

EVALUACION DE LAS PRUEBAS DE DOBLE INMUNODIFUSION, CONTRA INMUNOELECTROFORESIS E INMUNOENSAYO EN CAPA DELGADA PARA DETECTAR ANTICUERPOS, ANTI-GASTEROPHILUS EN CABALLOS PARASITADOS NATURALMENTE

M.V.Z. Mario Escartín Peña
C.R. Bautista Garfias *

RESUMEN

Se examinaron los estómagos y primera porción del duodeno de 132 caballos sacrificados en el rastro T.I.F. de la ciudad de Aguascalientes, Ags., entre los meses de febrero de 1989 y abril de 1990. Se colectaron larvas de *Gasterophilus* y se identificó la especie de acuerdo a sus características morfológicas. Asimismo, se analizaron los sueros de los equinos para determinar la presencia de anticuerpos anti-*Gasterophilus* por medio de las pruebas de doble inmunodifusión (DID), contra inmunolectroforesis (CIE) e inmunoensayo en capa delgada (ICD), utilizando como antígeno, un extracto somático crudo de L₃ de *Gasterophilus intestinalis*. De los 132 caballos, 50 (37.9%) presentaron larvas de *Gasterophilus* spp. con un promedio de 55.3 larvas/animal. *G. intestinalis* se encontró en 41 (31%) equinos, mientras que *G. nasalis* se observó en 30 (22.7%) de éstos. De los 50 caballos parasitados, 9, 30 y 32 se detectaron con anticuerpos anti-*Gasterophilus* por medio de las pruebas DID, CIE e ICD, respectivamente. El porcentaje de sensibilidad fue de 18 para DID, 60 para CIE y 64 para ICD.

INTRODUCCION

Las larvas de la mosca *Gasterophilus* spp. parasitan caballos, burros y mulas en prácticamente todo el mundo (Zumpt 1965), limitando las ganancias de peso en los Equidae parasitados en

comparación con los no infectados (Broce, 1985). Los signos clínicos asociados con las larvas en el estómago generalmente son inespecíficos por lo que el diagnóstico de gastrofilosis es difícil. Por otra parte, se ha demostrado que es posible detectar el parasitismo por larvas de moscas miasígenas, tales como *Hypoderma* en bovinos (Boulard, 1975), *Lucilia Cuprina* en borregos (O'Donnell *et al.*, 1980) y *Oestrus ovis* en cabras (Bautista *et al.*, 1982) y ovinos (Bautista *et al.*, 1988) por medio de pruebas serológicas. El presente estudio fue llevado a cabo con objeto de: A) Conocer la frecuencia de *Gasterophilus* spp. en caballos sacrificados en el rastro Tipo Inspección Federal (T.I.F.) de la ciudad de Aguascalientes, y B) Evaluar la detección de anticuerpos contra larvas de *Gasterophilus* en el suero de caballos, utilizando un extracto somático crudo de L₃ de *G. intestinalis* en las pruebas de doble inmunodifusión, contra inmunolectroforesis e inmunoensayo en capa delgada.

MATERIAL Y METODOS

Animales: Se examinaron 132 caballos (90 hembras y 42 machos) sacrificados en el Rastro T.I.F. de la ciudad de Aguascalientes, Ags., de la siguiente manera 20, 20, 26 y 5 en Febrero, Marzo, Agosto y Septiembre de 1989 respectivamente y 30, tanto en marzo como en abril de 1990. Los equinos provenían de 11 diferentes estados de la República Mexicana y sus edades oscilaron entre los 2 y 18 años de edad.

Cuadro 1. FRECUENCIA DE *Gasterophilus* spp. EN CABALLOS DEL NORTE Y CENTRO DE LA REPUBLICA MEXICANA, SACRIFICADOS EN EL RASTRO T.I.F. DE LA CIUDAD DE AGUASCALIENTES, AGS., ENTRE FEBRERO DE 1989 Y ABRIL DE 1990

Región geográfica	No. equinos	Presencia de <i>Gasterophilus</i> spp. *	
		+	-
<i>Norte:</i>			
Zacatecas	8	4 (50)	4 (50)
Durango	8	6 (75)	2 (25)
Nuevo León	7	7 (100)	
Tamaulipas	4	3 (75)	1 (25)
Nayarit	4	2 (50)	2 (50)
Chihuahua	1	1 (100)	
Sub Total	32	23 (71.9)	9 (28.1)
<i>Centro:</i>			
Puebla	40	12 (30)	28 (70)
Hidalgo	38	6 (15.8)	32 (84.2)
Aguascalientes	14	7 (50)	7 (50)
Guanajuato	5	1 (20)	4 (80)
Jalisco	3	1 (33.3)	2 (66.6)
Sub Total	100	27 (27)	73 (73)
Total	132	50 (37.9)	82 (62.1)

* *G. intestinalis* y *G. nasalis*; promedio de 55.3 larvas/animal

Cuadro 2

NUMERO DE CABALLOS EXAMINADOS CON O SIN LARVAS DE *Gasterophilus* spp. AL SACRIFICIO Y PRESENCIA O AUSENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-*Gasterophilus* DETERMINADOS POR MEDIO DE DOBLE INMUNODIFUSION (DID), CONTRAINMUNOELECTROFORESIS (CIE) E INMUNOENSAYO EN CAPA DELGADA (ICD). COMO ANTIGENO SE UTILIZO UN EXTRACTO SOMATICO CRUDO DE L₃ DE *G. intestinalis*.

Presencia de <i>Gasterophilus</i> spp *	+	-
	50	82
Serología positiva por medio de:		
DID	9	0
CIE	30	0
ICD **	32	0
% de Sensibilidad		
DID	18	
CIE	60	
ICD	64	

% de Sensibilidad =

No. de equinos infectados con *Gasterophilus* positivos a la prueba X 100

No. total de equinos infectados con *Gasterophilus*

* *G. intestinalis* y *G. nasalis*

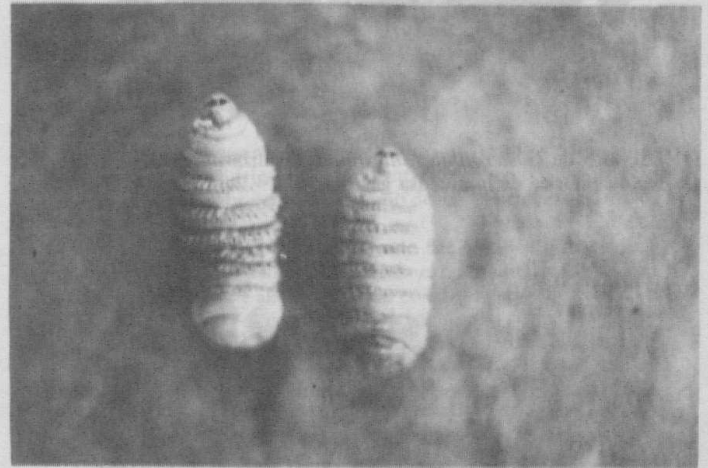
** Umbral de positividad = 1:8

Toma de muestras: Los estómagos y primera porción del duodeno de los equinos fueron examinados para determinar la presencia de larvas de *Gasterophilus*. Cuando se encontraron, éstas fueron contadas e identificadas hasta especie, de acuerdo a las características morfológicas de las larvas maduras (L₃) (Zumpt, 1965). Antes del sacrificio, se obtuvo sangre de la vena yugular, se dejó coagular y colectó el suero. Todos los sueros fueron congelados a -20°C hasta su uso. **Antígenos:** A partir de L₃ de *G. intestinalis* se preparó un extracto somático crudo de una manera similar a lo descrito por Bautista *et al.*, (1982, 1988) para obtener antígenos de larvas de *Oestrus ovis*.

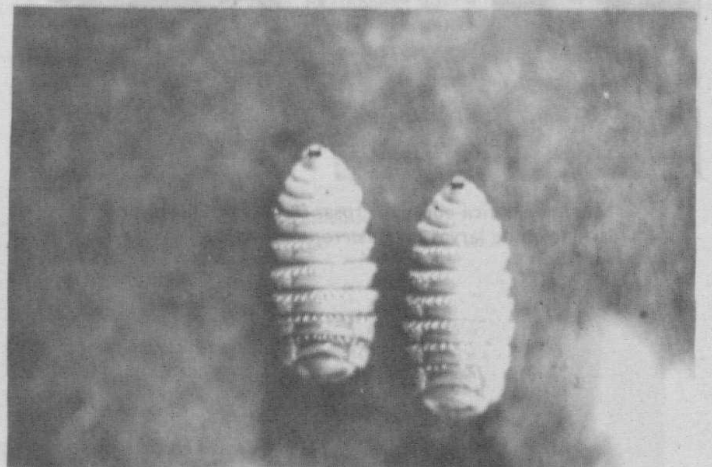
Pruebas serológicas: Las técnicas de doble inmunodifusión (DID) (Ruiz-Navarrete, 1986) contra inmuno electrodifusión (CIE) (Arriaga y Ruiz-Navarrete, 1986) e inmunoensayo en capa delgada (ICD) (Gómez, 1986) se llevaron a cabo utilizando antígeno de L₃ de *G. intestinalis*. La sensibilidad, definida como la capacidad para detectar parasitismo por *Gasterophilus* spp. en caballos, fue determinada para cada uno de los métodos (Tizard, 1982).

RESULTADOS Y DISCUSION

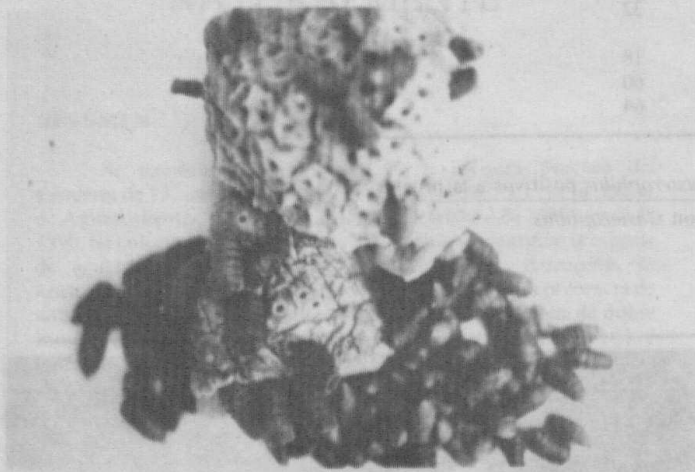
Cincuenta (37.9%) de los 131 caballos examinados, presentaron larvas de *Gasterophilus* spp.; observándose una mayor frecuencia por este parásito, en animales del Norte del país, en comparación con los del Centro (Cuadro 1). *G. intestinalis* se encontró en 41 (31%) equinos, mientras que *G. nasalis* fue hallado en 30 (22.7%) de éstos. La mayor frecuencia de *G. intestinalis* que la de *G. nasalis* concuerda con lo informado por Drudge *et al.*, (1975) en Kentucky, E.U.A. y por Principato (1989) en Umbria, Italia; a diferencia de lo comunicado por Tafolla (1983) en el rastro de Ixtapalapa, D.F. y por Nimi *et al.*, (1987) en el rastro de la Empacadora del Carmen, Nuevo León. En el Cuadro 2, se resumen los resultados de las pruebas serológicas; apreciándose que las que mejor funcionaron fueron las de CIE e ICD. Los resultados indican que sí es posible detectar anticuerpos anti-*Gasterophilus* en el suero de caballos parasitados. Se sugiere que en futuros estudios se evalúen antígenos de L₁ y L₂ de *Gasterophilus* (para determinar si se comportan igual o mejor que el antígeno de L₃) en pruebas más sensibles como es la de ELISA.



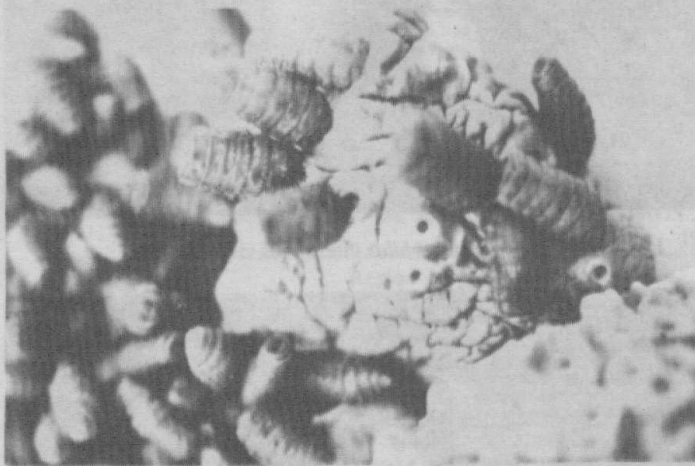
Larvas 3 (L-3) de *Gasterophilus intestinalis* vista dorsal.



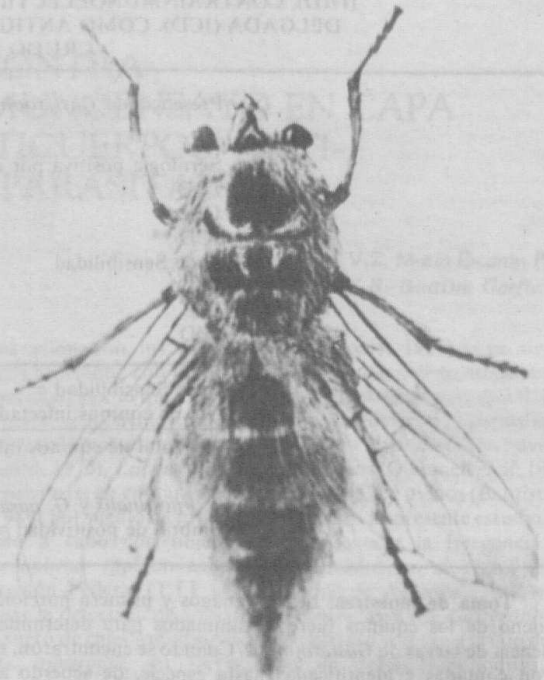
Larvas 3 (L-3) de *Gasterophilus nasalis* vista dorsal.



Larvas 3 de *Gasterophilus intestinalis* localizadas en la región pilórica de la mucosa gástrica.



Mucosa gástrica con numerosas úlceras producidas por la fijación de larvas de *Gasterophilus* spp.



Mosca adulta del Género *Gasterophilus* spp.

BIBLIOGRAFIA

- Arriaga de M., C. Ruiz-Navarrete, A. 1986. En: Morilla A y Bautista C.R. (eds) Manual de Inmunología, Ed. DIANA, México, D.F. pp. 69-71.
- Bautista, C.R.; Ruiz-Navarrete, A.; Morales, F. y Morilla, A. 1982. Folia Entomol. Méx: 52: 75-86.
- Bautista, C.R.; Angulo, R.M. y Garay, E. 1988. Med. Vet. Entomol. 2:351-355.
- Broce, A.B. 1985. En Silliams, R.E.; Hall, R.D.; Bruce, A.B. y Scholl, P.J. (eds.) Livestock Entomology, John Wiley & Sons, New York, pp. 90-93.
- Boulard, C. 1975. Ann. Rech Véter. 6: 143-154.
- Drudge, J.H.; Lyons, E.T.; Wyant, Z.N. y Tolliver, S.C. 1975. Am. J. Vet. Res. 36: 1585-1588.
- Gómez, A. 1986. En: Morilla A y Bautista C.R. (eds.) Manual de Inmunología, Ed. DIANA México, D.F. pp. 75-79.
- Nimi, M.K. et al. 1987. Resumen. VIII Reunión Anual AMPAVE, A.C. p. 47.
- O'Donnell, I.J. et al. 1980. Aust. J. Biol. Sci., 33: 27-34.
- Principato, M. 1989. Vet. Parasitol., 31: 173-177.
- Ruiz-Navarrete, A. 1986. En: Morilla A. Bautista C.R. (eds.) Manual de Inmunología, Ed. DIANA, México, D.F. pp. 52-55.
- Tafolla Alanís, J.E. 1983. Tesis de Licenciatura, F.M.V. y Z. U.N.A.M.
- Tizard, I. 1982. J. Am. Vet. Med. Assoc., 181: 1162-1165.
- Tizard Zumpt, F. 1965. Myasis in Man and Animals in the Old World. Butterworths, London.

* El trabajo fue presentado en la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria-TABASCO 90 y publicado en la Memoria. Los resultados y evaluación de las técnicas de Hemaglutinación Pasiva y DIG-ELISA aparecerán próximamente en otra publicación.