina G1 (18) (15)

Figura 1. *Echinococcus granulosus*.

Imagen completa de la tenia.

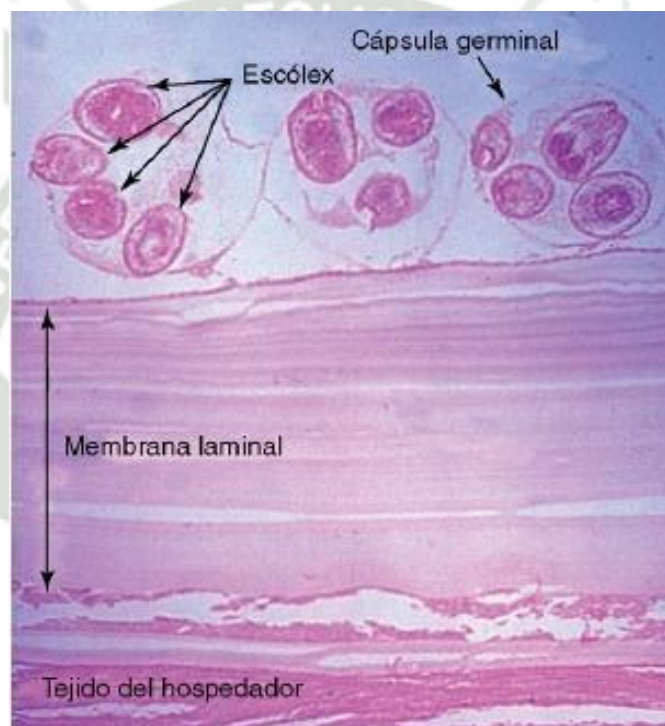


Tomado de Bowman, 2011. (19)

CICLO EVOLUTIVO:

El ciclo biológico de los gusanos taeniformes, involucra a mamíferos carnívoros como hospederos definitivos, y mamíferos herbívoros/omnívoros como hospederos intermediarios. Los estados larvarios en etapa adulta o estrobilar, tienden a vivir dentro del duodeno o yeyuno y su tamaño puede variar según la especie afectada, el tamaño del *Echinococcus multilocularis* oscila entre 1.2 a 3 a 7 mm de largo. (5)(10)

Figura 2. Histopatología. Quiste Hidatídico de *Echinococcus granulosus* con tres cápsulas germinales, cada una tiene en su interior tres o más protoescólex.



Tomado de Bowman, 2011.(19)

El cuerpo es segmentado y tiende a tener hasta 4 proglótidos llamados también unidades reproductivas. En cada proglótido maduro puede haber hasta 587 huevos fértiles en promedio, se estimó que los proglótidos maduros o denominados gravidos se producen y se expulsan junto con los desechos fecales cada 15 días, en un promedio de 0.071 proglótidos por día, por cada Tenia, siendo el número de Tenias algo más variable. Los caninos pueden llegar a ser portadores de cientos de *Echinococcus granulosus*, y no presentar sintomatologías o síndromes aparentes. (10)

La Tenia adulta se reproduce sexualmente y sus huevos pasan a las heces de su hospedador.

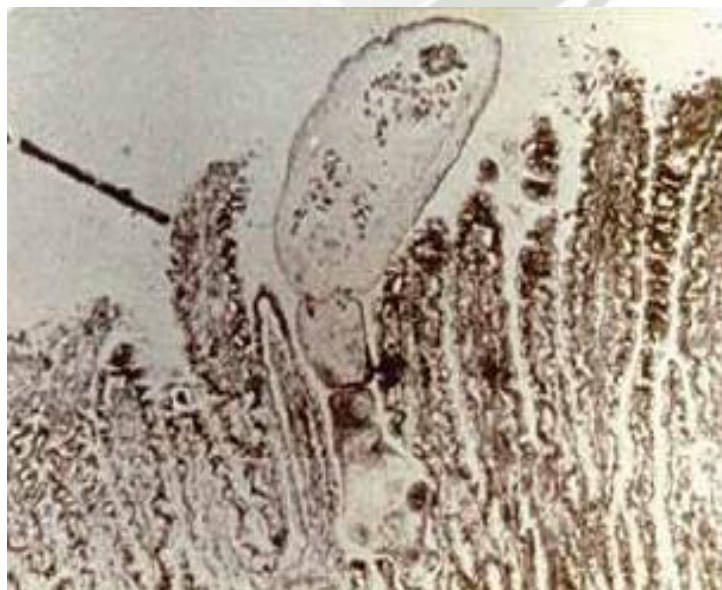
Los huevos son de características ovoideas en cuyo interior se encuentra un embrión hexacanto o también llamado oncosfera (primer estadio larval). (10) (5)

Figura 3. Protoescólex Obtenidos de un quiste hidatídico por *Echinococcus granulosus*. En la Izquierda esta invaginado en su capsula oval y en la derecha esta evaginado.



Tomado de Bowman, 2011. (19)

Figura 4. Histopatología. Se observa una larva adulta de *Echinococcus granulosus* adherido a la mucosa del perro.



Tomado de Bowman, 2011. (10)

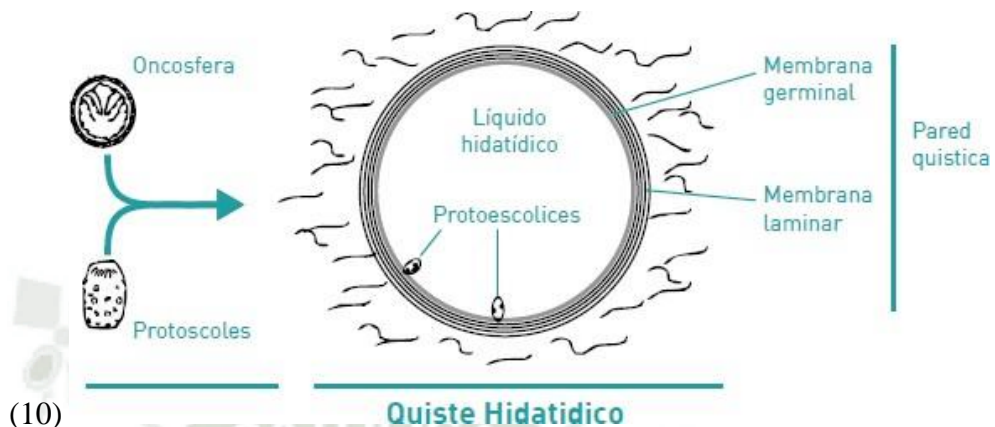
Estos huevos tienen una larga supervivencia en el medio ambiente, sobre todo cabe recalcar que su supervivencia es dependiente de la temperatura, sobreviviendo hasta 294 días a 7° C, 28 días a 21° C y hasta 10 minutos entre 60° a 100° C. (10)

Dichas heces son consumidas por su hospedero intermediario (Bovinos, Ovinos), al consumir alimento con contaminación fecal (huevos embrionados presentes en heces y estróbilos). (5) (20) (10)

Los huevos con tamaños de 30 a 50 μm /22-44 μm , eclosionan dentro del intestino delgado del hospedero intermediario, dicha eclosión es ayudada por enzimas digestivas proteolíticas específicas, posterior a la eclosión se libera una oncosfera o que penetra la mucosa intestinal evaginándola con tres pares de glándulas y ganchos de penetración (estas glándulas producen lisis en los tejidos y la protegerán de las enzimas digestivas del hospedador), gracias a su movimiento en forma rítmica de su cuerpo, estas penetran en el interior críptico de las miles de vellosidades yeyunales e íleacas superior, que llega hasta a un pequeño vaso sanguíneo y vaso linfático, desde donde llegan lentamente instalándose o fijándose en un punto en el cuerpo que puede ser el hígado, el pulmón, bazo, y otros órganos (Tratándose de *E. granulosus*), en el órgano donde se fije la oncosfera, pueden ocurrir tres situaciones: la primera es su destrucción por la reacción celular, la segunda es su muerte repentina o que inicien su transformación a un quiste hidatídico. Las oncosferas suelen quedar aisladas o retenidas en el hígado, otras se instalan en el pulmón pasando previamente por el hígado, y muy raramente se localizan en bazo, tejido muscular, riñones, hueso, cerebro, etc. (5) (20) Su ubicación se relaciona con la anatomía y fisiología del hospedero, así mismo influye la especie y la cepa parasitaria. (5) (20)

Llegado el cuarto día luego de instalarse en el tejido, los embriones hexacantos (Oncosferas o primer estado larval) tienden a medir 40 μm y van formando un agujero o cavidad en el interior del parénquima o masa del órgano afectado. En 10 a 14 días post infección se reorganizan por medio de proliferación celular, degeneración de los ganchos, atrofia muscular, vesiculización y para concluir se forma de una cavidad o agujero central, además del desarrollo de las capas germinativa y laminar, dando forma y lugar al quiste hidatídico o metacestodo. (5) (10)

Figura 5. Estructura del Quiste hidatídico.



Arezo, 2017. (10)

El metacestodo de *E. granulosus* es típicamente un quiste unilocular es decir se localiza en una sola parte del órgano, además de presentar forma sub-esférica. Crece en forma concéntrica y expansiva entre 1 a 5 cm anualmente, siendo dependiente de la cepa, especie de hospedero y gravedad de la infección. Su crecimiento se efectúa muy pausadamente y recién al 5to mes empieza a tener una conformación esférica, suele medir 1 cm de diámetro además de que se distinguen dos envolturas en su pared. Una vez llegado a este momento, el crecimiento es más apresurado, y hacia el séptimo y octavo mes ya habrá adquirido un tamaño variable y puede permanecer en promedio hasta media década (50 años) en el ser humano. (5)

El metacestodo de *E. multilocularis* suele ser multivesicular, cuya estructura tiende a infiltrarse en los tejidos, la adventicia se forma a expensas del hospedador, se constituye por pequeñas esferas recubiertas en su totalidad por un estroma fibroso de tejido conectivo en base al colágeno. (5)

Las larvas están contenidas en una matriz semisólida siendo su proliferación endógena y exógena, lo cual es atribuible a las células indiferenciadas de la membrana germinativa que son responsables del crecimiento de tipo infiltrante. (5)

Los quistes están conformados por tres capas o membranas: adventicia, laminar y germinal. (5)

La adventicia es de tejido conectivo fibroso y se constituye por tres estratos o capas que se forman como resultado de la respuesta inmune del hospedero en el inicio de la formación o desarrollo de la oncosfera. (5)

La capa íntima está conformada por macrófagos, funciona evitando el pasaje de linfocitos y macrófagos, además de actuar como obstáculo o barrera a compuestos que derivan del metabolismo del parásito, que también tiene tiende a modular el sistema inmune del hospedero. (5)

Seguido de la íntima, se dispone una zona de tejido fibroso, con abundantes fibras de colageno y fibroblastos, por último, un estrato o capa conformado por el parénquima del órgano. (5)

La capa laminar es característica de la vesícula hidatídica, pluriestratificada, procedente de la capa germinal y otorga protección al quiste de la respuesta inmune del hospedero, cave recalcar que si es permeable a inmunoglobulinas dado el minúsculo tamaño de las mismas. El interior del quiste o vesícula está revestido por la membrana germinativa en cuya zona más externa se forman unas prolongaciones tegumentarias llamadas microtriquias truncadas, las cuales se introducen en forma oblicua en la superficie de la capa o membrana laminar, además de estar recubiertas por una unidad de membrana llamada plasmática. (5)

Ya al 5to mes se formarán vesículas prolíferas mediante una reproducción por gemación de la capa o membrana germinativa. En un inicio son pequeñas estructuras nucleares semejantes a una yema que tienden a proliferar hacia el interior de su cavidad, crecen, se vacuolizan, y quedan unidas a la capa germinal por un pequeño pedúnculo. En el interior se da la llamada reproducción asexual por gemación y dando cabida a la neoformación de miles de protoescólex, los cuales aparecerán a los 16 meses post infección en ganado ovino, y a los 10 a 12 meses en suinos. (5)

Figura 6. Histopatología de un Quiste Hidatídico. Se puede observar la capa adventicia, la laminar, germinativa y las vesículas prolíferas con escólex en su interior.



Tomado de Werner, 2013. (21)

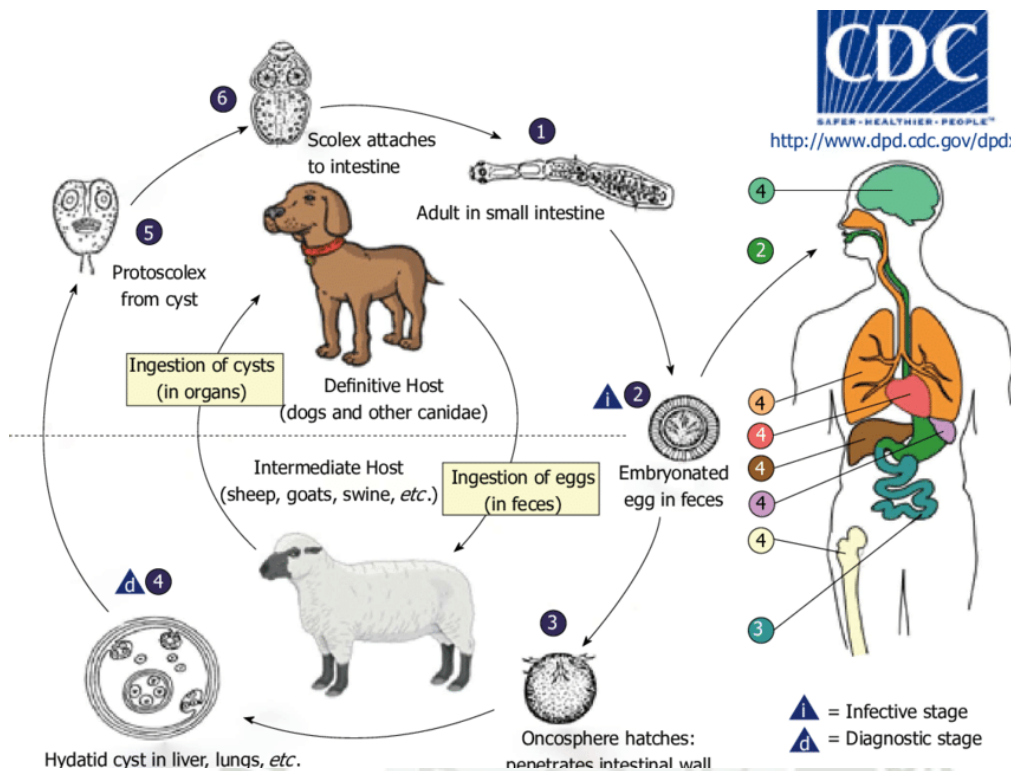
Los quistes hidatídicos con ausencia de protoescólex reciben el nombre de acefaloquistes o quistes estériles. El origen de los quistes estériles puede deberse a que sean quistes demasiado jóvenes y que estos todavía se están desarrollando en hospederos inadecuados. Asimismo, los quistes hidatídicos fértiles o con protoescólex superan en tamaño a los estériles, lo que significa que los quistes fértiles crecen más rápido que los infértiles. (5)

Los quistes fértiles contienen Protoescólex vivos en el líquido hidatídico y la membrana germinativa, a los protoescólex vistos en forma macroscópica se les denomina renilla hidatídica. Ciertos quistes tienden a ser hiperfértiles y pueden contener numerosas vesículas hijas exógenas que suelen formarse en la zona perinuclear y se transportan continuamente hacia la periferia, donde contribuye a la formación de los tegumentos sincitiales. (5)

Al separarse de su membrana germinativa los protoescólex están en forma infectiva y conservando sus capacidades evolutivas, pudiendo vesiculizarse y sintetizar en su periferia una capa laminada cuticular y en sus estructuras o membranas internas los elementos germinativos que, asimismo forman el líquido hidatídico. (5)

La vesiculización exógena se encuentra ligada a diversos factores extrínsecos del parásito, así como a la especie hospedero y el parénquima del órgano infestado por el cestodo *Equinococcus granulosus*, habiendo mayor frecuencia de la enfermedad en el ser humano respecto a otros hospederos intermediarios o secundarios. Los huevos embrionados suelen poseer un doble origen, es decir, un origen normal exógeno a partir de la membrana germinativa o proliferativa de la vesícula original, el otro origen deriva netamente de la liberación de los huevos embrionados o vesículas hijas luego de la ruptura del quiste por acción traumática (5)

Figura 7. Ciclo Evolutivo de *Echinococcus granulosus*.



Tomado de Center of DiseaseControl and Prevention, 2022. (22)

EPIDEMIOLOGÍA:

Factores de riesgo

Se refiere a las múltiples causas que provocan que un hospedero intermediario tienda desarrollar la enfermedad, las cuales son: lugar de residencia (zonas rurales), convivencia con perros, contacto con perros, matanza o beneficio clandestino de animales, ganadería, grupo étnico, falta de higiene del hombre, y perros que se alimentan con vísceras crudas. (23) (24)

Pérdidas económicas

Según datos del Año 2008 se estimó que anualmente se producen pérdidas económicas que llegan a US\$ 145 millones en los países del Cono Sur y a US\$ 178 millones en Perú. Se encuentra que los índices de prevalencia en Perú son bastante elevados, oscilando entre 40 a 70 casos por cada 100.000 habitantes, en canes se encuentra en el 70% y el 90% se encuentra en ganado ovino del altiplano del Perú, afecta en primer lugar a las regiones dedicadas a la ganadería de la Sierra Central y Sur. El impacto económico es diverso, recalando el más

importante el cual es el elevado costo del tratamiento médico en los casos de hidatidosis en el hombre (25).

Distribución y ocurrencia en Sudamérica:

En los años de 2009 a diciembre de 2014, se reportaron alrededor de 29556 casos de Equinocosis Quística en 5 países (Perú, Uruguay, Argentina, Brasil y Chile), con tasas de incidencia que van de 0.012 a 13 por cada 100000 habitantes. Se considera que la casuística es mayor dado que existe una Sub-Notificación o no reporte de los casos de hidatidosis además de la sub-Notificación de otras enfermedades. (10)

En algunas áreas donde la Hidatidosis es endémica, esta puede alcanzar 2500 casos por cada 100000 habitantes, y si se toma en cuenta a los portadores asintomáticos los números ascienden a 10000 por cada 100000 habitantes. (10) Se estimó que el índice de letalidad medio fue de 2.9% (Periodo de 2009 a 2014) para las 5 naciones que pertenecen a la Iniciativa Subregional para el control de la Equinocosis Quística, habiendo más de 800 muertes por hidatidosis. (10) En territorio peruano, la incidencia es mayor en la sierra del sur y centro del país, en departamentos como Arequipa, Cusco, Huancavelica, Junín, Pasco y Puno. (10)

Figura 8: Departamentos del Perú endémicos a Hidatidosis.



Almeida, 2007. (26)

Figura 9: Incidencia de Hidatidosis en Sudamérica. La enfermedad está presente en Argentina, Brasil, Chile, Perú, y Uruguay según región.



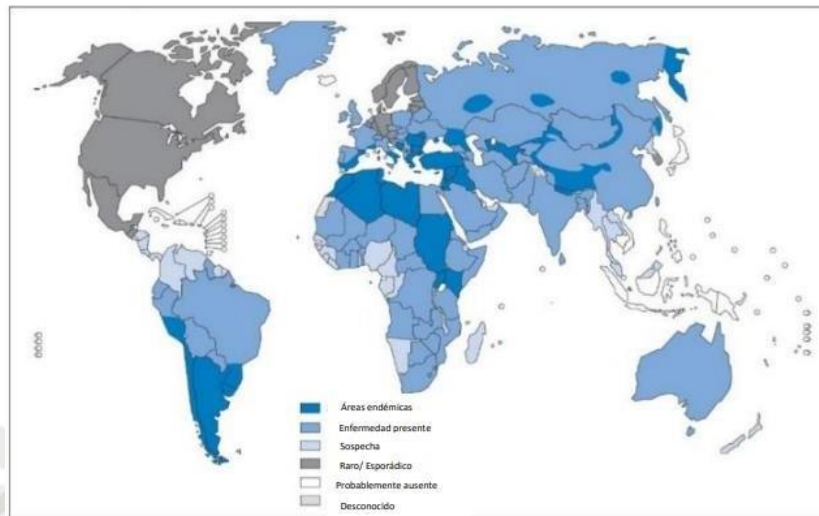
Tomado de Arezo, 2017. (10)

Distribución y ocurrencia en el Mundo

La infección producida por la Tenia *Echinococcus granulosus*, se trata de una infección cosmopolita, que predomina en países de Centroamérica y Sudamérica, Europa, África y Asia (27). No se han realizado estudios descriptivos globales sobre la situación general de la enfermedad, debido a falta de buena documentación y registros. Una nueva investigación muestra que la tenia *E. granulosus* es conocida por manifestarse en América, Europa, África, Asia y Oceanía y estar presente en al menos 100 países (28), con la excepción de países como Irlanda, Groenlandia e Islandia (29)

En Perú, en los departamentos de Junín, Arequipa, Cusco y Puno la enfermedad se ha encontrado en ovinos, bovinos, caprinos, porcinos y camélidos sudamericanos andinos (14).

Figura 10: Distribución mundial de la enfermedad Hídática causada por *Echinococcus granulosus*.



Tomado de Heracles, 2018 (30)

HIDATIDOSIS EN ANIMALES:

Hospedadores definitivos:

En perros o caninos infestados por el cestodo *E. granulosus* en etapa adulta, no se logra apreciar sintomatología clínica aparente, asimismo no hay cambios patológicos observables en el exterior del animal afectado, incluso en animales con alta carga parasitaria no se observa ninguna alteración significativa (28); se presume que una infección masiva podría desencadenar enteritis en caninos (31).

Hospedadores intermediarios:

La infección de hospederos intermediarios se adquiere gracias a que estos ingieren en forma oral los huevos infectados, encontrados en gran presencia en las pasturas, las que son consumidas por ellos mismos como alimento, se libera la oncosfera previamente liberada por acción enzimática del intestino del Hospedero Intermediario, ingresa en la pared del intestino y se transporta por vía sanguínea hacia el Hígado y otros órganos (32).

La cantidad o número de quistes van desde uno a varios, con un contenido de fluido transparente y claro, estos quistes se localizan más en pulmones e hígado, también se le encuentra en otros órganos internos como cerebro, bazo y riñones (33).

Los quistes ubicados en Hígado, Pulmones y hasta cerebro, tienden a crecer lentamente sobre el parénquima del órgano en cuestión, causando compresión en él (1). Los síntomas generalmente se deben a la presencia obstructiva del quiste en parénquima del órgano infestado (34) (35), sin embargo, no se ha precisado una sintomatología clínica definida (31). La infección es casi siempre asintomática, a excepción de unos 20 enfermos infectados con quistes que permanecieron largo tiempo o son poseedores de elevado cargamento parasitario (28).

Se dificulta el diagnóstico clínico de la enfermedad en un animal enfermo de Hidatidosis, ya que no se sospecha la presencia de quistes hidatídicos como entidad clínica (36). Por la característica de las infecciones de en su mayoría no presentar síntomas, el diagnóstico confirmativo suele ser un descubrimiento post mortem (37)

El diagnóstico se realiza al momento del sacrificio del animal en mataderos o al momento de la necropsia o beneficio (38). La forma más sencilla de diagnosticar Hidatidosis en bovinos y otros animales, es realizando el examen post mortem o necropsia en centros de beneficio o camales (31).

En Perú, los hospederos intermediarios de la Tenia *Echinococcus granulosus* principalmente son rumiantes como ovinos, bovinos, caprinos, omnívoros como porcinos y camélidos sudamericanos andinos (llama, alpaca y vicuña). Ganado que pertenece generalmente a la sierra del País. (24).

Se reportó mermas en el peso del animal, con disminución de 2,5% en el peso total de carcasa en ovinos. (25) (39). Esta enfermedad es más frecuente en ganado ovino, respecto al ganado bovino, con datos de prevalencia que indican que en ovinos es del 89% y en los bovinos de 80% (40). En los ovinos, alrededor de un 70% de los quistes crecen y se van desarrollando en los pulmones, un 25% en el hígado y los restantes en otros órganos (36).

Los animales más viejos suelen estar más afectados por los parásitos y presentan quistes de mayor tamaño y número al ser comparados con animales más jóvenes; según los estudios de prevalencia en ovinos, las hembras suelen estar más parasitadas, lo que se debe a la inmunosupresión producida fisiológicamente al momento del parto. (5) Se reportaron mermas producidas por la E. quística, que disminuyen en un 2.5% en canal ovina y 11% del total de terneros nacidos (41).

INMUNIDAD:**INTERACCIÓN DEL *E. GRANULOSUS* CON EL COMPLEMENTO (A.M. Ferreira, 2000)**

Durante la infección temprana, el parásito tiende a activar el sistema del complemento, por lo tanto, se determinó que es una infección que interactúa con el complemento. (42)

Pero en el momento de la formación del quiste hidatídico, el parásito forma una pared, capa o también llamado muro quístico, el cual genera una no muy potenciada reacción del complemento ante el antígeno de la pared del quiste. (42)

Se sabe que la forma en la que se infectan los hospederos secundarios es el resultado de la ingestión de huevos u oncosferas (presentes en las heces de perros, que al liberar oncosferas al eclosionar que previamente fueron digeridos por enzimas). (42) (5) Luego los protoescólex, pueden generar un desarrollo inverso y volverse quistes en el organismo del hospedero secundario, a esto se le llama infección secundaria, debido a que la primaria es por huevos (embriones hexacantos). (42)

La característica más importante en la relación huésped parásito, es la presencia de la pared o muro quístico, sintetizado por el parásito, el cual es multilaminado, le confiere protección y lo aísla de las células y tejidos del hospedero. (42)

El complemento al ser un efector de la respuesta inmune tanto natural como de memoria o adaptativa, tiene el suficiente potencial para interactuar opsonizando al parásito y dañarlo en ambas fases de la infección (Infección Primaria y Secundaria). Incluso es capaz de actuar cuando el quiste ya está establecido ya que la membrana laminada o muro quístico es permeable a macromoléculas. Por lo que el tegumento sincitial de la capa germinal es permanentemente expuesto a niveles del complemento no diferentes al de líquido extracelular. (42)

En ensayos in vitro se demostró que en etapas infecciosas del *Equinococcus granulosus*, este es susceptible a la lisis mediada por el complemento, comparada a otra muestra con la que se le quito el complemento y se demostró que no hubo destrucción o lisis del Parásito. (42)

Las vías de activación del complemento que están implicadas en la destrucción o lisis parasitaria aún no están demostradas. Pero lo que sí se determinó, es que, a mayor cantidad de anticuerpos, la lisis es más efectiva por medio de activación de la vía clásica del complemento que asimismo es mediada por anticuerpos. (42)

Las formas infectivas son susceptibles a la lisis o destrucción mediada por el complemento, también llamado complejo de ataque a membrana. (42) (3)

En Base a esto podemos estimar que si habrá reacción de unión Antígeno-Anticuerpo (siendo el antígeno sintetizado a partir de restos de *E. granulosus* de quistes obtenidos de ovinos y perlas de látex), al mezclar nuestro Antígeno en Látex con el Suero Bovino u Ovino. Esta reacción observada in vitro se llevará a cabo por la unión entre Epítopo y Parátopo, de parásito y anticuerpo respectivamente. (7) (3)

ANTÍGENO DE ECHINOCOCCUS GRANULOSUS:

La proteína B antigénica de *Equinococcus Granulosus* (EgAgB), es una proteína de suma importancia la cual se puede obtener del fluido del quiste hidatídico, dicha proteína tiene importancia ya que es la que induce la respuesta inmune humoral, donde se producen anticuerpos contra dicho antígeno. Sabiendo esto dicha proteína (EgAgB), servirá de eslabón fundamental en la elaboración de nuestro antígeno en Perlas de Látex. (43)

Se determinó gracias a la prueba de PCR, donde se hacía la secuenciación de varios antígenos (EgAgB/1 y EgAgB/4) de EG, provenientes de distintos quistes, que si bien en varias partes de los genes G1 Y G6 había variación respecto al Antígeno 4(EgAgB/4), había mucha similitud en las estructuras terciarias de ambos Antígenos de Eg. (43)

Por lo que se consideró a ambos Antígenos como materia de investigación en la elaboración de una vacuna. (43)

Dichos antígenos, forman parte del total de proteínas del líquido Hidatídico, ya que son las que inducen la síntesis de anticuerpos por el sistema inmune del hospedero, además dado el carácter "crónico de la enfermedad" encontraremos en mayor medida anticuerpos de tipo IGG respecto a anticuerpos IGM. Las proteínas presentes en el Líquido Hidatídico actuarán como los antígenos que estarán unidas en las partículas de Látex luego de ser sometidas a centrifugación, dada su antigenicidad la formación de inmunocomplejos entre un suero problema y nuestro antígeno es muy probable que sea factible, por lo tanto, será posible observarse una reacción física, en nuestra prueba de aglutinación pasiva.

Epítopo y Parátopo de la reacción Antígeno / Anticuerpo:

En base a la elaboración de una vacuna contra el EG, se sabe que es necesario determinar la secuencia de aminoácidos que codifican el epítopo, se determinó que dicho epítopo es específico del EG, y sobre todo tiende a unirse a TCR y BCR, lo que significa que dicho

epítopo codificado es eslabón fundamental en la reacción antígeno-anticuerpo. Se sabe que el antígeno juega un rol de mucha importancia en la inmunización mediante vacunas. (44) Para obtener la secuenciación de ADN del *EG*, se realizó PCR, se colocó el ADN en electroforesis y solo se pudo leer hasta 500 pb (pares de bases) del GEN, lo que impedía que se identifique a totalidad el GEN que codifica el epítopo, por lo que se tuvo que someter a electroforesis varias veces el mismo ADN utilizando el método de pistola cerrada, luego con ayuda de software de computadora se conectaron las secuencias aleatorias al ADN. Dicho proceso permitió que se establezca la secuencia de ADN del epítopo con precisión. (44) Para otros tipos de equinococos se utilizó BLAST, FAST A y CLUSTAL para culminar dicho trabajo e identificar el epítopo codificado por el ADN de *EG*. (44)

Identificación o reconocimiento del sistema inmune del hospedero (45)

Para poder identificar el Antígeno primero fue necesario que este sea sometido a degradación para disminuir su tamaño en péptidos cortos. El Antígeno se hidroliza en proteosoma y el nuevo fragmento del péptido se une a una proteína TAP, lo que le ayuda a trasladarse a ER (Retículo Endoplasmático). (44) (45)

Ya en el ER la ya sintetizada microglobulina o en este caso el Parátopo se une al fragmento del péptido formándose el complejo antígeno-anticuerpo en este caso antígeno-MHC (Complejo mayor de histocompatibilidad), luego dicho complejo es llevado al aparato de Golgi y este expresara en la membrana plasmática para posteriormente ser reconocido por células TCD8. (44) (45)

Dicho antígeno se hidroliza en los lisosomas del linfocito T CD8, y se unió al MHC2(Complejo mayor de Histocompatibilidad de la célula CD8), lo que posteriormente generará que pueda este ser reconocido por células TCD4 debido a su expresión en la membrana celular. (44) (45)

Para realizar dicha predicción anteriormente esquematizada es necesario la obtención de buenas muestras del parásito o el epítopo para ser más exactos y la utilización de métodos bioinformáticos que permitan determinar casi a exactitud el epítopo, programas tales como PREDITOP, BEPITOPE, BcePred entre otros. (44) (45)

Esta forma de predecir el epítopo es la mejor debido a que logra una más "potente" inmunización del sujeto de prueba.

SIGNOS CLÍNICOS:

La sintomatología es variada, y muy dependiente de la ubicación de los quistes hidatídicos, con diferencias en cuanto al origen de estos, denominándose primitivos o secundarios, ocasionados por la ingestión de proglótides del parásito adulto (con un contenido de huevos o embriones hexacantos) o restos de huevos, y parásito en estado larvario respectivamente (metacestodo). (21)

En cualquier localización donde se ubique un quiste hidatídico o metacestodo, se originarán trastornos locales o generales, no manifestándose al inicio, pero a medida que transcurren los años dichos quistes aumentan su diámetro, evolucionando en forma silenciosa con tendencia a la expansión y ruptura, por lo tanto, la invasión de otros órganos de manera secundaria por vesículas proliferas. (21)

El cuadro clínico se asemeja al observado por la presencia de tumoraciones; siendo el aumento del tamaño del órgano algo muy usual; rechazo de vísceras; síndrome doloroso que podría repercutir también en la ganancia de peso del animal, en donde dicho dolor se asevera en quistes de ubicación Hepática cercanos al árbol biliar; cólicos hepáticos y o renales, además de hipersensibilidad por la ruptura de un quiste. (21)

En cuanto a los seres humanos el hígado es el órgano más parasitado, pero en ovinos es distinto presentando en los mismos mayor presencia de quistes en pulmón. (21)

Hidatidosis hepática

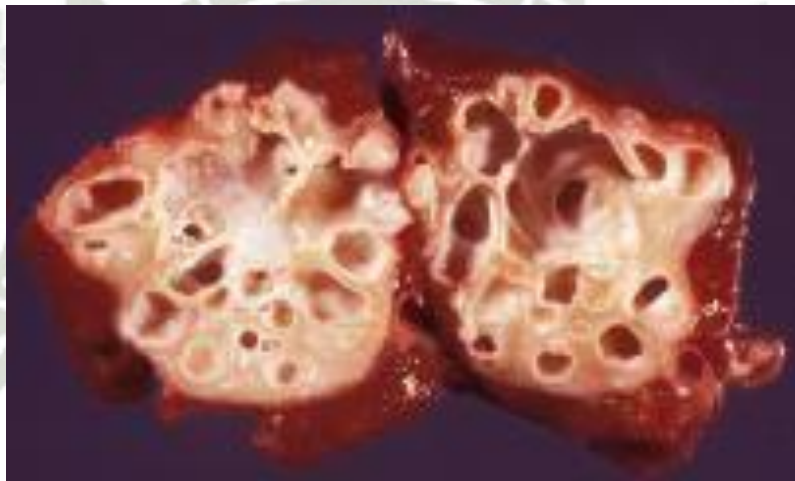
Hay tendencia a tener más de un solo quiste, es mayormente de origen primario o primitivo y rara vez secundario, puede ubicarse en forma intrahepática o superficial, pudiendo crecer y exteriorizarse a órganos vecinos como el diafragma, pulmones y peritoneo formando adherencias en el mismo. (21)

En el hígado cerca de 90% de los quistes son fértiles, y el resto infértiles (acéfalo quistes). Cuando la nutrición hepática del parásito se ve afectada o el parásito envejece, se forman las llamadas vesículas hijas transformándose en un quiste multivesicular, con tendencia a la vesiculización exógena. el aumento de tamaño compartirá la adventicia produciendo degeneración hialina que culmina con calcificación. (21)

En humanos una complicación de importancia es la formación de abscesos hepáticos cuando el quiste invade el árbol biliar por contaminación ascendente de bacterias provenientes del duodeno, ocasionando todo un síndrome de hepatomegalia, dolor, y fiebre. Otra complicación no menos importante es la ruptura, que ocasiona prurito, urticaria y hasta shock

anafiláctico. Si bien estos síntomas son descritos en la enfermedad humana, no debemos descartar que ocurre en forma similar con el ganado bovino y ovino, dada la capacidad del sistema inmune de generar un respuesta anafiláctica a grandes cantidades de líquido hidatídico y arenilla hidatídica que en este caso son reconocidas por el sistema inmune del animal como Antígeno, el cual desencadenaría una liberación masiva de histamina mediante la degranulación de mastocitos o células cebadas alrededor de los vasos sanguíneos y en el interior de los mismos. Consecuente a la liberación de Histamina se desencadena todo el cuadro de Shock anafiláctico el cual es más complicado de manejar en los sitios de crianza animal. (21)

Figura 11. Quiste Hidatídico. Hígado de un caballo afectado por Hidatidosis.



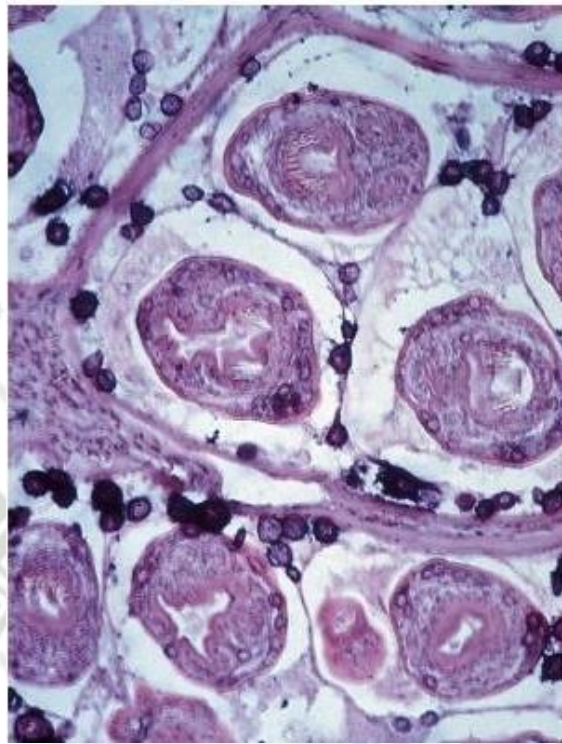
Tomado de Bowman, 2021. (46)

Hidatidosis Pulmonar

En el pulmón son de origen primitivo, con infección proveniente de la vía sanguínea, posterior a que el embrión hexacanto sobrepasó la vía hepática . Una característica para resaltar es que carecen de adventicia, y no contienen vesículas hijas, siendo mayormente estériles a diferencia del hígado. Su localización en el pulmón tiene una tendencia de crecimiento más acelerado que en el hígado. La ruptura de un quiste por medio de traumatismo manifestará principalmente shock.

Un quiste que se rompe hacia la superficie pulmonar causará un cuadro de dolor, disnea y cianosis, además de un hidroneumotórax que puede tornarse purulenta por invasión de bacterias bronquiales. (21)

Figura 12. Histopatología. Quiste Hidatídico alveolar de *Echinococcus multilocularis*.



Tomado de Bowman, 2011 (19)

Hidatidosis cardiaca

Es muy rara en humanos, con índices de 0,2 a 2 % en el total de casos, con origen mayormente primitivo, el embrión hexacanto tiende a llegar al miocardio luego de pasar del hígado al corazón, por vía circulatoria hasta llegar al ventrículo izquierdo por medio de arterias y venas coronarias, este se fija y evoluciona en el miocardio, su adventicia tiene tendencia a calcificarse. Siendo de crecimiento lento, distendiéndose y lesionando las células cardiacas provocando una fibrosis en esa zona. (21)

La ruptura intracardiaca producirá graves síndromes anafilácticos, con dolor precordial puede irradiarse como un infarto. (21)

Con síntomas dependientes de la ubicación específica del parásito, así es como un pequeño quiste podría estar comprimiendo una arteria coronaria, en caso de estar cercana a alguna válvula cardíaca puede alterar su función y provocar el cuadro de estenosis mitral (en caso de estar en la zona izquierda). De estar ubicado en el haz de His, podría ocasionar graves

alteraciones en la conducción eléctrica del corazón y hasta una muerte súbita en humanos.
(21)

Hidatidosis en otras ubicaciones

La hidatidosis esplénica, es generalmente de origen primitivo, a partir de la evolución vesicular de un embrión hexacanto, posterior a su llegada por vía arterial al Bazo. Por lo general solo hay un Quiste pudiendo tener o no vesículas hijas. Las características anatómicas del Bazo le confieren cierta seguridad al quiste, es decir por la ausencia de conductos es más fácil que se complique el cuadro clínico a diferencia de otras localizaciones. Esto no descarta que el quiste siga creciendo hasta invadir abdomen, peritoneo, estómago, intestinos y páncreas. Razón por la cual no descartamos un cuadro de dolor subyacente que podría traer mermas en consumo, producción láctea y ganancia de peso, además de predisponer a otras patologías por mayor síntesis de cortisol endógeno. (21)

En tumores renales tiende a invadir un solo riñón, de origen primitivo, rara vez se presentan quistes múltiples. Con tendencia expansiva, tienden a avanzar hacia hilio renal, invadiendo órganos cercanos y formando adherencias. En Humanos, ovinos y bovinos, el quiste se localiza en la zona de la corteza del riñón, a diferencia de equinos que por su anatomía los quistes no estarían desplazados hacia la periferia como en las anteriores especies sino más hacia el córtex del riñón de origen equino. Con frecuencia hay infección bacteriana por vía hemática o urinaria, ayudado por la tendencia expansiva del quiste que puede llegar hacia los cálices renales distendiéndose y de esta manera el parásito entra en contacto con la orina. Formando hasta abscesos, que en la clínica se observan al encontrar pus en la orina además de encontrar raramente hematuria. La presencia de quistes renales provocará un síndrome doloroso. (21)

En el cerebro es muy rara la presencia de quistes, de origen tanto primitiva como secundaria, en la forma primitiva llega por medio de las carótidas, ubicándose mayormente en hemisferio Izquierdo, istmo del encéfalo e hipófisis. Es único. Muy rara vez múltiple, con tamaño de 8 cm, al crecer invade cavidad ventricular, forma una adventicia con la leptomeninge. De ubicarse en la zona frontoparietal ocasionará: paresia, parálisis, crisis epileptiformes, disartria y trastornos de la conducta. De localizarse en la zona posterior aparecerán vértigos, problemas auditivos, trastornos o alteraciones de deambulación y de equilibrio. Si se rompe el quiste en ventrículos cerebrales, puede presentarse

hipersensibilidad, hemorragia subdural grave, dolor intenso, vómitos, estrabismo, rigidez en la nuca, y colapso con o sin convulsiones. (21)

CONTENIDO DE LOS QUISTES:

Se analizó tanto quistes como fluidos, con la finalidad de determinar sus contenidos en electrolitos (aniones y cationes), ácidos nucleicos, proteínas, enzimas, productos residuales del nitrógeno, carbohidratos y lípidos. (47)

En cuanto a los electrolitos se encontró que los cationes presentes eran Potasio(K), Magnesio (Mg), Calcio (Ca) y Sodio (Na). Los tres primeros estaban en mayor proporción en los protoescólex respecto al fluido, a diferencia de estos el Sodio estaba en ambas cantidades en protoescólex y fluido Quístico. Los aniones presentes eran Cloro (Cl), Fosfato y Bicarbonato, siendo el Cloro el de mayor contenido en el fluido no habiéndose encontrado en los Protoescólex, en contraste del Cloro presente en el fluido Quístico, los Protoescólex presentaban cantidades mayores de Fosfato y Bicarbonato. (47)

Los Ácidos Nucleicos encontrados fueron Básicamente ADN y ARN y Amonio, estos solo estaban presentes en los Protoescólex no encontrándose en el fluido Quístico. Se encontraron también Urea, Ácido Úrico, Creatinina y Bilirrubina, estos estaban presentes solo en fluido Quístico. (47)

Las Proteínas del Fluido Quístico eran principalmente Albúmina y Globulina, estando en proporción de 1:2 respectivamente. Las albúminas y Globulinas conformaban 1/3 de la proteína del protoescólex. (47)

Figura 13. Tabla Cantidades de compuestos nitrogenados en quistes frescos y liofilizados.

TABLE 2—QUANTITIES OF NITROGENOUS COMPOUNDS IN LYOPHILIZED AND FRESH PROTOSCOLICES (MG/G) AND FLUID (MG/ML) OF HYDATID CYSTS OF *E. granulosus*

Compound	Lyophilized protoscolices	Fresh protoscolices	Sheep hydatid fluid	Mouse hydatid fluid
RNA	20.90 ± 0.25	1.40 ± 0.14	0.05 ± 0.005	0.03 ± 0.003
DNA	7.63 ± 0.10	0.41 ± 0.01	0.02 ± 0.003	0.01 ± 0.004
Uric acid	not detectable	not detectable	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001
Creatinine	not detectable	not detectable	0.007 ± 0.003	0.002 ± 0.001
Bilirubin	not detectable	not detectable	0.001 ± 0.0005	0.002 ± 0.001
Ammonia nitrogen	280.63 ± 3.12	71.58 ± 2.01	0.004 ± 0.002	0.004 ± 0.001
Urea nitrogen	1.66 ± 0.84	0.25 ± 0.03	0.21 ± 0.06	0.22 ± 0.04
Total protein	525.50 ± 8.40	77.10 ± 1.04	3.14 ± 0.16	2.74 ± 0.14
Albumin	192.70 ± 9.16	8.21 ± 0.80	1.10 ± 0.18	0.91 ± 0.01
Globulin	346.80 ± 4.20	16.42 ± 1.12	2.01 ± 0.01	1.81 ± 0.11
<i>Enzymes*</i>				
Phosphatases (AU/g or ml)	7130.47 ± 4.61	228.60 ± 5.31	1.00 ± 0.06	not detectable
GOT (RFU/g or ml)	4393.91 ± 6.50	272.12 ± 2.40	15.00 ± 2.15	9.00 ± 1.11
GPT (RFU/g or ml)	462.51 ± 7.02	20.21 ± 2.18	3.00 ± 0.80	1.00 ± 0.20
LDH (U/g or ml)	7708.61 ± 10.16	1800.02 ± 3.04	64.00 ± 3.10	48.00 ± 4.01
Amylase	not detectable	not detectable	not detectable	not detectable

All results are means of duplicate values ± ½ the difference between these values.

Frayha, 1980. (47)

Se encontró enzimas, como la LDH, TGO, TGP, Fosfatasas, lo que es un indicador de actividad enzimática del quiste. (47)

El Contenido de Lípidos, fue mayormente colesterol, ésteres de colesterol, monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos, ácidos grasos y fosfolípidos, estos fueron principalmente encontrados en los protoescólex, siendo los fosfolípidos los de mayor proporción. (47))

Los carbohidratos de los protoescólex fueron Glucógeno, Trehalosa, Glucosa, carbohidratos estables a los álcalis y sacarosa (presente en fluido y quistes). (47)

DIAGNÓSTICO:

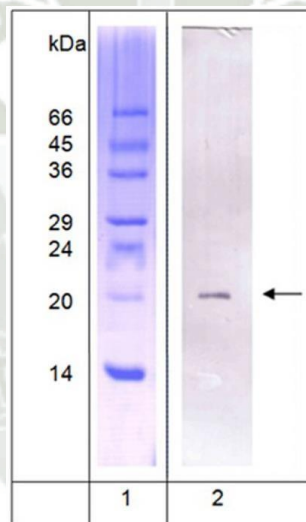
Esta enfermedad es de difícil diagnóstico debido a la amplia sintomatología que presenta esta enfermedad. Para que se logre un diagnóstico definitivo es necesario emplear métodos auxiliares, como lo es el diagnóstico por imagen el cual no logra precisar con exactitud agente etiológico. El diagnóstico inmunológico cumple una función importante ya que permite hallar o detectar anticuerpos circulantes que indiquen la presencia de equinocosis quística en animales sospechosos de la enfermedad. (7)

Actualmente las alternativas de diagnóstico serológico más utilizadas son la prueba de ELISA, la Inhibición de la Hemaglutinación, la Inmunofluorescencia Indirecta, el arco V y Western Blot. Para realizar el método de ELISA se requerirá equipamiento y material de

costo elevado; la prueba de inmunofluorescencia indirecta se necesita de un microscopio con luz fluorescente y de antígenos de venta comercial, cuya disponibilidad es limitada; la prueba de hemaglutinación indirecta tiene el inconveniente de dar en diferentes resultados dependiendo de la región endémica. (7)

El método del arco en V cuenta con una baja sensibilidad, y se trata procedimiento que demora para que se ejecute, el método de western Blot cuenta con una sensibilidad y especificidad elevada, es de mucha utilidad para obtener un diagnóstico confirmatorio siendo el único inconveniente para su uso su alto costo. (7)

Figura 14. Diagnóstico de Hidatidosis Utilizando Western Blot por medio de electroforesis en nitrocelulosa.



Bulashev, 2017 (48)

El método de diagnóstico por aglutinación se basa en la elaboración de un reactivo en partículas de látex, el cual está conformado por una suspensión de partículas de látex de poliestireno, sobre la que mediante previos procesos de elaboración se logró sensibilizar o adsorber pequeñas partículas de la proteína presente en el líquido hidatídico; ya elaborado nuestra suspensión tiene un aspecto uniforme y de consistencia lechosa al ser observada en una placa de fondo oscuro, su color podría cambiar dependiendo del color de las partículas de látex empleadas. De enfrentar esta suspensión a un suero con contenido de anticuerpos contra *Equinococcus granulosus*, la misma perderá su aspecto uniforme, produciéndose un agregado de partículas, las cuales se observan a simple vista. Dichos agregados se formarán debido a la unión de las partículas sintéticas adsorbidas con la proteína antigénica y los sitios de unión de los anticuerpos (Parátomos). Tanto en Uruguay como en otros países se

realizaron ensayos con el antígeno Hidatídico en otros países y se obtuvo una sensibilidad del 93% y una especificidad del 82%. (7)

Figura 15. Ecografía. Quiste hidatídico asintomático detectado por encuestas con ecografía.



Arezo, 2017 (10)

En algunas zonas el diagnóstico de esta enfermedad en Medicina humana no es posible y mucho menos en Medicina Veterinaria, ya que es muy complicado realizar pruebas como inmunofluorescencia indirecta (IFI), inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA), o Western Blot por ser laboratorios que cuentan con limitados recursos. (7)

Figura 16. Tomografía Computarizada. Pelvis, quiste multivesicular afectando el Hígado y peritoneo del paciente.



Tomado de Werner, 2013. (21)

TRATAMIENTO

Si bien existe una gran línea de fármacos antihelmínticos indicados para el tratamiento de teniasis, en el caso de la hidatidosis se demostró que el uso en combinación de Albendazol con Prazicuantel o Oxfendazol con Prazicuantel, era más efectivo que utilizar cada fármaco por sí solo, por lo que se recomienda utilizar una terapia combinada, en pro de disminuir la cantidad de quistes, tanto fértiles como infértiles, según la especie. (15)

Reacciones de Aglutinación:

La utilización de la prueba de seroaglutinación en látex, básicamente hace el papel de indicador de una reacción de unión Antígeno-Anticuerpo.

La aglutinación consiste básicamente en la observación macroscópica de una reacción que inicialmente es microscópica al unirse una partícula que aglutina (aglutinógeno en este caso nuestra proteína antigénica de origen Hidatídico) y un anticuerpo específico de este aglutinógeno (se le denomina aglutinina). (49)

Las partículas pueden tener origen vital o inerte, se suelen emplear hematíes y bacterias como partículas vitales ya que aún conservan sus funciones fisiológicas. Las inertes no tienen actividad fisiológica mensurable por lo que pueden ser de látex (polímero de poliestireno), arcilla, gelatinas, carbón vegetal, etc. (49)

Para que el aglutinógeno funcione este deberá estar distribuido o adherido de forma apreciable en una partícula inerte ocupando la mayoría de su superficie. (49)

Se refiere a Aglutinina completa a toda aquella que siempre va a producir aglutinación, siendo las incompletas las que, aún reaccionando con el antígeno no producirán la reacción de aglutinación al estar en una situación que no favorece la reacción como por ejemplo, al tener un antígeno particulado en suspensión de hematíes en suero fisiológico o salino. (49)

Dado a su gran tamaño y multivalencia, una aglutinina completa sería la IgM, mientras que la aglutinina incompleta sería IgG, ya que solo tiene dos valencias. (49)

Con el fin de obtener una reacción de aglutinación correcta, se necesita que la concentración del aglutinógeno no exceda al de la aglutinina y viceversa. De no realizarse de esta manera se dará el llamado fenómeno de zona y se obteniéndose resultados falsamente negativos. (49)

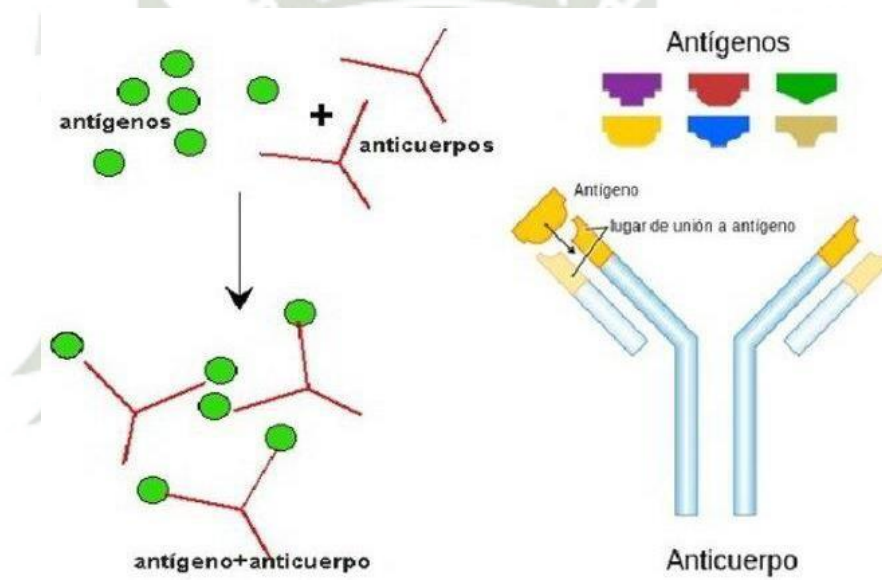
La temperatura es un factor, que influirá en la reacción de aglutinación. Mayormente esta reacción de aglutinación se efectuará correctamente si se realiza a temperatura ambiente (20°C), los aglutinógenos pertenecientes a bacterias tienden a ser más reactivos cuando se

trabajan 37°C, inclusive algunas aglutininas tienden a reaccionar de forma favorable con el aglutinógeno al estar a 4°C (Aglutininas frías o crioaglutininas). (49)

El principio de aglutinación de este trabajo se basa en la aglutinación indirecta o pasiva, ya que la aglutinina (Anticuerpos obtenidos del suero), reacciona al unirse a un aglutinógeno que ha sido adherido en forma pasiva a la superficie o periferia de una partícula vital o inerte, que dado el caso dicha partícula se trata de perlas de látex, las cuales someteremos a un proceso de sensibilización.

La sensibilización es un proceso mediante el cual las partículas inertes como el látex, son recubiertas con aglutinógenos que no les son propios. (49)

Figura 17. Reacción de Antígeno-Anticuerpo.



Tomado de Ocronos, 2019. (50)

Formas de realizar una prueba de aglutinación:

Las pruebas de aglutinación se pueden llevar a cabo sobre una lámina portaobjetos de cristal, tarjetas visualizadoras, en placas de microtitulación y en el interior de tubos de ensayo. (49)

Las tarjetas visualizadoras son mayormente de plástico y en dichas tarjetas hay círculos coloreados previamente impresos. El color de los círculos se relaciona directamente con el de la partícula empleada. Asimismo, si la solución particulada es blanca, el color interno de los círculos es negro, y de ser la partícula de color oscuro, el color interno de los círculos es blanco. (49)

Las placas para microtitulación también suelen ser de plástico y conforman una serie de pocillos cuyo fondo es redondo o en cono. (49)

Aglutinación PASIVA:

Las pruebas que utilizan la aglutinación como principio diagnóstico, son procedimientos inmunológicos basados en cambios físicos que son inducidos tras la formación de un inmunocomplejo. Son también muy extendidas en la práctica del diagnóstico veterinario, rentables por su simplicidad y bajo coste, y asequibles para laboratorios no especializados.

(3)

Normalmente las reacciones de seroaglutinación utilizan un aglutinógeno o antígeno particulado e insoluble, que vienen a ser partículas inertes como el Látex, bentonita, bacterias y hematíes que actúan como portadores del antígeno soluble (en otras pruebas también pueden ser anticuerpos los productos solubles), dichas partículas insolubles no son aglutinantes directamente. Se utiliza el principio de precipitación convirtiéndola en una de aglutinación, lo que mejora la sensibilidad de la prueba. (3)

El uso de partículas inertes o esferas de Látex en suspensión, son comúnmente utilizados como aglutinógenos, lo que mejora la uniformidad, estabilidad y rapidez de la prueba (3 a 5 minutos), su uso se extiende a la identificación de variados agentes patógenos de importancia médica. (3)

ANTÍGENO EN PERLAS DE LÁTEX:

El antígeno hidatídico, utilizado para el diagnóstico de la enfermedad Hidatídica o Hidatidosis, elaborado en base a una suspensión de partículas inertes de látex de poliestireno sobre los que se absorbió una proteína Antigénica procedente de Líquido Hidatídico. la suspensión particulada es de aspecto uniforme y lechoso, al ser observada con la vista o al colocarla sobre una placa de cristal de fondo oscuro.

Este antígeno al ser enfrentado a un suero que posee anticuerpos contra *Equinococcus granulosus*, pierde su apariencia uniforme produciendo una agregación de partículas, cuyo cambio físico puede ser observado en forma macroscópica a simple vista.

Esta agregación de partículas se produce por la formación de inmunocomplejos, al unirse las partículas antigénicas (Epítomos) adsorbidas en las nano perlas de látex con el antígeno, a los Parátomos de inmunoglobulinas o anticuerpos del suero sanguíneo positivo a la enfermedad.

3.2. REVISIÓN DE ANTECEDENTES DE INVESTIGACIÓN

3.2.1. Análisis de Tesis

a.” DETERMINACIÓN DE LOS FACTORES DE DECOMISO DE VÍSCERAS ROJAS (HÍGADOS Y PULMONES) EN VACUNOS (*Bos taurus*) EN EL CAMAL METROPOLITANO DE RIO SECO- DISTRITO DE CERRO COLORADO - PROVINCIA Y DEPARTAMENTO DE AREQUIPA. REPOSITORIO DE TESIS UCSM. 2015.”

(Sudnereida Erika, Huayta Huaracha)

Este es un resumen de un estudio que se llevó a cabo en el Camal Metropolitano de Rio Seco Cerro Colorado Arequipa en los meses de julio a setiembre de 2015. El objetivo del estudio fue determinar los factores de decomiso de vísceras rojas (hígado y pulmón). Se beneficiaron 12,255 bovinos en total, siendo julio el mes con mayor beneficio (36.04%). El 77.77% de los bovinos beneficiados eran machos y el 22.23% eran hembras. La mayoría de los bovinos eran procedentes de Puno (76.46%). Se decomisaron vísceras por distintas razones, como distomatosis, hidatidosis, cirrosis y abscesos. En cuanto a la edad de los bovinos, el 58.61% tenía entre 4 y 5 años. (4)

b. "EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO EPIDEMIOLÓGICO DE LA HIDATIDOSIS EN LA REGIÓN DE TACNA DEL 2000 AL 2010"

(Noely Diana, Velasco Mamani)

Este estudio evaluó la prevalencia y la tasa de prevalencia de hidatidosis en la región de Tacna durante el período 2000-2010, así como el conocimiento de la enfermedad en la población humana a través de una encuesta. Se analizaron los registros estadísticos y hospitalarios, y se encontró una prevalencia del 4,96% en bovinos y del 91,01% en ovinos en ese período. La tasa de prevalencia humana en la región fue de 10,32% x 100,000 habitantes. Se concluyó que la hidatidosis sigue siendo un problema de salud pública en la región y que es necesario mejorar la educación sobre la enfermedad. (52)

c. " FRECUENCIA DE DECOMISOS POR EQUINOCOCOSIS QUÍSTICA EN BOVINOS BENEFICIADOS EN EL MATADERO SAN PEDRO – LURÍN, DURANTE EL PERIODO 2014 – 2015"

(Ginnym Karla, Mescua Leiva)

El siguiente estudio trata sobre la relación entre el ganado bovino en Perú y la equinocosis quística (E.Q), una enfermedad parasitaria que afecta a los bovinos y puede producir pérdidas económicas por el descenso en la producción y el decomiso de vísceras en mataderos.

El objetivo principal del estudio fue determinar la frecuencia de decomiso de hígado y pulmón por E.Q en el camal San Pedro durante los periodos agosto 2014 – Julio 2015 y se encontró que la frecuencia de decomiso en el año de estudio fue de 1398 hígados y pulmones, con 0.62% (597) hígados y 0.83% (801) pulmones decomisados por EQ de un total de 95,575 registros de animales beneficiados. Además, se determinó que la mayor frecuencia de decomisos de hígados y pulmones se produjo en los meses de abril a noviembre, mientras que la menor frecuencia, de noviembre a febrero, y que no hubo asociación entre la frecuencia de decomisos y la región de origen. Los datos se obtuvieron mediante la revisión de registros de decomisos entre los periodos 2014 – 2015 y se utilizó el programa informático Microsoft® Excel para determinar las frecuencias de decomisos por E.Q. Se realizó un diseño descriptivo retrospectivo, agrupando los datos para exponerlos en tablas de frecuencias, gráficos y sus respectivos porcentajes. (53)

3.2.2. Análisis de trabajos de Investigación

- a. **“EVALUACIÓN DE UNA PRUEBA DE AGLUTINACIÓN DE LÁTEX PARA EL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LA EQUINOCOCOSIS QUÍSTICA”**
Perú Med. Exp. Salud Publica. 2009.

Se evaluó una prueba de aglutinación de látex para el diagnóstico serológico de echinococcosis quística. Se usaron 80 sueros: 40 de pacientes con hidatidosis, 20 con otras enfermedades parasitarias y 20 de personas sanas. La prueba tuvo una sensibilidad del 97,5% y una especificidad del 90%. Se recomienda su uso en zonas endémicas y en estudios epidemiológicos. (7)

- b. **“ Diagnosis of cystic echinococcosis in buffaloes by native 8 kDa antigen using latex agglutination test (LAT)”**

En el siguiente trabajo de investigación se tuvo como objetivo estimar el porcentaje de confiabilidad de un antígeno adsorbido en reactivo de nano perlas de látex cuya proteína antigénica conto con un peso molecular de 8Kda (Líquido hidatídico), para lo cual se obtuvieron 200 sueros de búfalos infectados y 200 sueros de búfalos no infectados y fueron sometidos a múltiples pruebas de diagnóstico serológico.

Se comparó la sensibilidad de la prueba con otros métodos diagnósticos ya usados y dio resultados favorables estimando la sensibilidad de dicha prueba con resultados de 98% respectivamente. (54)

- c. **“Latex agglutination test (LAT) for antigen detection in the cystic fluid for the diagnosis of cystic echinococcosis”**

Se evaluó la sensibilidad diagnóstica de una prueba de aglutinación en látex, cuyas nano perlas de látex fueron adsorbidas o sensibilizadas con anticuerpos de conejos inoculados con Echinococcus granulosus, obteniéndose 100% de sensibilidad diagnostica al aglutinarse con liquido hidatídico, extraído de 6 pacientes humanos sometidos a cirugía y 7 extraídas de ganado.

Debido a los resultados obtenidos del estudio, se demostró que dicha prueba puede ser utilizada como método de simple y rápido procedimiento diagnóstico coadyuvado de la microscopía de los quistes. (55)

d. Evaluation of the antigenic epitopes of EgAgB/1 and EgAgB/4 subunit antigens in G1 and G6 genotypes of *Echinococcus granulosus* using bioinformatics. Gene Reports. 2019; 15.

Dicho estudio se concentró en evaluar los epítomos antigénicos de dos distintos genotipos de *Echinococcus granulosus* (G1 y G6), siendo el epítomo la proteína B antigénica (EgAgB) obtenida del líquido del quiste hidatídico, dicha proteína juega un rol importante en la inmunogenicidad y síntesis de anticuerpos contra la equinococosis quística.

Los resultados mostraron que las estructuras terciarias de las proteínas EgAgB / 1 y EgAgB / 4 en dos genotipos G1 y G6 eran similares.

Finalmente, de acuerdo con los resultados obtenidos a partir de epítomos lineales y discontinuos, los residuos especificados, podría considerarse como un candidato potencial para las vacunas de los genotipos G1 y G6 de *E. granulosus*. Conclusión: Los resultados obtenidos a partir de epítomos lineales y discontinuos mostraron que los residuos especificados podrían considerarse como posibles vacunas candidatas contra los genotipos G1 y G6 de *E. granulosus*. Los hallazgos de este estudio proporcionan las bases para futuras investigaciones sobre estas dos importantes proteínas del parásito. (43)

4. HIPÓTESIS

“Dado que el Antígeno de *Equinococcus granulosus* puede aglutinar Anticuerpos Homólogos, es probable que, al sensibilizar el Látex con partículas antigénicas del parásito y enfrentarla a anticuerpos, se pueda lograr la Aglutinación de sueros animales”



CAPÍTULO II PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

1. MATERIALES Y MÉTODOS

1.1. MATERIALES

1.1.1. Localización del trabajo

1.1.1.1. Espacial:

El trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de la universidad Católica de Santa María, así como también en el camal metropolitano que fue el lugar de donde obtuvieron las muestras de nuestro antígeno a sensibilizar.

1.1.1.2. Temporal:

Se realizó durante los meses marzo de 2022 a marzo de 2023

1.2.1. Materiales biológicos

- Bovinos beneficiados en el camal Metropolitano (Sermamet), tanto machos como hembras de donde se obtuvieron sus vísceras rojas (Hígados y Pulmones), de las cuales se seleccionó solo aquellas vísceras que presentaron Quistes Hidatídicos.
- Muestras de sangre obtenida de bovinos entre machos y hembras de distintos establos y regiones de Arequipa, las cuales fueron centrifugadas para separar los sueros sanguíneos que posteriormente se congelaron para utilizarse en los diversos ensayos de aglutinación.

1.2.2. Materiales de laboratorio.

- Mandil
- Barbijo
- Protector facial
- Guantes de látex o nitrilo
- Micropipeta
- Agua destilada
- Buffer Glicina PH: 8.2
- Partículas de látex de poliestireno de 0,25um

- Antígeno Hidatídico
- Placa de Vidrio de Fondo Oscura
- Tips
- 10 sueros positivos y 10 negativos
- Vaso de precipitados
- Matraz de Erlenmeyer

1.2.3. Materiales de campo

- Casco
- Guantes de inspección
- Botas de caña alta
- Cuchillo
- Tijera
- Mesa para inspección
- Cooler
- Baterías de Congelación
- Equipo de Disección
- Barbijo
- Equipo Vacutainer
- Vacutainer de Tapa roja sin reactivo
- Plumón indeleble
- Lapicero
- Ficha de registro
- Agua potable
- Jeringas
- Tubos Falcon de 10 ml

1.2.4. Equipos y maquinarias

- Equipo de Liofilización
- Centrífuga y Ultracentrífuga
- Incubadora
- Microscopio Óptico

- Congeladora

1.2.5. Otros materiales

- Computadora
- Software determinador de Sensibilidad y Especificidad
- Libros
- Artículos de Investigación

2. CAMPO DE VERIFICACIÓN O EVALUACIÓN

2.1. Muestreo

Universo

El Universo es de 34 animales de los cuales se obtuvo muestras de sangre y líquido hidatídico de pulmones infestados, donde se incluían tanto positivos y negativos confirmados en la necropsia.

Tamaño de la Muestra.

El 100% o total de animales beneficiados con presencia de Quistes Hidatídicos en sus vísceras.

Procedimiento de muestreo

En el examen ante mortem, extraemos sangre de la vena Yugular de Ovinos previos al Beneficio.

Para nuestras muestras de control, obtendremos sangre de la vena yugular de Bovinos previos al beneficio en el camal metropolitano.

En el examen sanitario post mortem, obtendremos solo vísceras con presencia de Quistes, o cuya anatomía patológica nos indique la presencia de estos.

2.2. Métodos de evaluación

Metodología de la experimentación

PREPARACIÓN DEL ANTÍGENO HIDATÍDICO

A. Obtención de los quistes Hidatídicos.

Se colectaron hígados y pulmones que contenían quistes hidatídicos fértiles de bovinos sacrificados en el camal Metropolitano de Río Seco (SERMAMET- Arequipa, Perú), entre los meses de abril 2022 y enero del 2023.

En el laboratorio, el Líquido hidatídico fue extraído asépticamente con una jeringa estéril y transferido a tubos de centrífuga estériles, para luego sedimentarse y separar su sobrenadante, seguida y previamente separado, este se refrigeró a 4°C hasta ser procesado, se observó el sedimento con microscopio para confirmar la presencia de protoescolices (protoescoléx) que demuestran la fertilidad de los quistes de *E. granulosus*. (7)

TÉCNICA DE AGLUTINACIÓN EN LÁTEX

A. Preparación de la suspensión stock de las partículas de látex.

Se empleó partículas látex de poliestireno de 0,30 μm de diámetro promedio, las cuales se obtuvieron comercialmente en una suspensión al 10% V/v procedente de Laboratorios Sygma USA, La suspensión stock se preparó diluyendo la suspensión comercial 1:8 en buffer glicina a pH: 8,2. (7)

B. Sensibilización de las partículas de látex con el antígeno hidatídico (reactivo de látex sensibilizado).

Se logró una correcta sensibilización de nuestras partículas de Látex, luego de varios ensayos experimentales donde previamente se mezclaron distintas cantidades de reactivos como el buffer glicina, las nano perlas de látex y muestras de líquido Hidatídico congelado y dializado. Dando resultados negativos en tres ensayos. Por lo que se utilizó líquido hidatídico fresco, en lugar de líquido hidatídico congelado, dando resultados positivos al lograr aglutinar sueros bovinos. (56)

Se realizó el siguiente procedimiento:

- En 1ml de buffer glicina se agregaron 1.5 ml de antígeno hidatídico y se añadirá 1 ml de la suspensión stock de partículas de látex. (56)
- Se agita e incuba la muestra durante 30 minutos a 37° C y luego 15 días a 4°C. (7)

C. ENSAYOS

Previo a la realización de un ensayo será necesario la inactivación de los sueros durante 30 minutos a 56 °C, para evitar reacciones cruzadas con proteínas del complemento. Los sueros se utilizaron sin dilución alguna. (7)

Para realizar la prueba de aglutinación de látex se utilizó varias placas de vidrio con fondo oscuro, donde se colocó 40 ul de suero inactivado previamente, más 40 ul del reactivo de látex sensibilizado, y se homogeniza con un tip, seguidamente se agitó suavemente por rotación, durante 3 a 8 minutos y se realizó la primera lectura, se esperó 15 minutos sólo si en la primera lectura no existía aglutinación. (7)

3. ESTRATEGIAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

a. En el campo

Se obtuvieron muestras de suero bovino reactivo a Hidatidosis, dado que se realizó una inspección post mortem y se seleccionó solo a los que presentaban hígados y pulmones infectados con presencia de quistes hidatídicos.

b. En laboratorio

Se realizó numerosos ensayos, hasta que se logró la aglutinación de sueros positivos al observar la reactividad de un total de 22 de 24 muestras confirmadas a la necropsia, siendo 2 las no reactivas siendo incluso positivos en la necropsia, seguidamente se le comparó con sueros control negativos que asimismo eran no reactivos en un total de 10/10.

c. En la biblioteca

Recopile información de libros virtuales obtenidos previamente en la etapa de revisión Bibliográfica de este trabajo de investigación.

d. En otros ambientes generadores de la información científica

Recopile información principalmente de Pubmed de NCBI, Science Direct y vetbooks.ir.

3.1. Variable de respuesta

3.1.1. Variable independiente

Reactivo en Látex sensibilizado con Antígeno Hidatídico.

3.1.2. Variable dependiente

- Sensibilidad
- Especificidad
- Valor Predictivo Positivo
- Valor Predictivo Negativo

Cuadro de Observaciones a Registrar

Se comprobó la presencia de la enfermedad en cada animal muestreado al momento de la necropsia, al utilizar como criterio de diagnóstico positivo a todo animal que presentó Quistes tanto en Hígado como en Pulmón.

3.4. EVALUACIÓN ESTADÍSTICA

3.4.1. Diseño experimental

3.4.1.1. Unidades experimentales

Muestras de suero de bovinos previamente confirmados como positivos o negativos a la enfermedad, al momento de la necropsia o beneficio.

3.4.1.1.1. Diseño de tratamientos

Se enfrentó sueros positivos confirmados a la necropsia (Gold Standard), con el antígeno elaborado para determinar su sensibilidad y especificidad

3.4.1.2. Análisis estadístico

Se evaluó el desempeño de la prueba cualitativa hallando inicialmente el valor predictivo de antígeno hidatídico, en base a la sensibilidad y especificidad del antígeno al ser enfrentado a los sueros y se determinó el valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo utilizando las siguientes fórmulas:

Mi método comparativo de diagnóstico fue la observación de los órganos que presentaban y no presentaban quistes hidatídicos al momento de la necropsia.

$$\text{Sensibilidad clínica} = [\text{TP} / (\text{TP} + \text{FN})] * 100$$

$$\text{Especificidad clínica} = [\text{TN} / (\text{TN} + \text{FP})] * 100$$

Donde:

Método candidato (Test)	Método comparativo “Gold Std”		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	TP	FP	TP+FP
Negativo	FN	TN	FN+TN
Total	TP+FN	FP+TN	Total

TP = Número de resultados donde ambas pruebas son positivas. FP = Número de resultados donde el método candidato es positivo, pero el comparativo es negativo.

FN = Número de resultados donde el método candidato es negativo, pero el comparativo es positivo.

TN = Número de resultados donde ambos métodos son negativos.

TP se le denomina a los Verdaderos Positivos.

FN se le denomina a los Falsos negativos.

FP se le denomina a los Falsos positivos.

TN se les denomina a los Verdaderos negativos

CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS

Tabla 1

AJUSTES PROCEDIMENTALES EN LA ELABORACIÓN DE NUESTRO ANTÍGENO HIDATÍDICO.

REACTIVO/ MUESTRA BIOLÓGICA	1ER ENSAYO	2DO ENSAYO	3ER ENSAYO	ENSAYO FINAL
BUFFER GLICINA PH 8.2	2 ml	1.5 ml	1 ml	1ml
NANO PERLAS DE LÁTEX al 10%	1 ml	0.6 ml	1 ml	1ml
FLUIDO HIDATÍDICO FRESCO Y DIALIZADO	-	-	-	1.5ml
FLUÍDO HIDATÍDICO CONGELADO Y DIALIZADO	0.6 ml	1 ml	1.5 ml	-
AGLUTINACIÓN	NO	NO	NO	SI

Tabla 2

TABLA DE CONTINGENCIA SOBRE RESULTADOS DE SUEROS BOVINOS SOSPECHOSOS DE HIDATIDOSIS, SOMETIDOS A LA PRUEBA DE AGLUTINACIÓN EN PLACA.

Método de aglutinación con Antígeno Hidatídico en perlas de Látex	Muestras de suero confirmados a la necropsia		
	Aglutina (+):	No Aglutina (-):	TOTAL:
Sueros considerados Positivos (+)	21	3	24
Sueros considerados Negativos (-)	0	10	10
TOTAL	21	13	34

Tabla 3

**SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE ELABORACIÓN DE UN MEDIO
DIAGNÓSTICO PARA HIDATIDOSIS BOVINA EN SUERO SANGUÍNEO,
MEDIANTE PARTÍCULAS ANTIGÉNICAS Y NANO-PERLAS DE LÁTEX.**

CONFIABILIDAD	
Sensibilidad	100%
Especificidad	76%
Valor Predictivo Positivo	0.87
Valor Predictivo Negativo	1

Dando como resultado una sensibilidad del 100%, una especificidad del 76.9230769%, un Valor predictivo positivo de 0.875, y un Valor predictivo negativo de 1.

DISCUSIÓN

Discusión – Tabla 1

- Se realizaron 4 ensayos experimentales donde se mezclaron distintas combinaciones tanto de reactivos, así como material antigénico, en donde luego de 3 ensayos iniciales dando resultados negativos, en el 4to ensayo se optó por cambiar líquido hidatídico de dializado congelado a dializado fresco.
- Se obtuvieron resultados favorables al enfrentar nuestro antígeno hidatídico (elaborado con líquido hidatídico fresco), con sueros bovinos como control positivo, al poder observarse la aglutinación.

Discusión - Tabla 2

- Se realizaron pruebas de aglutinación a 34 muestras distintas de suero bovino donde se consideraban a 24 de estas como positivas a la enfermedad hidatídica, dado que dichos animales presentaron quistes hidatídicos en hígado y pulmones al momento de la necropsia. Asimismo, se colectaron 10 diez muestras serológicas de animales sanos, consideradas negativas por la ausencia de quistes en la necropsia.
- Se logró la aglutinación en 21 de las 24 muestras consideradas positivas a Hidatidosis bovina, las 3 muestras que dieron resultado negativo se les consideró así dado que presentaron nula o muy poca aglutinación.
- En total se obtuvieron 13 resultados negativos, de los cuales se obtuvieron 10 resultados negativos, de un total de 10 muestras consideradas negativas, y 3 negativos de un total de 24 considerados positivos.

Discusión -Tabla 3

- Con el resultado de sensibilidad del 100%, ningún animal que sea realmente positivo a la enfermedad dará un resultado negativo.
- Con el resultado de la especificidad del 76%, puede que haya animales que den un resultado negativo pero que sí tengan la enfermedad Hidatídica.
- El valor predictivo positivo es de 0.875, lo que sugiere que un 87.5% de probabilidad que tiene un animal de estar enfermo, habiendo obtenido un resultado positivo en la prueba.
- El valor predictivo negativo es de 1, lo que sugiere que un 100% de probabilidad que tiene un animal de estar sano, habiendo obtenido un resultado negativo en la prueba.
- Comparando la sensibilidad (100%) y especificidad (76%) de nuestra prueba de aglutinación, con las otras alternativas diagnósticas como; ELISA(S: 90.91% y E: 92.22%) (57), PCR (S: 94.1% y E: 98.9%) y Hemaglutinación indirecta (S: 96% Y

E: 96.2%), en base a esto podemos asegurar que nuestra prueba sirve como alternativa para el diagnóstico de la enfermedad Hídática, ya que posee una sensibilidad elevada que compensa la no tan elevada especificidad. (58)



CONCLUSIONES

- El siguiente trabajo concluye en que, se pudo lograr la aglutinación de sueros bovinos positivos a la enfermedad Hidatídica, bajo el método o principio de aglutinación en placa, utilizando nuestro antígeno hidatídico y sueros bovinos positivos a la enfermedad que se esperaba sean reactivos al antígeno hidatídico.
- Se logró sensibilizar las nano perlas de Látex con nuestra muestra de Líquido Hidatídico utilizando los métodos modificados anteriormente descritos.
- Se determinó la sensibilidad de nuestro antígeno hidatídico obteniéndose un resultado de 100%, lo que significa que ningún animal negativo dará positiva a la prueba de aglutinación.
- Se determinó la especificidad de nuestro antígeno hidatídico obteniéndose un resultado de 76%, lo que significa que puede que haya animales que den resultado negativo, pero sí tener la enfermedad hidatídica.

RECOMENDACIONES

- Para la toma de muestras de suero sanguíneo, es importante identificar correctamente al animal muestreado para que luego al momento del beneficio o necropsia, se pueda reconocer los órganos afectados de los mismos con facilidad al ingresar a los registros como positivos a la enfermedad.
- En caso de resultados positivos a hidatidosis en animales in vivo, se recomienda administrar un tratamiento adecuado, para lograr controlar y mitigar el crecimiento del parásito, además de su posterior eliminación.
- Es necesaria la realización de estudios de prevalencia de hidatidosis bovina para identificar las zonas endémicas a la enfermedad, lo que permitirá dar tratamiento adecuado a hospederos intermediarios de la zona, así como tratamiento desparasitante para hospederos definitivos.
- Recomiendo utilizar este método diagnóstico, que además de ser rápido, es fiable ya que cuenta con una sensibilidad del 100% y una especificidad del 76%, por lo que considero que es de utilidad como alternativa diagnóstica, así como para realizar estudios de prevalencia en zonas sospechosas de la enfermedad.

REFERENCIAS

1. Moazeni M, Oryan A, Sharifiyazdi H, Amrabadi O, Akbari M. A rare case of cerebral hydatidosis caused. *Journal of Helminthology*. 2015.
2. Priti Soin PSSK. *Pancreatic Echinococcosis*. Taylor and Francis. 2019.
3. Lucia EG, Blanco MdM, Doménech A. *Manual de Inmunología Veterinaria* Martín-Romo M, editor. Madrid: PEARSON EDUCACIÓN, S.A; 2007.
4. Huayta Huaracha E. DETERMINACIÓN DE LOS FACTORES DE DECOMISO DE VISCERAS ROJAS (HIGADOS Y PULMONES) EN VACUNOS (*Bos taurus*) EN EL CAMAL METROPOLITANO DE RIO SECO- DISTRITO DE CERRO COLORADO - PROVINCIA Y DEPARTAMENTO DE AREQUIPA. REPOSITORIO DE TESIS UCSM. 2015.
5. Cordero del Campillo M, Rojo Vazques FA, Martinez Fernandez AR, Sanchez Acedo MC, Hernandez Rodriguez S, Navarrete Lopez-Cozar I, et al. *PARASITOLOGIA VETERINARIA* Madrid: McGraw-Hill Interamericana de España, S.A.U.; 1999.
6. Antayhua Anco E. "PREVALENCIA DE TENIASIS CANINA EN EL CAMPO URBANO Y RURAL EN EL. REPOSITORIO DE TESIS UCSM. 2016.
7. Miranda E, Sánchez E, Náquira C, Somocursio J, Ayala E, Gilberto M. EVALUACIÓN DE UNAPRUEBA DE AGLUTINACIÓN DE LÁTEX PARA EL DIAGNÓSTICO SERÓLOGICO DE LA EQUINOCOCOSIS QUÍSTICA. *Perú Med. Exp. Salud Publica*. 2009.
8. SENASA. www.senasa.gob.pe. [Online]; 2016. Disponible en: <https://www.senasa.gob.pe/senasacontigo/hidatidosis-y-la-salud-animal/>.
9. Moro PL, Budke CM, Schantz PM, Vasquez J, Santivañez SJ, Villavicencio J. Economic Impact of Cystic Echinococcosis in Peru. *PLOS NTDS* (www.plosntds.org). 2011; 5.
10. Arezo M, Pacheco de Caldas E, Casas N, Del Grande L, Del Rio V, Gavidia C, et al. Prevención y Control de la Hidatidosis en el nivel local: iniciativa sudamericana para el control y vigilancia de la equinococosis quística/ hidatidosis. Organización Panamericana de la Salud - OPS/OMS.
11. Cucher M, Macchiaroli N, Baldi G, Camicia F, Prada L, Maldonado L, et al. Cystic echinococcosis in South America: systematic review of species and genotypes of *Echinococcus* in South America: systematic review of species and genotypes of *Echinococcus granulosus sensu lato* in humans and natural domestic hosts. *Trop Med Int Health*. 2016;: p. 166-175.
12. Atías A. *Parasitología Clínica*. Publicaciones Técnicas Mediterráneo. 1994.
13. Soulsby E. *Parasitología y Enfermedades parasitarias en los animales domésticos*. 7th ed. Mexico DF: Editorial Interamericana; 1987.
14. Legua P. Hidatidosis. *Revista Medica Hered*. 2002.

15. Llamosas Chu MS. Determinación de la eficacia del uso del oxfendazol, praziquantel. Repositorio de Tesis UNMSM. 2009.
16. Eckert J,TR,LA,PZ,GB,M. Further evidence for the occurrence of a distinct strain of Echinococcus granulosus in European pigs. Parasitology. 1993.
17. Manterola C,CA,FF,BL,HJ. Utilidad de DD5 y ELISA IgG como pruebas diagnósticas específicas en pacientes con hidatidosis hepática. Revista Chilena de Cirugía. 2003.
18. Guerrant R,WD,WP. Enfermedades Infecciosas Tropicales Madrid: Elsevier España; 2002.
19. Bowman.D MP. Parasitología para Veterinarios de Georgis. Novena Edición ed. Barcelona:Elsevier España; 2011.
20. Gunn A, Pitt SJ. Parasitology an integrated approach Oxford: Wiley- Blackwell; 2012.
21. Werner LA. PARASITOLOGÍA HUMANA Bernal Pérez M, editor. México: McGRAW- Hill; 2013.
22. Concern DLioPoPH. Centers for Disease Control and Prevention. [Online]; 2019. Acceso 4 de Abril de 2023. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/echinococcosis/>.
23. Muñoz P. Comentario Editorial: Diagnóstico y tratamiento de la hidatidosis. Revista Chilena de Infectología. 2007.
24. Nuñez ECD,EL,MA. Prevalencia y Factores de Riesgo de Hidatidosis en Población general del distrito de Ninacaca-Pasco. Anuario Facultad de Medicina. 2003.
25. Torgerson P. Economic effects of echinococcosis. Acta Tropica. 2003.
26. F A, R RS, NR. Intraspecific variation of Echinococcus granulosus in livestock from Peru. Veterinary Parasitology. 2007.
27. Gottstein B. Geographic and Travel Medicine. Major Tropical Syndromes by body system: Systemic infections. Hydatid disease; 2003.
28. Eckert J,DP. Biological, Epidemiological, and Clinical Aspects of Echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. Clin Microbiology. 2004.
29. Budke C,DP,TP. Global socioeconomic impact of cystic echinococcosis. Emerging Infectious Diseases. 2006.
30. Programme EUSF. HERACLES. [Online]; 2018. Acceso 4 de Abril de 2023. Disponible en: http://www.heracles-fp7.eu/images/global_distribution.jpg.
31. Szyfres A. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3rd ed.: OPS; 2003.
32. Hunter G,TS,MA,KR. Hunter's tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases Philadelphia: W.B.S. Company; 2000.

33. Atalay S,KH,HM. Unilocular Splenic Hydatidosis In A Sheep. The Internet Journal of Veterinary Medicine. 2005.
34. Chrieki M. Echinococcosis-An emerging parasite in the immigrant population. AmericanFamily Physician. 2002.
35. Leguia G,CE. Enfermedades Parasitarias y atlas parasitológico de camélidos SudAmericanos. 1st ed.: Editorial de Mar EIRL; 1999.
36. Urquart G,AJ,DL. Parasitología Veterinaria España: Editorial Acribia; 2001.
37. Barriga O. Las enfermedades parasitarias de los animales domésticos en la America Latina Santiago de Chile: Editorial Germinal; 2002.
38. Kassai T. Helmintología Veterinaria España: Editorial Acribia; 2002.
39. Larrieu E. Manual de epidemiología y salud pública veterinaria. La Pampa: U. N. La Pampa;2003.
40. Moro P,SP. Cystic Echinococcosis in the Américas. Parasitology International 55. 2006.
41. Larrieu E,BA,AP,TH. Echinococcosis quística: epidemiología y control en América del Sur.Parasitología Latinoamericana. ;(59): p. 82-89.
42. A.M. Ferreira FIMBRBSaAD. How Echinococcus granulosus. En Parasitology Today. Oxford;2000.
43. Mohammad Ebrahimipour AAMBMMAMMFH. Evaluation of the antigenic epitopes of EgAgB/1 and EgAgB/4 subunit antigens in G1 and G6 genotypes of Echinococcus granulosus using bioinformatics. Gene Reports. 2019; 15.
44. XU Qi DJbMXmWHyMHmLYj. Application of Biological Information Research on the Prediction of Echinococcus. INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON INFORMATION TECHNOLOGYIN MEDICINE AND EDUCATION. 2012.
45. TP. Hopp KW. Prediction of protein antigenic determinants from amino acid sequences. Proc Nat Acad Sci USA. 1981;; p. 3824- 3828.
46. Bowman DD. Chapter4 - Helminths. En Bowman DD. GEORGIS" Parasitology for Veterinarians.New York: ELSEVIER; 2021. p. 167-168.
47. Frayha GJ, Haddad R. COMPARATIVE CHEMICAL COMPOSITION OF PROTOSCOLICES AND HYDATID CYST FLUID OF ECHINOCOCCUS GRANULOSUS (CESTODA}. International Journal for Parasitology. 1980; 10: p. 359 - 364.
48. A B, Z S, O A, Z A, G A. Serological diagnosis of cystic echinococcosis in cattle. FoliaParasitologica. 2017.
49. García Espinosa B, Rubio Campal F, Carrasco Carrasco M. Inmunología. Aplicaciones practicasen Hematología y Microbiología: Paraninfo; 2002.

50. Ocronos RMydE. Revista Médica. [Online]; 2019. Acceso 4 de 4de 2023. Disponible en: <https://revistamedica.com/tecnica-de-inmunologia-servicio-de-anatomia-patologica/reaccion-antigeno-anticuerpo/>.
51. P. Margareta Mühlhauser JLR. Laboratorio de microbiología: conocimientos básicos para un clínico. Revista médica clínica los Condes. 2014.
52. Velasco Mamani N. EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO EPIDEMIOLÓGICO DE LA HIDATIDOSIS EN LA REGION DE TACNA DEL 2000 AL 2010. Repositorio de tesis Universidad Jorge Basadre Grohmann de Tacna. 2013.
53. Mescua Leiva GK. FRECUENCIA DE DECOMISOS POR EQUINOCOCOSIS QUÍSTICA EN BOVINOS BENEFICIADOS EN EL MATADERO SAN PEDRO - LURÍN, DURANTE EL PERIODO 2014 – 2015. Repositorio de tesis Universidad Científica del Sur. 2019.
54. Sheeba A, Sangaran A, Latha BR. Diagnosis of cystic echinococcosis in buffaloes by native 8kDa antigen using latex agglutination test (LAT). Indian Society of Parasitology. 2015.
55. Sheela Devi Chandrakesan SCP. Latex agglutination test (LAT) for antigen detection in the cystic fluid for the diagnosis of cystic echinococcosis. Diagnostic microbiology and infectious disease. 2003.
56. Szyfres B, Kagan I. PRUEBA MODIFICADA DE AGLUTINACION LATEX COMO PROCEDIMIENTO TAMIZ PARA HIDATIDOSIS. Journal of Parasitology. 1963;(49).
57. Zavaleta Quispe F. Validación de la prueba del Kit Elisa para el diagnóstico de hidatidosis Bovina. Repositorio de Tesis Universidad Nacional del Altiplano. 2014.
58. Astudillo O, Bava A. Evaluación de la prueba rápida VIRAPID® Hidatidosis. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. 2018;; p. 355-360.
59. Maps G. Google. [Online]; 2020.
60. Thompson, R, Mcmanus D. Towards a taxonomic revision of the genus Echinococcus. Trends Parasitology. 2002.

ANEXOS

Anexo 1

Mapa de ubicación

Imagen 1. SERMAMET. 9SERMAMET, Camal Metropolitano



Google maps, 2023 (59)

Croquis experimental

Se elaboró el Buffer Glicina a PH 8.2 en los laboratorios del Fundo Huasacache de la Universidad Católica de Santa María donde se ubica la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia en Huasacache, Distrito de Hunter – Arequipa.

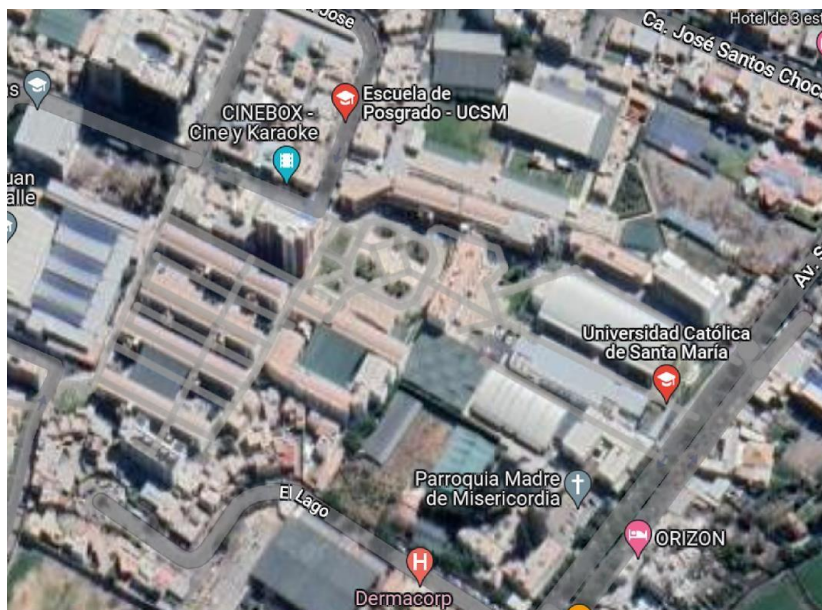
Imagen 2. Fundo Huasacache



Google maps, 2023 (59)

La elaboración del antígeno se realizó en el laboratorio del pabellón F salón 304, de la Universidad Católica de Santa María.

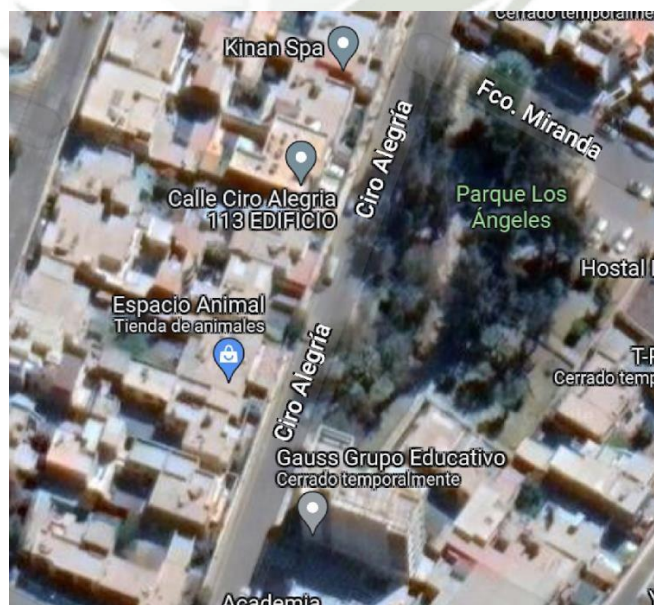
Imagen 3. Mapa de la universidad Católica de Santa María.



Goole maps, 2023. (59)

La prueba de aglutinación y diálisis se efectuó en mi Domicilio donde ambientó unpequeño laboratorio, este se localizó en la Calle Ciro Alegría Número 107,urbanización Magisterial 1, perteneciente al distrito de Arequipa.

Imagen 4. Domicilio propio.



Google maps, 2023 (59)

Anexo 02

Ficha técnica y método de preparación de Bolsa de Diálisis MWCO: 7KDA

Tubo de diálisis RC MD 25/34/44/55/77mm de bolsa de diálisis de celulosa regenerada MW7000 de laboratorio de 1 o 5 metros

Artículo:

bolsa de diálisis

Peso Molecular límite:

MW: 7000

Material:

Hecho de celulosa regenerada

Cantidad:

1 metro/rollo o 5 metros/rollo

Aplicación:

Utilizado principalmente en diálisis de laboratorio.

Recordatorio de consumo:

Este producto solo se utiliza para investigación científica de laboratorio y no se debe utilizar para otros fines.

Instrucciones de la Bolsa de Diálisis: Parámetros técnicos:

Estabilidad de PH: 5 A 9.

Niveles de contaminantes: sulfuro <0.3%, metales pesados <50ppm.

Compatibilidad Química: compatible con la mayoría de las sales, incluido CaCl_2 y $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, compatible también con solventes de agua y solventes orgánicos comúnmente utilizados en biología molecular y enzimología, como el alcohol isopropílico, etanol y acetona.

Resistencia a temperatura: puede ser hervido o autoclavado.

Adsorción proteica: menos de 1 ng de proteína por gramo de bolsa de Diálisis.

Tratamiento pre-uso de la bolsa de diálisis:

1. Cortar pequeños pedazos de la bolsa de diálisis de 10 a 20 cm por pedazo.
2. Hervir la bolsa de diálisis en agua de Mesa por 10 minutos en una solución al 2% de bicarbonato de sodio y 1 mmol por litro de EDTA (PH 8).

3. Lavar a fondo la bolsa de diálisis con agua destilada.
4. Hervir la bolsa de diálisis por 10 minutos en 1 mmol/L de EDTA (PH- 8.0)
5. Después de enfriar, preservar a 4 grados °C, debemos asegurarnos de que la bolsa de diálisis esté siempre sumergida en esta solución, es necesario utilizar guantes para poder usar la bolsa cada vez que se necesite. Llenar la bolsa de diálisis antes de usarla, vaciarla y limpiarla. (es posible omitir los pasos 2, 3, 4 para lavar con agua destilada)

Figura 1. Solución previa a ebullición.

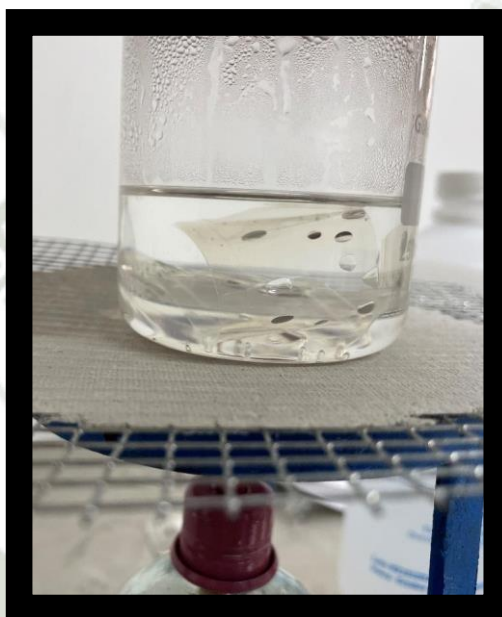


Figura 2. Lavar la bolsa con agua destilada

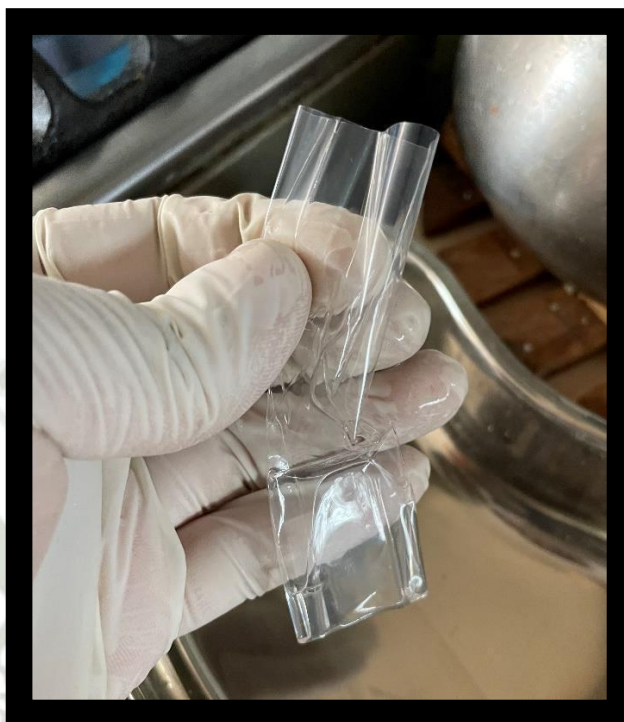


Figura 3. Refrigerar a 4 grados °C, hasta su uso.



Anexo 3

Método de elaboración de Buffer Glicina

Materiales de laboratorio:

- Vaso de precipitados de 1 litro.
- Mechero de Bunsen.
- Rejilla de asbesto.
- Trípode de laboratorio.
- Termómetro de laboratorio.

Reactivos y Soluciones:

- Cloruro de Sodio (NaCl) químicamente puro 9 gramos.
- Cloruro de Calcio (CaCl_2) 1 gramo.
- Glicina 7.31 gramos.
- Hidróxido de Sodio (NaOH-1N) 3.5ml.
- Agua Destilada 1 litro

Procedimiento:

1. Colocar medio litro de agua destilada a calentar a 50 °C, seguidamente agregar el cloruro de sodio y el cloruro de calcio.

Imagen 1. solución calentándose.



2. Calentar la solución hasta este transparente (disuelta).

Imagen 2. Solución ya homogenizada.



3. Dejar reposar a temperatura ambiente.
4. Agregar a mi solución el resto de agua destilada, la glicina y el hidróxido de sodio.

Imagen 3. Glicina e Hidróxido de Sodio.



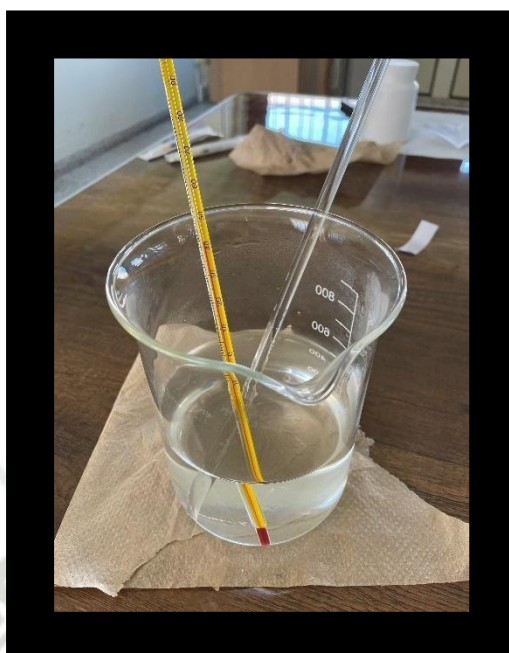
5. Medir PH.

Imagen 4. Utilizando el medidor de PH digital para ajustar el PH del buffer.



6. Agitar brevemente y almacenar en frasco o recipiente hermético.

Imagen 5. Midiendo la temperatura del buffer para luego ser almacenado.



Anexo 4

DIALISIS DEL ANTIGENO HIDATIDICO:

Materiales:

- 2 vasos de precipitados de 250 y 600 ml
- Clips para bolsa de Diálisis
- Bolsa o membrana de Diálisis MWCO: 7000 Kda
- Termómetro de ambiente con sonda
- Refrigeradora atemperada a 4 °C
- Jeringa estéril
- Frasco estéril

Procedimiento:

- Con una jeringa extraer contenido de los tubos Falcon en forma estéril, y colocarlo en la bolsa de diálisis (previamente tratada) y con un clip inferior ya previamente puesto.
- Una vez traspasado el líquido Hidatídico a la Bolsa de Diálisis deberemos colocarle un clip superior para cerrar la bolsa herméticamente de cada uno de sus extremos.
- Colocar nuestra bolsa de Diálisis con líquido hidatídico en un vaso de precipitados de 600 ml.

Figura 1: Vaso de precipitados, en su interior se observa la bolsa con el contenido a dializar.



- Refrigerar a 4°C (Fig. 3), durante 3 días y cambiar el agua destilada 3 veces durante esos 3 días. El volumen de agua destilada deberá ser en total de 100 veces el contenido del líquido hidatídico y por cada cambio de agua esta deberá exceder 33 veces la cantidad de nuestro líquido hidatídico a dializar (Fig. 4).

Figura 2. Termómetro. Es necesario atemperar a 4°C por lo que usamos un termómetro con sonda y calibramos la refrigeradora, puede haber una varianza de + - 0.8 grados debido a los cambios de temperatura al realizar los cambios de agua.

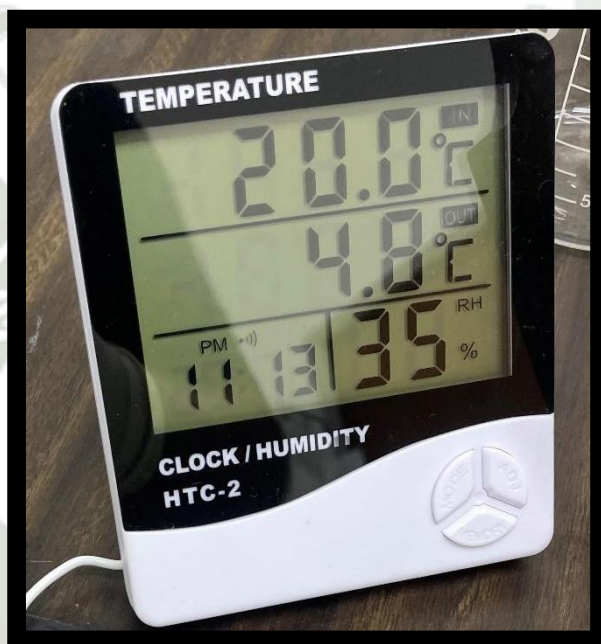


Figura 3. Líquido Hidatídico en proceso de Diálisis. Se utilizó 11 ml de líquido hidatídico y 363 ml de aguadestilada en cada cambio de agua.



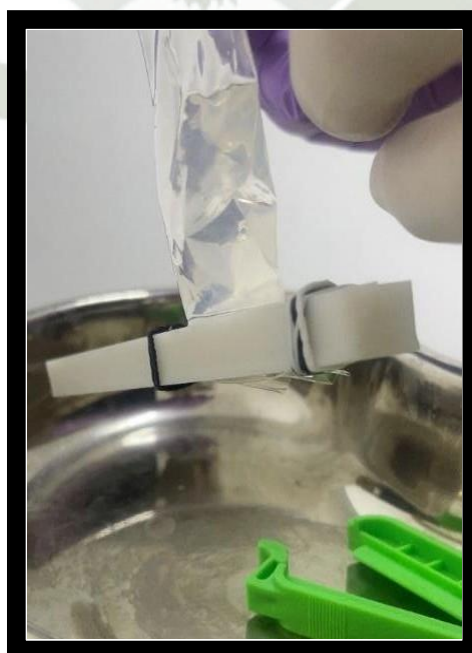
- Luego de dializado nuestro líquido tomará un color opalescente debido a la precipitación de ciertas fracciones proteicas.

Figura 4. Líquido Hidatídico Dializado. Nótese el cambio de color. Debemos manipular la bolsa con el contenido dializado solamente con guantes.



Luego de dializado, con mucho cuidado abrimos el clip de compresión superior, para poder insertar una jeringa estéril y extraer el líquido para congelarlo o liofilizarlo según la preferencia.

Figura 5. Insertamos la jeringa para extraer y pasar el líquido a un frasco estéril.



Anexo 5

CUADRO DE REGISTROS:

Bovinos adultos positivos que presentaban lesiones correspondientes a Hidatidosis

<u>Resultados sueros</u>		<u>Control Positivo</u>	
Suero control (+)	Positivo	Negativo	
1	x		
2	x		
3	x		
4	x		
5	x		
6	x		
7	x		
8	x		
9	x		
10			x
11	x		
12	x		
13			x
14	x		
15	x		
16	x		
17	x		
18	x		
19			x
20	x		
21	x		
22	x		
23	x		
24	x		

Bovinos adultos negativos que no presentaban ninguna enfermedad

<u>Resultados sueros control negativo</u>		
Suero Control (-) Negativo	Positivo	Negativo
1		X
2		X
3		X
4		X
5		X
6		X
7		X
8		X
9		X
10		X

Sueros control	Nro.
Positivo	24
Negativo	10
Total	34

ANEXO 6

SECUENCIA FOTOGRÁFICA PROCEDIMENTAL

Imagen 1. Pulmón bovino con quistes multiloculares, obtenido al momento del beneficio en el Camal Metropolitano.

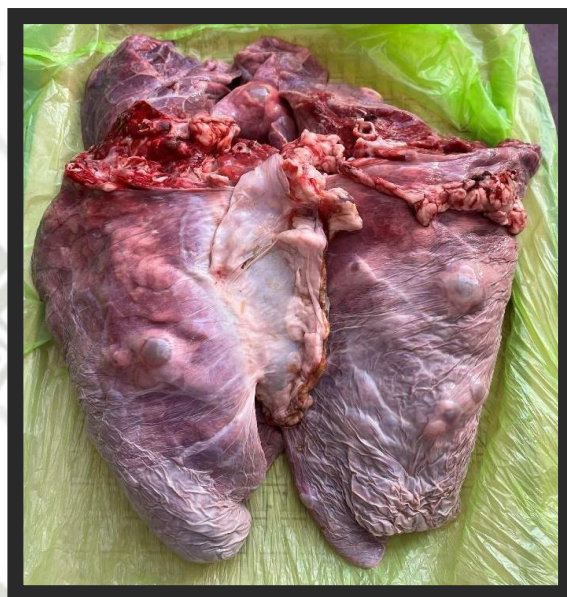


Imagen 2. Pulmón Bovino con quiste hidatídico unilocular.



Imagen 3. Pulmón Bovino infectado con Quistes multiloculares, se puede observar el severo daño al parénquima pulmonar.



Imagen 4. Extracción en forma aséptica de líquido Hidatídico



Imagen 5. Protoexcolices de Líquido Hidatídico, observados en el microscopio a 10X.

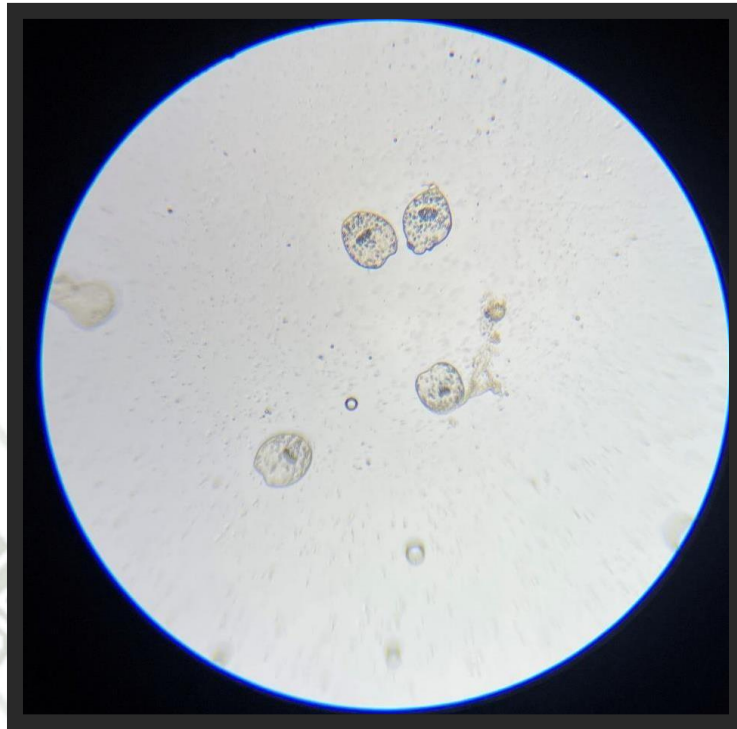


Imagen 6. Muestras de sangre obtenidas en tubos vacutainer, al instante del beneficio, con muestras de quistes en el interior de los tubos Falcon de centrifuga



Imagen 7. Líquido Hidatídico en Reposo, cada tubo de centrifuga contenía el líquido hidatídico total de un pulmón



Imagen 8. Tubos de centrifuga con contenido de Líquido de Quiste Hidatídico



Imagen 9. Luego de sedimentado se extrae el líquido hídrico sobrenadante y se introduce en una bolsa de diálisis, se refrigera a 4 grados y se realizan cambios diarios de agua destilada hasta completar 96 horas de diálisis.

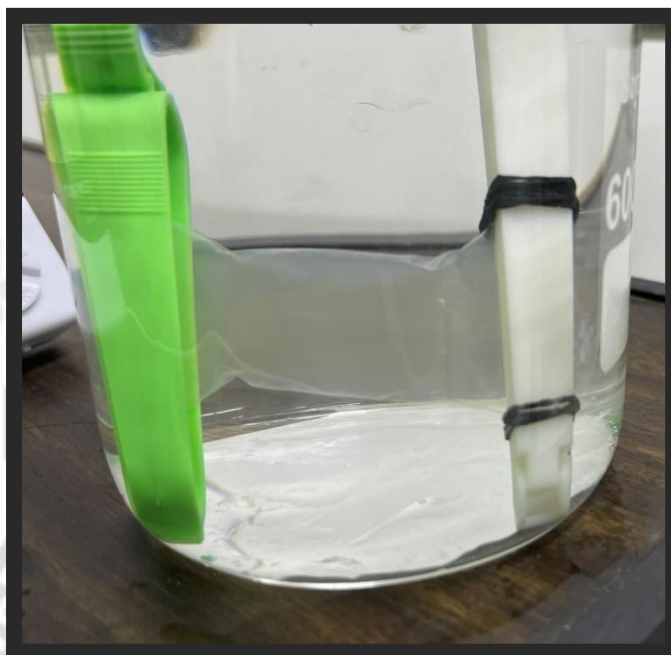


Imagen 10. Buffer Glicina a PH 8.2.



Imagen 11. Solución Particulada de Látex de laboratorios Sygma USA, a la cual se le añadió buffer glicina a PH 8.2.

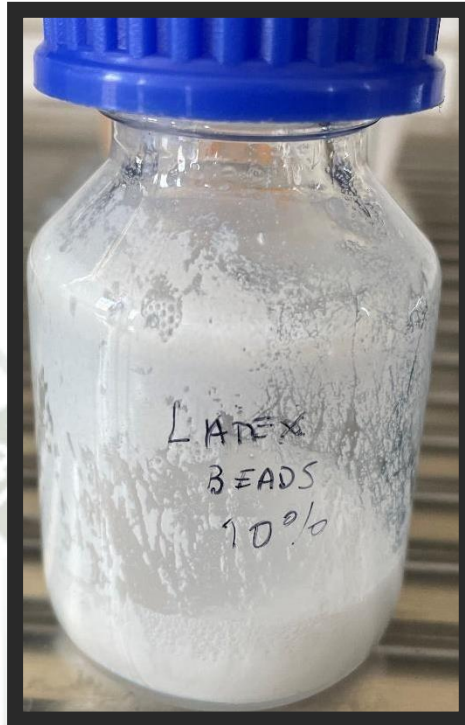


Imagen 12. A la izquierda se encuentran muestras de suero bovino y líquido hidatídico, previamente dializadas y listas para su utilización, a la derecha se observan tubos falcon previos a su uso.



Imagen 13. Tubos falcon a los que, con ayuda de una pipeta, se le colocó 1 ml a cada uno de Buffer Glicina, y seguidamente 1.5ml de Líquido Hidatídico.



Imagen 14. Extrayendo La solución particulada de Látex





Imagen 15. Se añadió la solución de látex en cada tubo falcon previamente llenado con buffer Glicina y Líquido Hidatídico.



Imagen 16. Tubos Falcón ya con la solución antigénica lista para incubar.

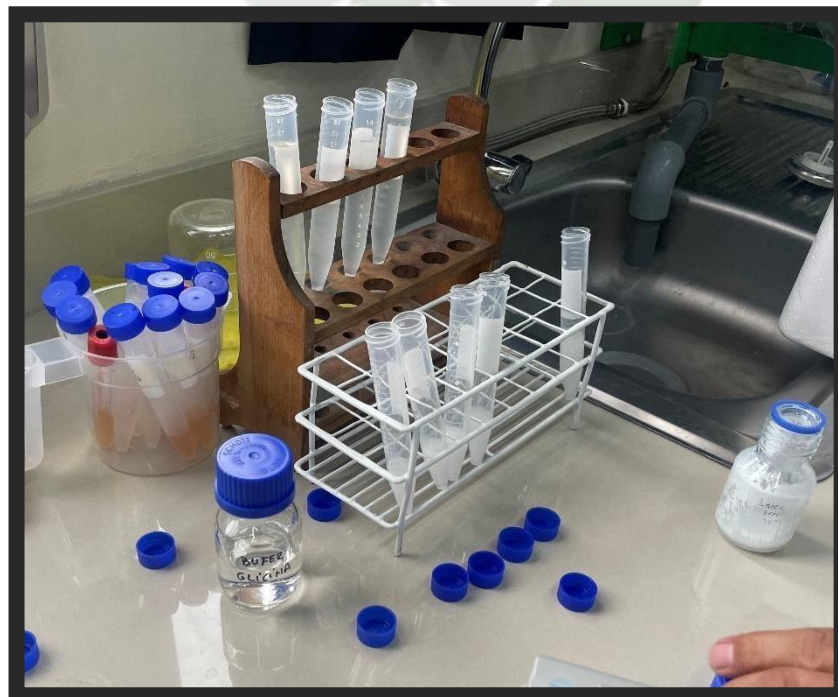


Imagen 17. Incubando reactivo de látex recientemente preparado, durante 30 minutos a 37 °C.



Imagen 18. Sueros control positivos, previamente inactivados para anular el complemento, a 56 °C, durante 30 minutos.

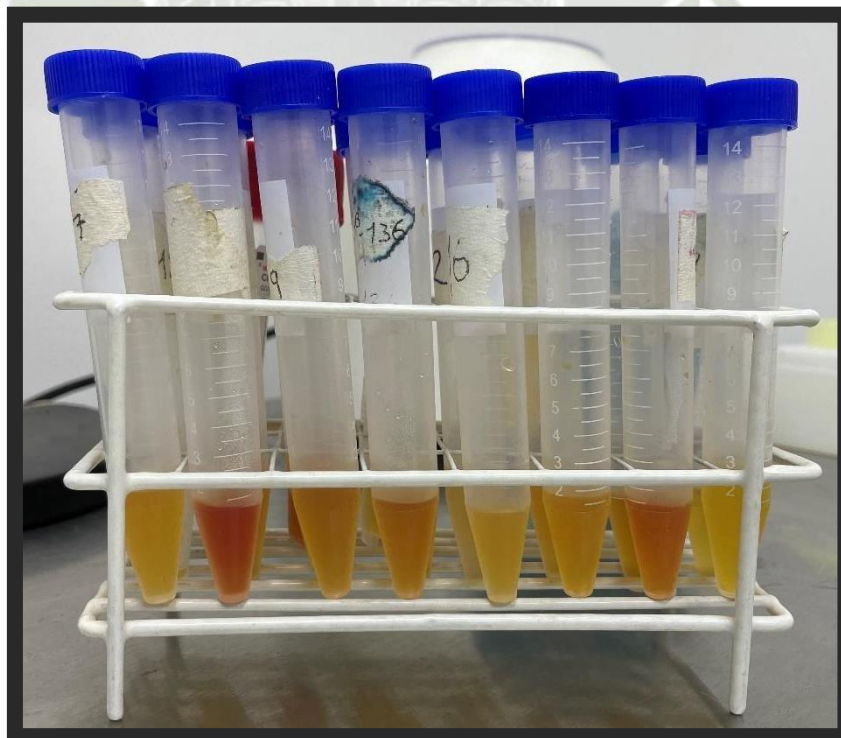


Imagen 19. Muestras de Suero Control Positivas, previamente inactivados, en un total de 24.

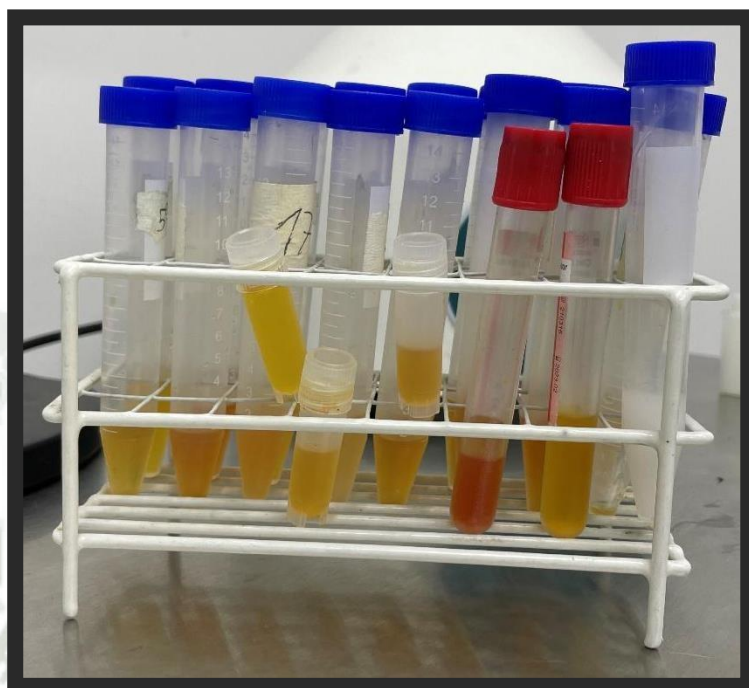


Imagen 20. Pipeta previa para calibrarse, al fondo se observa unas de las 24 placas de vidrio con fondo oscuro que servirán para realizar la prueba.

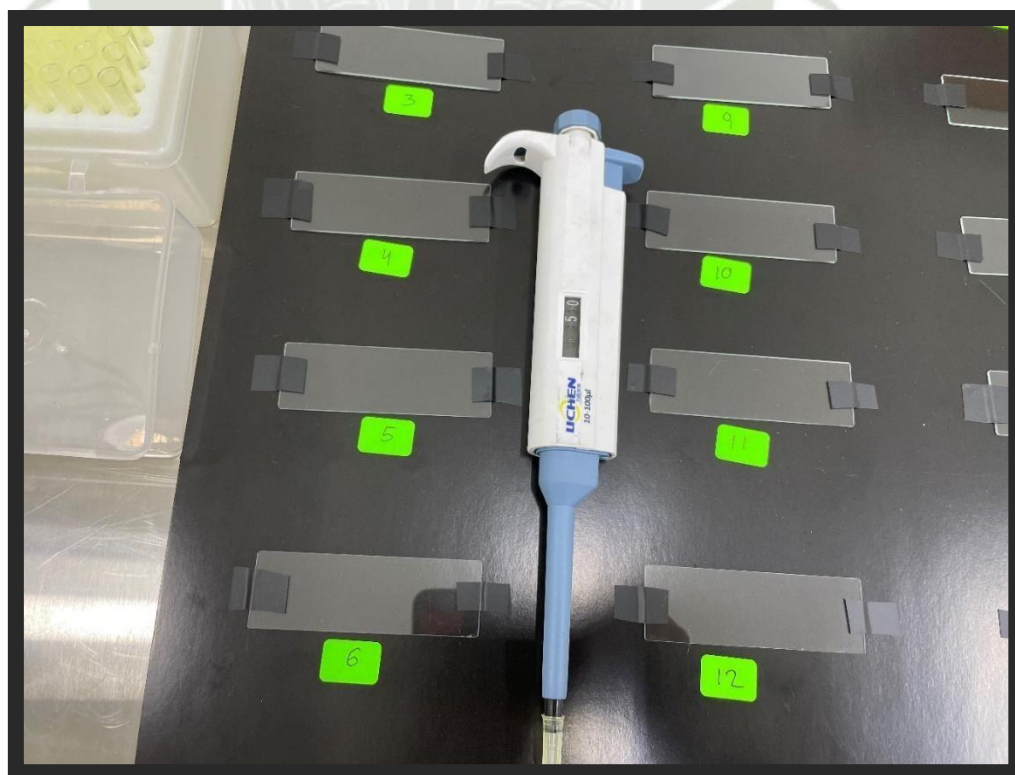


Imagen 21. Primera Muestra positiva a Hidatidosis, se muestra aglutinación distribuida uniformemente.

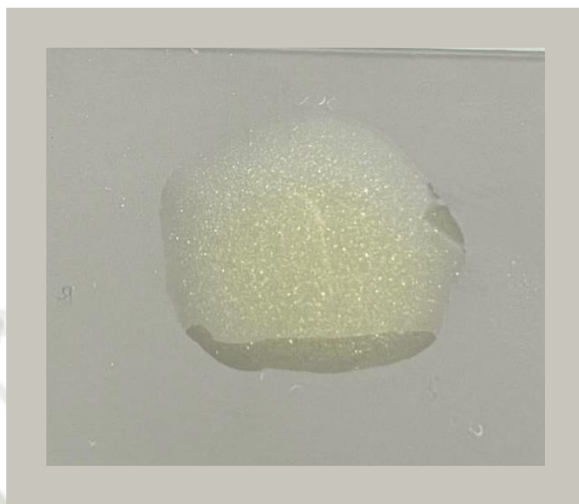


Imagen 22. Primera muestra positiva a Hidatidosis, comparada con un control negativo de la misma.



Imagen 23. Segunda muestra Positiva.

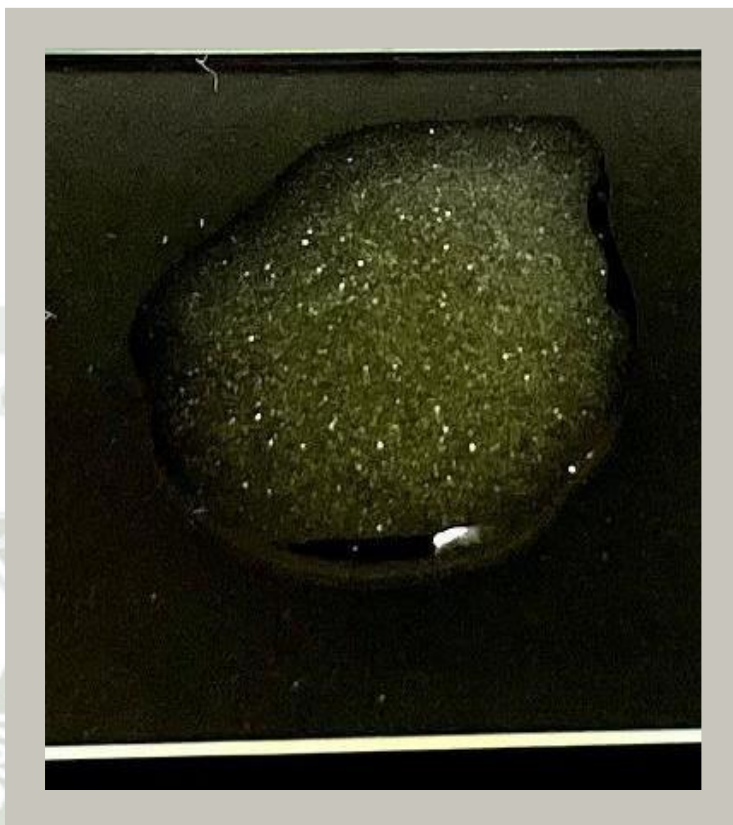


Imagen 24. Tercera muestra Positiva.

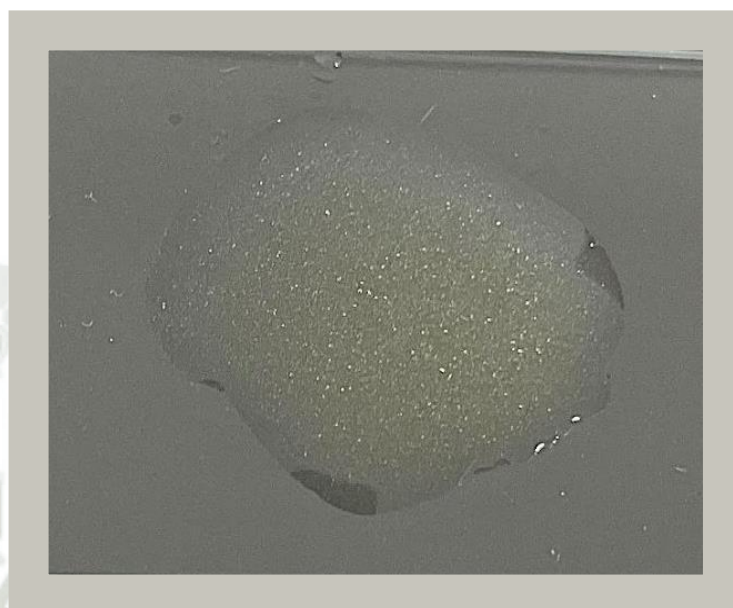


Imagen 25. Cuarta muestra Positiva, poca aglutinación.



Imagen 26. Quinta muestra Positiva



Imagen 27. Sexta Muestra Positiva

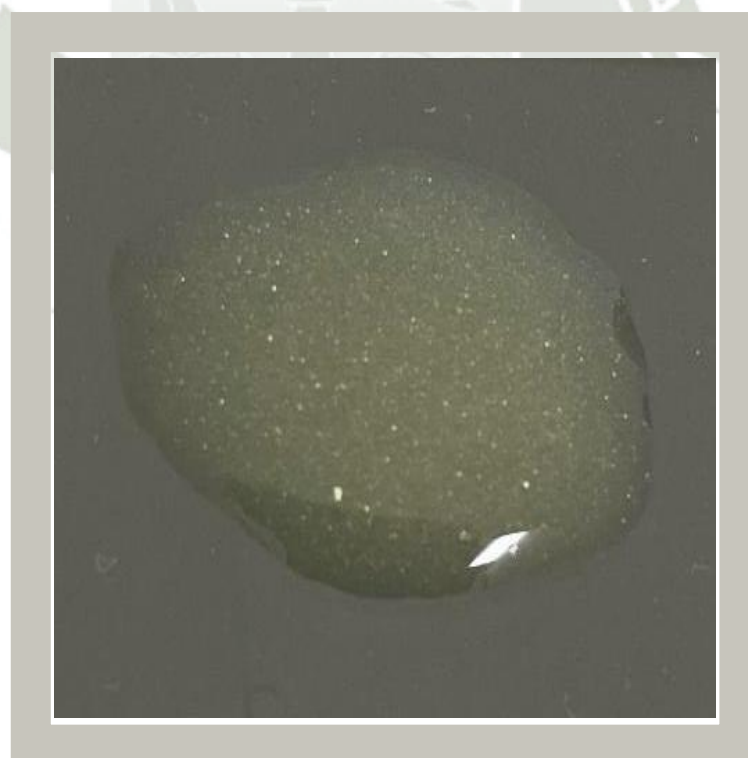


Imagen 28. Séptima muestra Positiva.



Imagen 29. Octava Muestra Positiva.

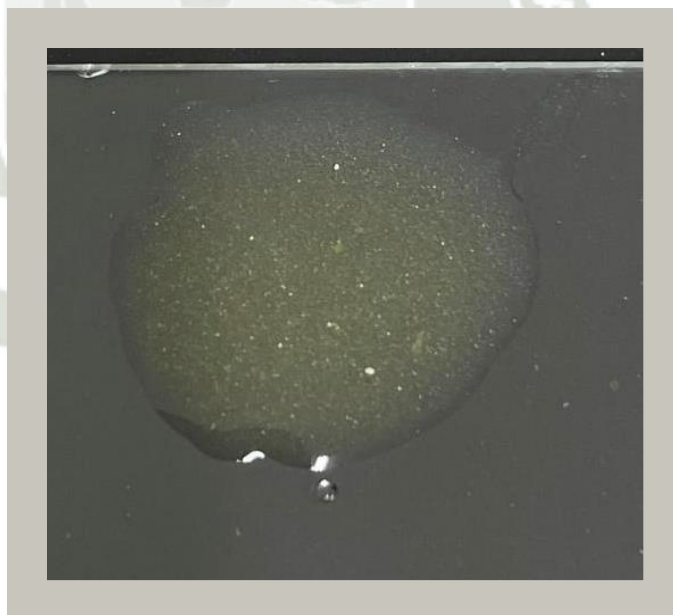


Imagen 30. Novena Muestra Positiva.

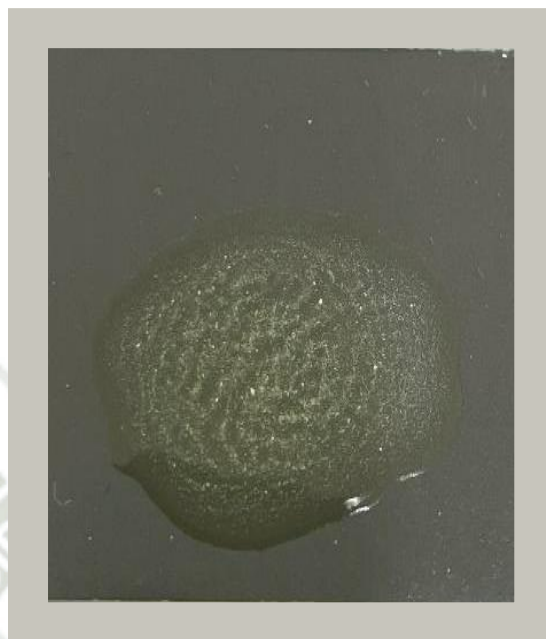


Imagen 31. Décima muestra, debido a la ausencia de aglutinación se le considera negativa.

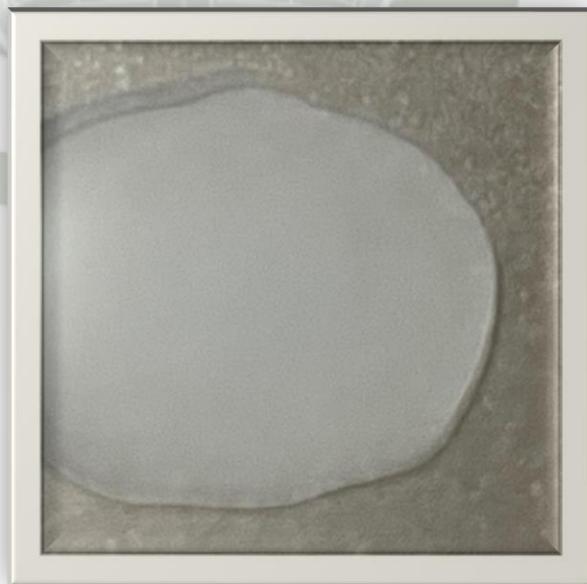


Imagen 32. Décimo Primera muestra Positiva.

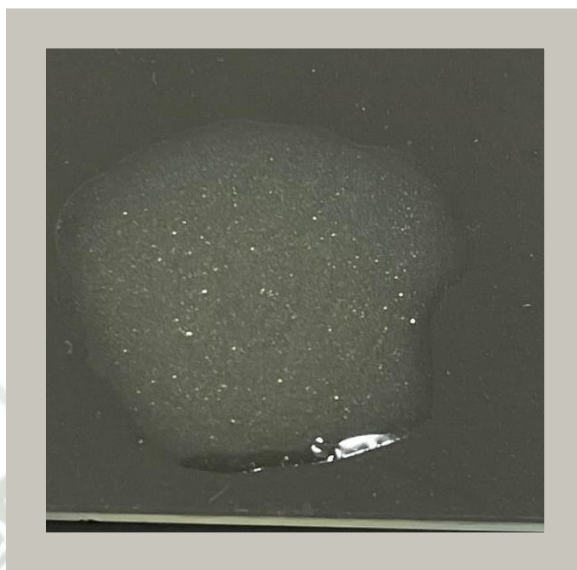


Imagen 33. Decimosegunda muestra Positiva.

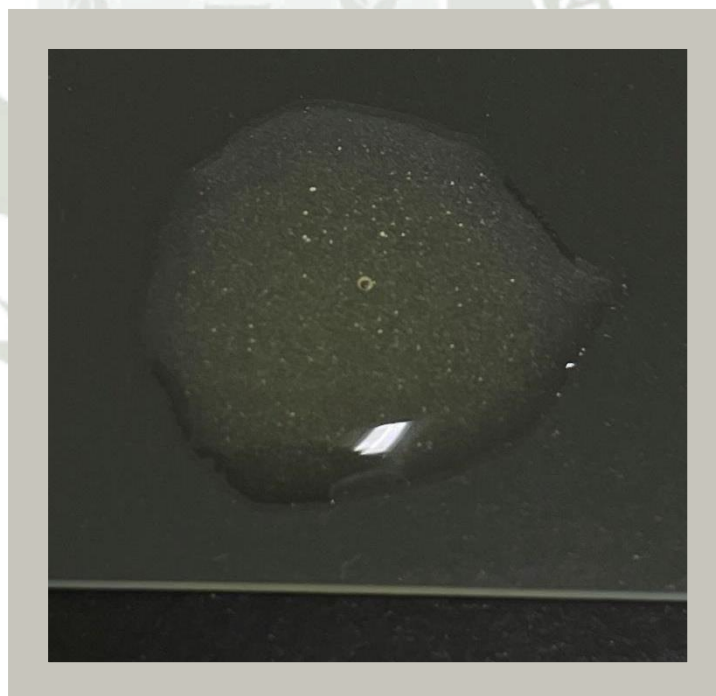


Imagen 34. La decimotercera muestra, debida a la ausencia de aglutinación se le considera negativa.

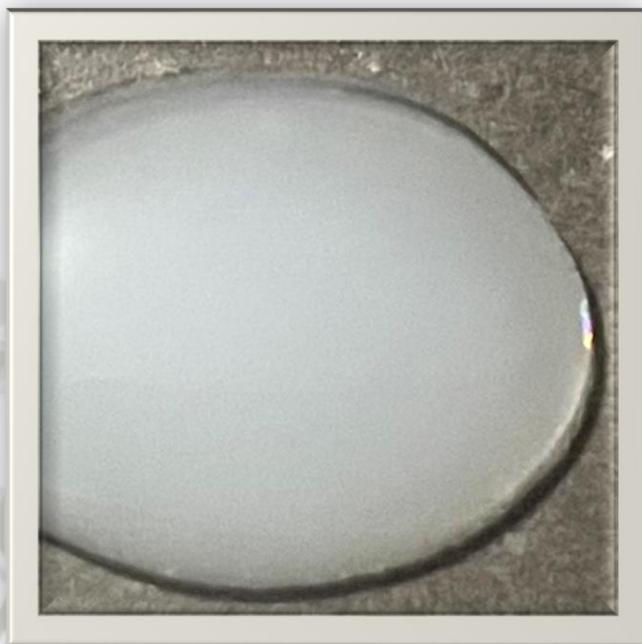


Imagen 35. Decimocuarta muestra Positiva.

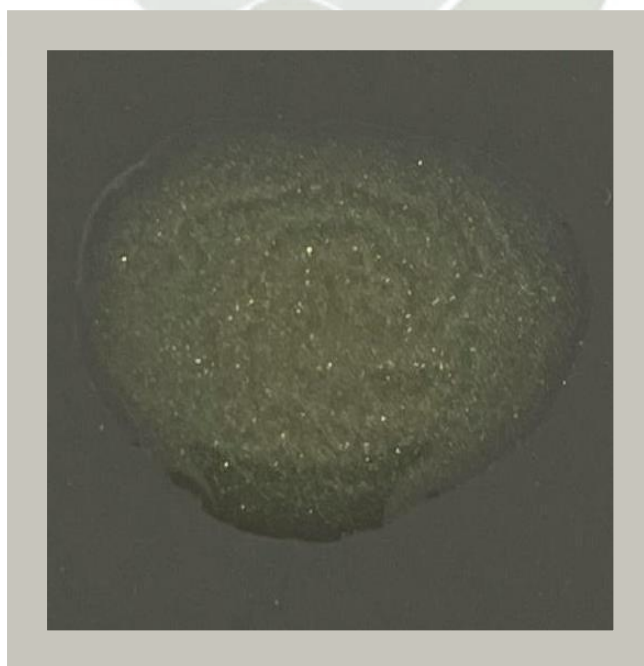


Imagen 36. Decimoquinta muestra Positiva.

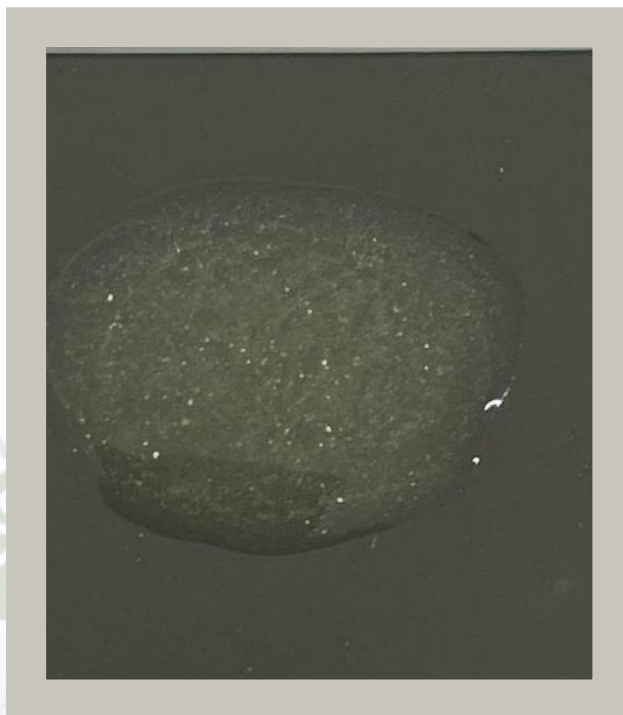


Imagen 37. Decimosexta Muestra Positiva.

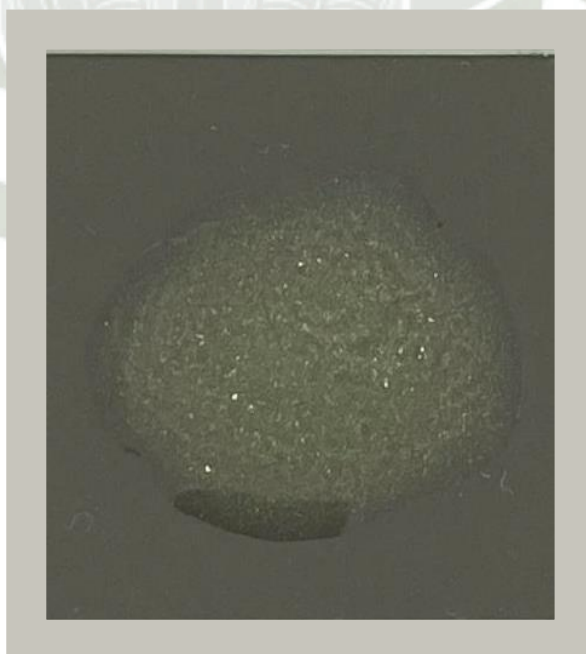


Imagen 38. Decimoséptima Muestra Positiva.

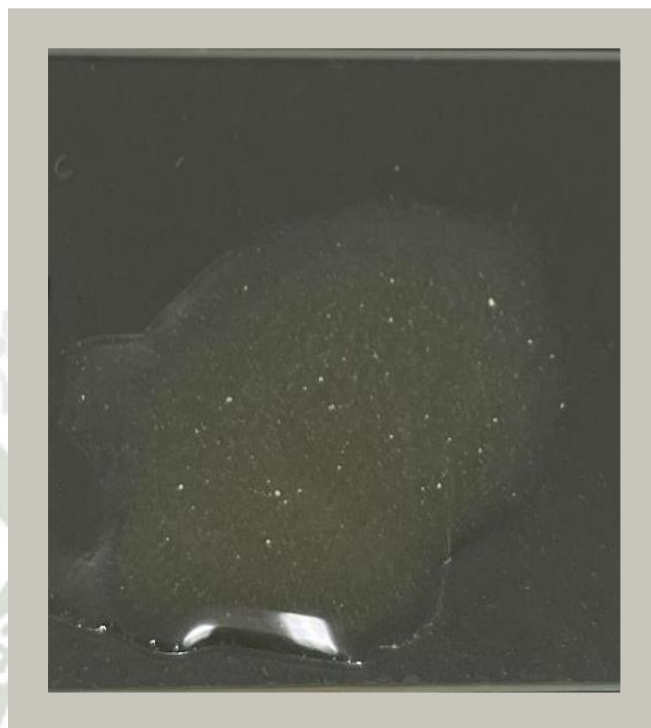


Imagen 39. Decimoctava muestra positiva.



Imagen 40. Décimo novena muestra, dada la ausencia de aglutinación se le considera negativa.

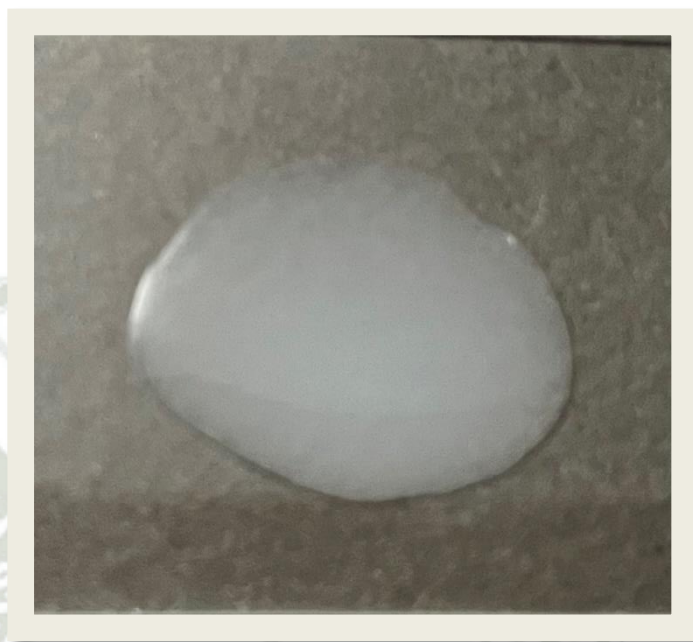


Imagen 41. Vigésima muestra positiva.

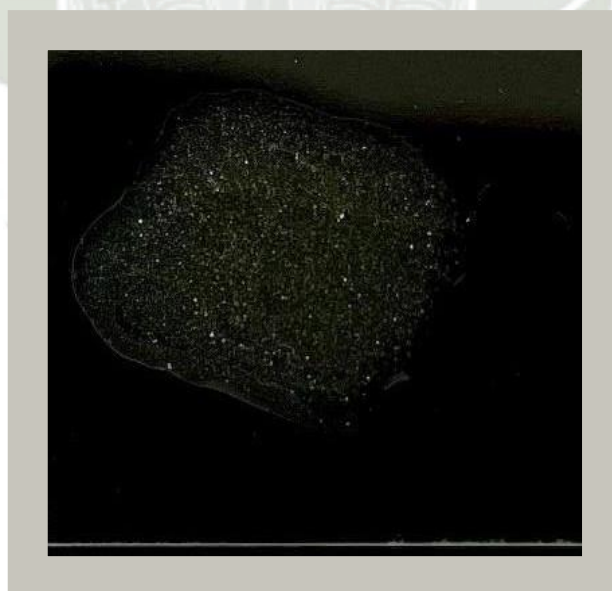


Imagen 42. Vigésimo primera muestra Positiva.

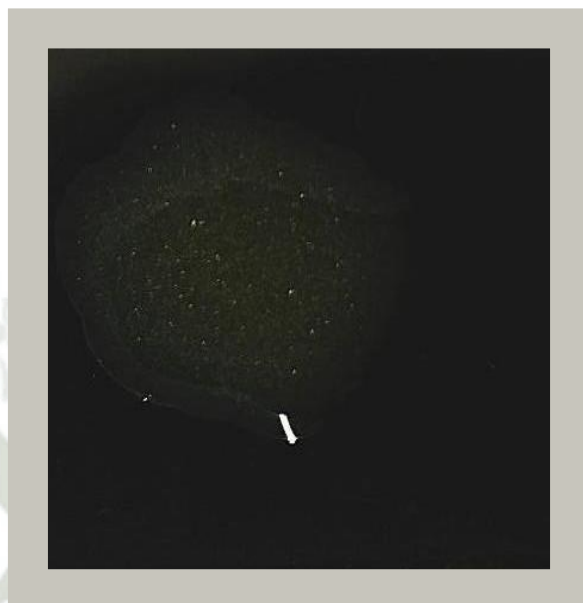


Imagen 43. Vigésimo Segunda Muestra Positiva.

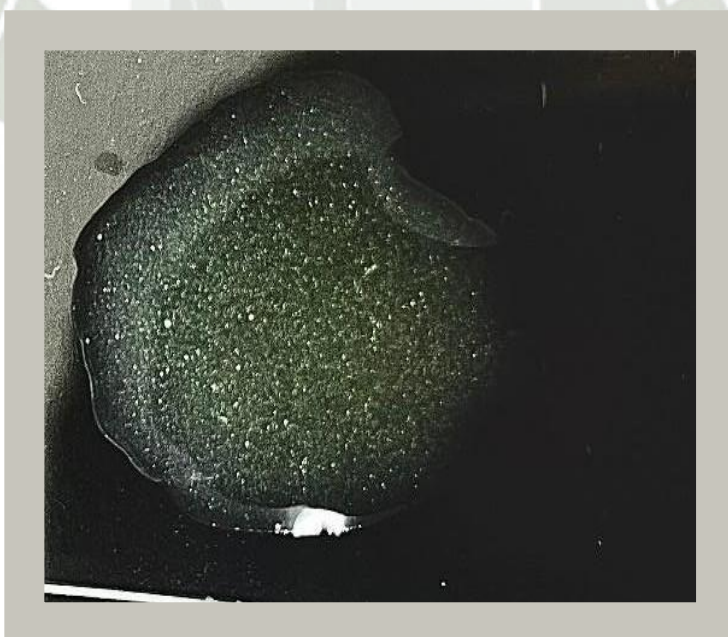


Imagen 44. Vigésimo Tercera Muestra Positiva.

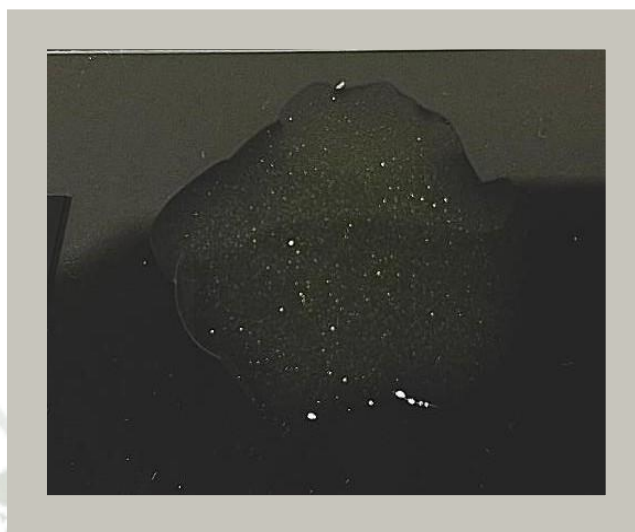


Imagen 45. Vigésimo Cuarta Muestra Positiva.

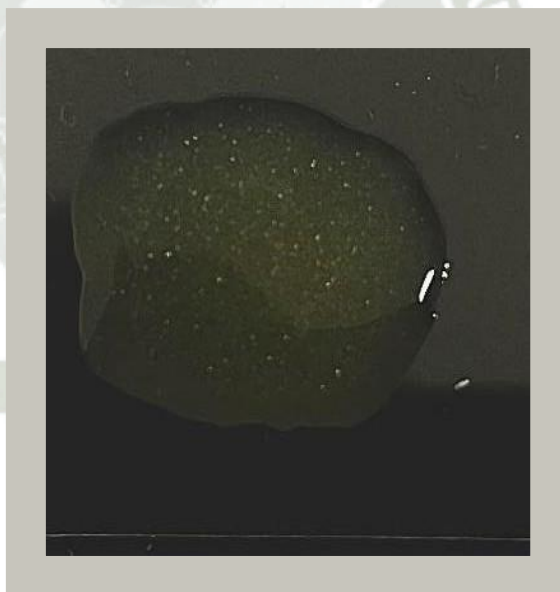


Imagen 46. Diez muestras control negativo, sin presentar aglutinación.

