

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DEL METODO
COLORIMETRICO EN EL DIAGNOSTICO DE
GIARDIASIS INTESTINAL

ESTUDIO OBSERVACIONAL ANALITICO REALIZADO CON
MUESTRAS DE HECEES EN FRESCO, EN EL LABORATORIO
MULTIDISCIPLINARIO, FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS,
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA, DURANTE
EL PERIODO DE MARZO A JULIO DE 1994, GUATEMALA.

PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS DE LA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.

BALBINA LISSETH REYES RINEDA

EN EL ACTO DE SU INVESTIDURA DE:

MEDICO Y CIRUJANO

GUATEMALA, JULIO DE 1994.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central



FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Guatemala, 27 de julio de 1994


FORMA C


Director Unidad de Tesis
Centro de Investigaciones de las Ciencias
de la Salud - Unidad de Tesis

Se informa que el: BACHILLER EN CIENCIAS Y LETRAS BALBINA LISSETH
Título o diploma de diversificado, Nombres y apellidos
REYES PINEDA Carnet No. 88-16482
completos

Ha presentado el Informe Final del trabajo de tesis titulado:
"SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DEL METODO COLORIMETRICO EN EL DIAGNOS-
TICO DE GIARDIASIS INTESTINAL"

y cuyo autor, asesor(es) y revisor nos responsabilizamos de los conceptos metodología, confiabilidad y validez de los resultados, pertinencia de las conclusiones y recomendaciones, así como la calidad técnica y científica del mismo, por lo que firmamos conformes:


Firma del estudiante


Asesor
Firma y sello personal


Revisor
Firma y sello
Registro Personal 12,574

Dr. Edwin Fernando Merida M.
MEDICO Y CIRUJANO
COLEGIADO 8561

EL DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
DE LA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

HACE CONSTAR QUE:

El (La) Bachiller: BALBINA LISSETH REYES PINEDA

Carnet Universitario No. 88-16482

Ha presentado para su Examen General Publico, previo a optar al
Titulo de Médico y Cirujano, el Trabajo de Tesis titulado:

"SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DEL METODO COLOPRINICO EN EL
DIAGNOSTICO DE SIARTIASIS INTESTINAL"

Trabajo asesorado por: DR. MARTIN ROBERTO BINTO

y revisado por: DR. EDWIN FERNANDA MERIDA M.
quienes lo evalúan y han firmado conformes, por lo que se emite,
firma y sella la presente

ORDEN DE IMPRESION

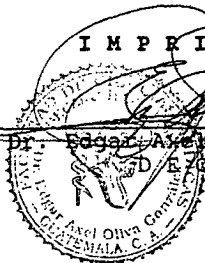
Guatemala, 27 de Julio de 1994

DR. EDGAR DE LEON BARILLAS
Por Unidad de Tesis

DR. RAUL CASTILLO RODAS
DIRECTOR
CENTRO DE INVESTIGACIONES
DE LAS CIENCIAS DE LA SALUD

IMPRIMASE:

Dr. Edgar Axel Oliva Gonzalez
D E C A N O



INDICE

I.	INTRODUCCION	01
II.	DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA	02
III.	JUSTIFICACION	03
IV.	OBJETIVOS	04
V.	REVISION BIBLIOGRAFICA	05
VI.	METODOLOGIA	16
VII.	PRESENTACION DE RESULTADOS	19
VIII.	ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS	25
IX.	CONCLUSIONES	27
X.	RECOMENDACIONES	28
XI.	RESUMEN	29
XII.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	30
XIII.	ANEXOS	34

I. INTRODUCCION

La giardiasis es una enfermedad parasitaria que cada vez adquiere mayor importancia en Guatemala por su alta incidencia, ya que cada año aparecen más casos, esto debido a las deficientes condiciones de saneamiento ambiental que favorecen la llegada de las formas infectantes del parásito, su posterior desarrollo y colonización del intestino delgado del huésped, produciendo una variedad de síntomas y signos que van a afectar su estado de salud.

El objetivo del presente estudio fue determinar la sensibilidad y especificidad del método colorimétrico en el diagnóstico de Giardiasis Intestinal, a través de muestras de heces en fresco.

El estudio se realizó durante los meses de marzo a julio del presente año, en el Laboratorio Multidisciplinario, de la Facultad de Ciencias Médicas, con veinte muestras de heces en fresco positivas para Giardia Lamblia por examen microscópico con sus respectivos controles, obtenidas de diferentes centros asistenciales.

El método colorimétrico consistió en la aplicación de las muestras en pozos de una placa de microtitulación, previamente sensibilizada con suero de conejo anti giardia lamblia, colocándose posteriormente el colorante Amido Black y precediendo a su lectura visualmente.

La sensibilidad obtenida por este método colorimétrico fue de 80% y la especificidad de 94.7%.

II. DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA

La Giardiasis es una enfermedad de amplia distribución mundial y de caracter cosmopolita, que predomina en regiones tropicales y afecta principalmente a lactantes y niños en edad preescolar. El agente causante es la Giardia Lamblia, un protozoo multiflagelado, que se localiza frecuentemente en el duodeno y yeyuno del hombre. (17,27,36,38)

La transmisión e infestación posteriores, ocurre por comidas o fuentes de aguas contaminadas con aguas negras; moscas; manipuladores de alimentos y/o ciclo ano-mano-boca, que constituyen la fuente más frecuente de brotes de la infección y la transmisión persona a persona, es el mecanismo más importante que mantiene la enfermedad endémica. (36,38,42)

Clinicamente la enfermedad se presenta asintomática o produciendo diarrea aguda o crónica acuosa, lo que ocasionalmente puede conducir a casos mortales debido a trastornos hidroelectrolíticos secundarios. Esta enfermedad infecciosa primaria casi siempre se acompaña de un síndrome de mala absorción intestinal, con afección del estado nutricional concomitante. (17,21,38,42)

Hay diversos métodos que permiten aislar y hacer diagnóstico de este agente patógeno: el examen de heces en fresco, el enterotest, el aspirado duodenal, la biopsia histológica, la contrainmunolectroforesis y la determinación sérica de anticuerpos por el test de ELISA, los cuales son en algunos casos inexactos, invasivos, costosos, que requieren de gran recurso material y económico. (9,11,12,25,36)

Por lo anterior descrito es importante y necesario implementar un método sensible y específico, cómodo, inocuo y sencillo; para la detección del parásito en un paciente infectado. Por lo que este estudio pretendió demostrar la sensibilidad y especificidad del método Colorimétrico como diagnóstico de Giardiasis Intestinal.

III. JUSTIFICACION

Guatemala, país en vías de desarrollo, en donde prevalece un saneamiento ambiental deficiente, que favorece así, una alta tasa de enfermedades gastrointestinales, las cuales constituyen una de las primeras causas de morbimortalidad en el país, afectando sobre todo a la población infantil, especialmente a los menores de cinco años.

Dentro de este grupo de enfermedades se encuentra la Giardiasis, la cual tiene una incidencia y prevalencia de hasta un 35% en niños menores de cinco años, constituyéndose por lo tanto, en una enfermedad importante en nuestro medio, que requiere de un diagnóstico y tratamiento adecuado.

Tomando en consideración que el diagnóstico de Giardiasis por los métodos de laboratorio más usados pueden dar un índice de error hasta de un 50% de las muestras, dando así resultados falsos negativos, y conllevando algunos métodos diversos inconvenientes para el paciente.

Debido a lo anterior se hace necesario crear y establecer un método diagnóstico de Giardiasis, que sea sensible y específico, a la vez accesible y rápido. Razón por la cual consideramos este nuevo método Colorimétrico para diagnóstico de esta enfermedad, sea una mejor opción para detección de la misma.

IV. OBJETIVOS

General

Determinar la especificidad y sensibilidad del método Colorimétrico como prueba diagnóstica de Giardiasis Intestinal.

Específico

Describir el comportamiento del método Colorimétrico en el examen de heces en fresco, para el diagnóstico de Giardiasis Intestinal.

V. REVISION BIBLIOGRAFICA

Datos Históricos

En el año 1681 fué Van Leeuwenhoeck, el primero en observar *Giamblia* en sus propias heces usando el primitivo microscopio que descubrió, pero se necesitaron varios siglos para descubrir el papel patógeno de este flagelado intestinal. El primer médico en describir este parásito en 1859, fue Vilem Dusan Federovick Lambl. En 1915, Stiles lo denominó *Giardia Lamblia*, en honor al profesor A. giard, de Paris, y al Dr. F. Lambl, de Praga. (11,17,38)

En 1926 Miller notó que la *Giardia Lamblia* era capaz de producir en los niños enteritis crónica, lo que años mas tarde fue confirmado por Vgheyi y Cortner. A partir de 1950, con la revisión de Lund, ha sido objeto de estudios continuados, como el trabajo clásico de filices en 1952 y las monografías de Dekhkan-khodzhaeva s (1970), Lucian (1971); Mahmoud y Warren (1975), Kulda y Nohynkova (1978) y Meyr y Radulescu (1979). En Guatemala, Morales identificó el parásito y ha presentado tesis a la Usac: Cordero (1941) y Eysen H. (1956). (0,21,38)

Definición

La *Giardiasis* es una infección del intestino delgado debida al protozoo flagelado llamado *Giardia lamblia*. Cuando produce síntomas da lugar a diarrea, malaabsorción y pérdida de peso, o puede cursar asintómicamente en el hospedero, convirtiéndolo en portador capaz de diseminar, a través de quistes en sus heces, la parasitosis por medio de vectores o el ciclo ano-mano-boca. (17,19,38,42)

Etiología

La *Giardia Lamblia* es un protozoo multiflagelado, que pertenece al genero *Pylum* protozoo, superclase *matigosphora*, familia *Hexamitidae*, familia de los plasmodios y las tricomonas, frecuentemente parasita el duodeno y yenuo del hombre. (9,17,27)

Existe como trofozoito, o forma móvil del parásito, al cual se le atribuyen las manifestaciones propias de la enfermedad, es piriforme con simetría bilateral, mide 9 a 21 micras de largo, 5 a 15 micras de ancho y 2 a 4 micras de grosor, con extremo ancho y redondeado, y el extremo posterior que termina en punta. Tiene 4 pares de flagelos, 2 núcleos con cariósoma centrales prominentes, que le dan al parásito el aspecto de una cara, 2 axostilos, 2 blefaroblastos y 2 cuerpos basales. Un disco succionador grande

y cóncavo en la porción anterior ocupa gran parte de la superficie ventral.

El quiste maduro, que es la forma infectante para el hospedero, es elipsoide, con cubierta gruesa y rugosa, mide de 8 a 14 micras de diámetro mayor, tiene 2 a 4 núcleos apareados, cariosoma fino, central o excéntrico, con los flagelos recogidos y los cuerpos parabasales bien desarrollados. (0,17,21,27,38)

Tradicionalmente por su morfología y los huéspedes correspondientes se reconocen 3 especies de Giardia: Giardia Muris en roedores, pájaros y reptiles; Giardia Agilis en anfibios y Giardia Lamblia en el hombre. (21)

Epidemiología

La prevalencia y la intensidad de las infecciones del intestino humano por protozoos en el mundo presentan variaciones considerables de distribución y aparición estacional a causa de factores geográficos y socioeconómicos. (19,38,42)

La Giardiasis es una infección causada por la Giardia Lamblia, que ocurre tanto en forma endémica como epidémica; con una distribución amplia en todas las latitudes y continentes, siendo su incidencia un poco mayor en las regiones tropicales; su frecuencia mundial para 1987 se estimaba en 200 millones de personas infectadas, de las cuales aproximadamente 500.000 mil presentaron infecciones sintomáticas; la mortalidad es baja, excepto en los cuadros severos de mala absorción no tratados oportunamente. (0,11,36,38)

En América Latina, cuya población rural pasa de los 108 millones de habitantes sin una infraestructura básica y económica adecuadas, se estima que hay 16 millones (15%) con infección por Giardia Lamblia. En Guatemala, tanto en la capital como en el área rural, la prevalencia es de 10%, con un aumento significativo de 22 a 35% en los niños menores de cinco años. Predominando en regiones como Zacapa 32.22%, Sacatepequez 31% y Escuintla 30%. (2,25,27,36,38)

Se han presentado brotes epidémicos en algunos países desarrollados como Estados Unidos de América (Denver, Colorado, Uta, Oregon, Washington) y Rusia (Leningrado). El porcentaje de portadores asintomáticos en países industrializados se ha estimado de 1 a 17%. Y las regiones geográficas donde se ha comprobado que existe mayor riesgo para el individuo de contraer Giardiasis son: Occidente de América del Sur, México, Medio Oriente, Lejano Oriente, Asia Sudoriental, Asia Meridional, África Central y Rusia. (16,25,38)

Los grupos de mayor riesgo lo constituyen los preescolares y

escolares, viajeros, inmunosuprimidos y homosexuales. Siendo las Guarderías, Hospitales y Centros de Rehabilitación, lugares donde se puede adquirir la enfermedad. En el primer año de vida la incidencia de la enfermedad es menor, debido a la protección que proporciona la lactancia materna en este periodo de vida y la menor exposición al microorganismo, como lo demuestra un estudio realizado en madres egipcias de diferentes clases sociales, en 1991. (3,11,18,36)

La Giardia Lamblia se disemina siguiendo dos vías la hídrica, sobre todo a través del agua contaminada con aguas negras; personas infectadas o mamíferos inferiores, y constituye la fuente más frecuente de brotes de la infección y transmisión persona a persona es el mecanismo más importante que mantiene la enfermedad endémica. (7,38)

El contacto directo es de particular importancia en la diseminación de la enfermedad en las guarderías, en las cuales se han reportado tasas de infección entre 17 a 54%, encontrándose la mayor prevalencia en los niños de 13 a 30 meses de edad, quienes aun no inician el control de esfínteres. Los familiares de los niños que asisten a las guarderías y los trabajadores de estas instituciones tienen una mayor incidencia de infección por Giardia Lamblia (17%), que la observada en la población en general. (7,11,19,28,31)

Además los centros de cuidado diurno probablemente juegan un papel importante en la transmisión de la Giardiasis en las áreas urbanas. La aparición de Giardia Lamblia en perros, gatos y roedores despierta la preocupación de que tales especies puedan ser transmitidas a humanos, lo que tendría importancia en el escrutinio epidemiológico de la enfermedad en los niños. (5,38)

En los centros con niños inmunosuprimidos infectados con el virus de inmunodeficiencia humana (HIV), se ha encontrado que los 2 principales patógenos causantes de infecciones parasitarias son: Giardia Lamblia y Cryptosporidium Parvum. Siendo la Giardia causa de epidemia y endemia en éstos centros, con una prevalencia que va desde el 26 a 54%, de los cuales sólo el 1.2% presentan síntomas, indicándonos que en su mayoría la infección es asintomática. (28,33)

Fisiología

La Giardia Lamblia se localiza en el duodeno y primera porción del yeyuno, en infecciones severas puede llegar hasta el colon y en ocasiones se ha encontrado en la vesícula y conductos biliares.

Los flagelos impulsan al trofozoito con movimientos rápidos irregulares y como por sacudidas. Resiste el peristaltismo por medio del disco subtorial que se adhiere a las vellosidades intestinales en donde absorbe alimento del contenido intestinal.

El trofozoito se divide por fisión binaria longitudinal, favorecida por un medio alcalino, aclorhidria y alimentación rica en carbohidratos. Dentro del quiste hay multiplicación por mitosis y al desenquistarse se separan los trofozoitos hijos. (0,21,38)

Inmunología

Varios estudios demuestran que se puede desarrollar una inmunidad parcialmente protectora para la Giardia Lamblia, ya que los pacientes luego de múltiples exposiciones a este agente patógeno, se van haciendo gradualmente resistentes; los cuadros diarreicos se hacen más cortos y leves. Esta respuesta inmunitaria incluye componentes humorales y celulares. También un número de observaciones indican que existen un alto grado de susceptibilidad a Giardia Lamblia, en sujetos con respuesta inmune alterada, y es de importancia reconocer que la giardiasis puede estar presente como particularidad en individuos con enfermedades severas o crónicas, quienes son disgamaglobulinémicos, hipogamaglobulinémicos o agamaglobulinémicos. Estas investigaciones revelan la posibilidad de inmunoglobulinas específicas, que juegan un papel en la resistencia de la Giardiasis. (9,11,32)

Respuesta de Anticuerpos

La respuesta de anticuerpos no es por sí sola protectora contra la infección por Giardia Lamblia, pues se ha observado que los pacientes con Giardiasis presentan una respuesta inicial de IgM y luego IgG, IgA, IgE e IgA secretora en casi todos los pacientes. Para efectuar el diagnóstico inmunológico en casos agudos se hace la determinación de IgM, la cual declina usualmente dentro de 2 a 3 semanas, predomina en células de la mucosa intestinal infectadas con Giardia Lamblia y en hiperplasia modular linfóide del intestino delgado, e IgA secretora, cuya deficiencia se ha asociado a trastornos gastrointestinales, diarrea o atrofia de vellosidades en pacientes con Giardia Lamblia persistente. Así como la IgE tanto in vivo (prueba cutánea) como in vitro. Y para medir memoria inmunológica la IgG, la cual solamente se eleva después de una infección primaria, no permitiendo distinguir de infecciones en las que no ha habido exposición previa al patógeno, e IgE. (24,26,27)

Se ha demostrado que el anticuerpo más efectivo contra la Giardia Lamblia es la IgA Secretora con la colaboración de una

inmunidad celular adecuada. En estudios efectuados en madres y lactantes ha sido demostrada la efectividad de la IgA Secretora para proteger a sus niños contra la Giardiasis. En países como Guatemala se ha observado que más del 50% de las madres lactantes tienen anticuerpos IgA secretores antiguardia lamblia en la leche y los cuadros diarreicos en niños menores de 1 año por G.Lamblia son raros. El tiempo de duración de la IgA Secretora antiguardia Lamblia no se conoce uno de los factores importantes para que se mantengan es el estímulo permanente. (3,16,30)

En las otras inmunoglobulinas el estímulo constante o frecuente es importante para mantener niveles elevados para un antígeno específico. En relación a la IgA antiguardia Lamblia medida por diámetros de las pruebas cutáneas inmediatas, esta disminuyen paulatinamente hasta desaparecer en los pacientes tratados por Giardiasis en aproximadamente dos meses. (9,16,37)

Respuesta de inmunidad celular

En la respuesta inmune a la Giardia Lamblia, se ha demostrado que la inmunidad celular juega un papel importante, cuando se ponen antígenos de G.Lamblia en presencia de linfocitos T de pacientes con giardiasis aguda éstos proliferan mientras si se ponen los antígenos con linfocitos de personas con Giardiasis crónica hay una buena proliferación linfocitaria. Este hallazgo podría ser de ayuda para separar casos de Giardiasis aguda y crónica. (1,17,24,30)

Los estudios efectuados sobre la capacidad efectora de los fagocitos: polimorfonucleares neutrófilos y los monocitos macrófagos, indican que los macrófagos fagocitan y destruyen los trofozoitos de G. Lamblia cuando están en presencia de linfocitos activados y/o linfoquinas y los polimorfonucleares neutrofilos fagocitan a los trofozoitos en presencia de anticuerpos IgA antiguardia Lamblia por el mecanismo de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y este puede ser uno de los mecanismos in vivo en la protección contra la G.Lamblia. Estos mecanismos no se observan en pacientes con deficiencias en la inmunidad celular y quizá ésta sea una de las razones por las que la G.Lamblia es uno de los parásitos que más infecta a los pacientes con inmunodeficiencia. (17,24,37)

También ha sido demostrada la poca actividad protectora del complemento en Giardiasis, aún en presencia de grandes cantidades de anticuerpos antiGiardia Lamblia in vitro. Los linfocitos T y los macrófagos no demuestran una actividad espontánea citotóxica contra los quistes de G.Lamblia. Esto podría ser secundario a mecanismos de escape de este protozoo entre los cuales están:

- A) Cambio de antígenos de superficie cada 48 horas.
- B) Comparten antígenos similares con las células del hospedero.

Entre éstos antígenos está el grupo sanguíneo A, aunque hay divergencia respecto a ésto. (24,26,27,39)

Ciclo evolutivo

Es directo sin hospedero intermediario; las formas infectantes son los quistes que al ser eliminados por las materias fecales de los individuos infectados, van a contaminar el agua de bebida y los alimentos que se consumen crudos; luego por vía oral son ingeridos por el nuevo huésped, resisten la acción del jugo gástrico y al llegar al duodeno, favorecidos por la alcalinidad del medio se desenquistan y quedan en libertad los trofozoitos para recomenzar un nuevo ciclo. (0,17,38,42)

Patogenia y Anatomía Patológica

Muchos factores, algunos relacionados con el patógeno y otros peculiares al huésped determinan que se establezca la infección por G.Lambliia. (9,32)

El primer factor que interviene es el tamaño del inoculo; se ha demostrado que el número de quistes ingeridos influye en la aparición y severidad de los síntomas, así como en las alteraciones morfológicas. El parásito se encuentra en el duodeno y las porciones superiores del yeyuno; ya que los quistes luego de ser ingeridos pasan a través del estómago y, con ayuda del medio ácido se inicia la salida de los trofozoitos, que colonizan el intestino delgado y adhieren a la superficie epitelial. (9,17,25)

Se considera que la adherencia del trofozoito a los tejidos del huésped es un paso crucial en la patogenesis de la enfermedad; sin un mecanismo efectivo de unión, los trofozoitos recién exquistados serían rápidamente eliminados de la luz intestinal por el peristaltismo. Entre los mecanismos de adherencia se han propuesto la presencia de fuerzas mecánicas o hidrodinámicas, participación de proteínas contráctiles, y determinantes de superficie de membrana.

El objetivo final del parásito parece ser la proliferación dentro del intestino delgado, que es provocada por la presencia de bilis, fosfolípidos preformados, una fuente adecuada de energía y un potencial de óxido de reducción.

Los mecanismos sugeridos como responsables de las alteraciones funcionales y morfológicas más importantes, son los que afectan la mucosa intestinal, provocando daño mecánico directo. Se ha reportado un amplio rango de cambios morfológicos, desde la normalidad, hasta la atrofia vellosa total, acortamiento y engrosamiento de las vellosidades, aumento del índice mitótico y diversos grados de infiltrado inflamatorio a base de mononucleares, eosinófilos y polimorfonucleares. (17,32,42)

La destrucción de las microvellosidades causa disminución en la cantidad de enzimas, principalmente disacaridasas, y reducción del área de absorción. El incremento de la mitosis epitelial condiciona que las vellosidades intestinales sean pobladas por células relativamente inmaduras con reducida capacidad para la digestión y absorción.

Recientemente se ha sugerido la existencia de un mecanismo inmune de daño a la mucosa, en base a que el número de linfocitos intraepiteliales está ya aumentado antes de que exista evidencia de alteraciones morfológicas en la mucosa y la extensión del infiltrado linfocítico correlaciona con el grado de disfunción. (11,21,30,38)

Entre los factores del huésped que se han sugerido como causantes de una mayor susceptibilidad a la Giardiasis se encuentran: aclorhidria, hipoclorhidria y estados hipogama globulinémicos. Se ha reportado un incremento significativo en los antígenos de histocompatibilidad HLA-A1 y B12 y de los fenotipos A1/A2 y B12/B27. (9,27,38,42)

Manifestaciones Clínicas

Las manifestaciones clínicas son muy variables, la infección se puede presentar completamente asintomática, en forma aguda, subaguda, crónica o como síndrome de mala absorción. El período de incubación es de 1 a 3 semanas; y la dosis de inoculación en el adulto se ha comprobado que es de 10 a 100 quistes. (2,8,23)

La etapa aguda es de comienzo brusco con diarrea explosiva, heces blandas o acuosas, espumosas, fétidas, grasosas, flotantes, con ausencia de moco o sangre, acompañadas de flatulencias, eructos, distensión abdominal intensa, náusea, anorexia, fatiga y calambres en la parte media y alta del epigastrio. También puede presentarse febrícula, cefalea, mialgias y escalofríos. (9,21,25,41)

Cuando la etapa subaguda ya se estableció, muchas veces la etapa aguda se desconoce y hay síntomas persistentes y recidivantes ligeros o moderados. Típicamente hay leves episodios periódicos de heces sueltas, fétidas, amarillentas, espumosas o grasosas, con flatulencia, distensión abdominal y anorexia. (21,27,38)

En la etapa crónica el paciente puede presentar síntomas que duran meses años y se presentan en forma intermitente; se caracterizan por evacuaciones intestinales anormales, esteatorrea, flatulencias, distensión abdominal, calambres en la parte alta del epigastrio (sobre todo después de los alimentos), sensación urente retroesternal, eructos con olor a azufre, hiperperistaltismo, náuseas y anorexia, a lo que se asocia pérdida de peso y signos de mala absorción. (28,41)

El síndrome de mala absorción intestinal se presenta en un pequeño porcentaje, con infecciones masivas de G. Lamblia; ya sea en la fase aguda, cuando la diarrea persiste durante más de alguna semanas o en la fase crónica. Puede haber pérdida de peso rápida e intensa y debilidad, con detención del crecimiento y desarrollo. Se ha confirmado la presentación de mala absorción que es reversible en pacientes con enteropatías con pérdida de grasas, proteínas y deficiencia de Vitamina B12, D-Xilosa y lactasa. (21,38)

Para el diagnóstico diferencial de Giardiasis se debe tener en cuenta la Enteritis Viral Aguda, Disenteria Bacilar, Intoxicación Alimenticia Bacteriana, Disenteria Amebiana o Diarrea del Viajero causada por E. Coli enterotoxigénica, Ulcera Gástrica, Hernia Hiatal y Colecistitis. (9,38,39)

Diagnóstico

El diagnóstico se establece demostrando la presencia de quistes o trofozoitos en las heces, o de trofozoitos en el contenido del intestino delgado. Y para esto existen varios métodos entre los que están:

a) Examen de heces en fresco

Es el método más tradicional utilizado en nuestro medio. Utiliza solución salina y lugol como reactivos; para realizarlo se procede a colocar una gota de solución salina y separada una gota de lugol, se toma una muestra de 1 a 4 grs de heces y se mezcla con la solución salina haciendo una suspensión homogénea; se retiran las fibras y fragmentos y luego se cubre. Se hace el mismo procedimiento con la gota de lugol para observarla después al microscopio.

Debe realizarse en forma seriada en días alternos (basados en la eliminación intermitente de parásitos y en periodos de eliminación activa de los mismos) hasta un máximo de 3 muestras. Estudios anteriores han demostrado que el 76% son positivos con la primera muestra; el 90% con la segunda y un 97% con la tercera; una cuarta o quinta muestra aumentará hasta un 1.7% la positividad.

Sin embargo hay que tener en cuenta, que puede haber hasta un 50% de falsos negativos, debido a múltiples factores entre los que se cuentan uso previo de antibióticos, antiácidos, compuestos antidiarréicos y algunos preparados para enema y laxantes, los cuales pueden interferir con la identificación del parásito, alterando su morfología o provocando una desaparición temporal de los mismos de la muestra. (9,21,41,42)

b) Enterotest

Es un método que permite la colección del contenido duodenal por medio de un largo hilo de nylon, al cual está enrollada una cápsula de gelatina, la que deglutida dejando el extremo libre de la cuerda en la mejilla del paciente. El hilo se desenrolla y la cápsula progresa en el tracto gastrointestinal. Después el hilo se retira, y el material obtenido es retirado del extremo distal para el examen microscópico. Es muy sensible y específico, pero muchos pacientes no toleran el deglutir la cápsula, especialmente los de corta edad. (9,27,29)

c) Aspirado Duodenal

El trofozoito habita el duodeno y parte superior del yeyuno, por esta razón el aspirado de contenido duodenal por vía de intubación es efectivo para identificar *G. Lamblia*. Antes de tomar esta muestra, se necesita ayuno de 6 a 8 horas, luego se procede a colocar una sonda nasogástrica estéril con la técnica para colocación de la misma. Posteriormente se colocará al paciente en decubito lateral derecho, por el movimiento peristáltico la punta de la sonda llegará al duodeno en un tiempo aproximado de 30 a 70 minutos, la posición de la misma se comprobará por el PH del líquido aspirado, el cual deberá ser alcalino y luego se enviarán 2 cc de muestra al laboratorio en frascos estériles. Un estudio demostró un 73% de sensibilidad por este método; pero conlleva mucha incomodidad para el paciente. (9,36,38).

d) Biopsia Histológica

Este método se realiza con la cápsula de Crosby de 2 orificios, obteniéndose una muestra de la región del Angulo de Treitz. Anteriormente se pensaba que era el método ideal para el diagnóstico de Giardiasis. Pero en un estudio se demostró, que su efectividad depende de la integridad de las vellosidades intestinales; en la mucosa sin lesión su positividad es del 88%, pero por la lesión que causa el parásito disminuye hasta un 27%, resultando así un método poco confiable. Además el mismo tiene sus limitaciones ya que se necesitan de varios cortes histológicos para la búsqueda de trofozoitos, y esto implica gasto de tiempo y recursos. (2,8,25,34)

e) Contraímmunoelectroforesis

Los anticuerpos séricos para *G. Lamblia*, han sido demostrados en Giardiasis por medio de inmunofluorescencia indirecta, en la cual se observan bandas precipitantes que demuestran la presencia del antígeno de la *G. Lamblia* en heces, y la capacidad de los

anticuerpos para reaccionar con dicho protozoo, realizandose una reaccion antigeno-anticuerpo. Este método tiene una sensibilidad del 87%, según estudios reportados. (9,36,38)

d) Determinación de anticuerpos séricos por el Test de ELISA

El test de ELISA utiliza antígenos marcados o no, que compiten con los sitios de unión al anticuerpo, la saturación se da simultáneamente y en dicha reacción participa una ligandina. El anticuerpo se dirige con la inmunoglobulina de la especie, si ha sido unmunizado con el antígeno que se va a determinar para que el anticuerpo sea detectado.

Las enzimas más utilizadas son la Fosfatasa Alcalina Peroxidasa y Beta Galactosidasa. La calidad del inmunoensayo enzimático depende del antígeno y el anticuerpo usados. Este método tiene una sensibilidad de 92%, pero necesita de equipo muy costoso. (21,27,34,38)

f) Método Colorimétrico

No existe literatura, ni ningún estudio previo sobre el método Colorimétrico, este método está basado en el Test de ELISA, con la diferencia que no utiliza una enzima como sustrato sino un colorante el Amido Black, el cual se eligió por tener una alta afinidad por las proteínas, lo que permite observar visualmente el resultado de la reacción antígeno-anticuerpo que se da en el pozo de la placa de microtitulación al haber presencia de Giardia Lamblia en las heces.

g) Otros hallazgos de Laboratorio

Muchos de los hallazgos de laboratorio inespecíficos pueden ser métodos de diagnóstico para Giardiasis. La anemia es común en niños. La velocidad de sedimentación es usualmente normal. El nivel de inmunoglobulinas séricas es normal. Pueden haber consideraciones en la interferencia de absorción de grasas, vitamina A y B12, glucosa, xilosa, lactosa según se ha demostrado.

La aparición radiográfica de intestino delgado es a menudo normal, pero en algunos pacientes se puede ver anormal, y estas imágenes son vistas más a menudo en duodeno e incluyen engrosamiento de los pliegues mucosos con segmentos levemente dilatados de asas intestinales. Estos cambios desaparecen luego de tratamiento. (10,21,34,38)

Tratamiento

Varios estudios demuestran que la quinacrina, es el fármaco de elección en la Giardiasis. La dosis usual para niños es de 2 a 8 mg/kg/día, dividido en 3 dosis, por 5 a 7 días, con lo cual se ha obtenido una tasa de curación del 60 al 95%. Este fármaco puede producir un color amarillo en la piel que es pasajero y en raras ocasiones puede producir un exantema cutáneo intenso. (2,8,27)

El metronidazol se ha usado también, a dosis de 7 a 20 mg/kg/día, dividido en 3 dosis, por 5 a 7 días. Tiene un porcentaje de curación del 92%. (21,29,36)

Otro medicamento utilizado como alternativa para niños es la furazolidona, cuya dosis es de 6 mg/kg/día, dividido en 4 tomas por 10 días, teniendo según estudios un porcentaje de curación del 84%. (2,21,38)

También se ha utilizado el tinidazol, a una dosis de 50 mg/kg en dosis única, tiene menos efectos secundarios y una tasa de curación del 90%. Pero hay estudios que demuestran que no es un buen medicamento para áreas hiperendémicas, ya que ocurren rápidas reinfecciones en pacientes tratados con este fármaco. (11,15,38)

VI. METODOLOGIA

Tipo de Estudio

El presente estudio es de tipo observacional-analítico y se basó en muestras de heces positivas para Giardia Lamblia con su respectivo control, llevándose a cabo durante los meses de marzo a julio de 1994, en el laboratorio multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas de la USAC.

Sujeto de Estudio

Se estudiaron las muestras de heces en fresco positivas para Giardia Lamblia con su respectivo control, recopiladas de diversos centros asistenciales.

Tamaño de la Muestra

Se tomaron en cuenta 20 muestras de heces en fresco positivas para Giardia Lamblia con su respectivo control.

Criterios de Inclusión y Exclusión

Se incluyeron en el estudio las muestras de heces en fresco positivas para Giardia Lamblia con su respectivo control negativo al examen microscópico, sin tomar en cuenta las características de la muestra, ni las de su donador.

Ejecución de la Investigación

- A) Se inició el trabajo procediendo a la recopilación en diversos centros asistenciales (contactados previamente) de cinco muestras de heces en fresco con abundante cantidad de quistes de Giardia Lamblia (10 a 12 por campo), para luego proceder a la preparación del antígeno. (Ver anexo No.2)
- B) Posteriormente se procedió a la preparación del anticuerpo. (Ver anexo No.3)
- C) Con el anticuerpo de Giardia Lamblia listo, se procedió a la aplicación del Método Colorimétrico, el cual es el siguiente:

1.-Se obtuvo 10cc. de suero de conejo hipersensibilizado con antígeno de Giardia Lamblia, al cual previamente se le realizó prueba de presencia de anticuerpos anti-giardia lamblia con inmunodifusión radial simple.

2.-5 cc. de suero de conejo se utilizaron para adherir a los pozos de la placa de microtitulación.

3.-A los otros 5 cc. de suero de conejo, se les separó la fracción gamma por precipitación de proteínas por sulfato de amonio, luego 1 cc. de inmunoglobulinas se les agregó 1 cc. de colorante amido black a una dilución de 1:100.

Técnica

- 1.-Se adhirieron los anticuerpos de conejo hiperinmune (inciso 2) con buffer carbonato-bicarbonato de Ph de 9.6 a una dilución de 1:10, agregando a cada pozo de la placa de microtitulación 100 ul e incubando durante 48 horas a 8 grados centigrados.
- 2.-Se lavó la placa 3 veces por 3 minutos con solución buffer de lavado.
- 3.-Se agregó a cada pozo 100 ul. de leche descremada al 1% y se incubó por 30 minutos a 37 grados centigrados.
- 4.-Se repitió inciso número 2.
- 5.-Se agregó a cada pozo 100 ul. de heces diluidas (positivas y negativas) y se incubó por 1 hora a 37 grados centigrados.
- 6.-Se repitió inciso numero 2.
- 7.-Se agregó a cada pozo 100 ul. de anticuerpo hiperinmune de conejo con el colorante amido black y se incubó por 2 horas a 37 grados centigrados.
- 8.-Se lavó la placa 2 veces por 3 minutos con solución buffer de lavado.
- 9.-Se agregó 25 ul. de agua destilada durante 24 horas a temperatura ambiente y se evaluaron visualmente los resultados.

- D) Luego se procedió a la aplicación de la determinación de la sensibilidad y especificidad. (Ver anexo No.5)

RECURSOS

A) Humanos

- Personal técnico de Laboratorio Multidisciplinario, Facultad de Ciencias Médicas.
- Médico Asesor.
- Médico Revisor.
- Investigador.

B) Físicos

- Area fisica del Laboratorio Multidisciplinario, Facultad de Ciencias Médicas.

No existió ninguna implicación de tipo legal para la realización de esta investigación.

E) Legales

8800.00 por gastos de: transporte, fotocopias, material de laboratorio, impresión de tesis, útiles de escritorio.

D) Económicos

- * Centrífuga.
- * Microscopio.
- * Refrigerador.
- * Incubadora.
- * Balanza.
- * Gradilla para colocar tubos de ensayo.
- * Embudos.
- * Pipetas de Pasteur.
- * Máquina de escribir.
- * Computadora.

- Equipo

- * Útiles de escritorio.
- * Colorante Amido Black.
- * Gentamicina.
- * Penicilina G proclama.
- * Antibióticos antimicrobianos
- * Solución Salina.
- * Agua destilada.
- * Soluciones
- * Gasa.
- * Guantes estériles.
- * Aplicadores.
- * Frascos de boca ancha estériles.
- * Tubos de ensayo.
- * Laminillas (porta y cubreobjetos).
- * 5 hilos de peso.
- * 2 conejos blancos hembras de aproximadamente 3 a

- Material

C) Materiales

- * USAC
- * INCAP
- * APPROFAM
- * OPS
- * HGSJD

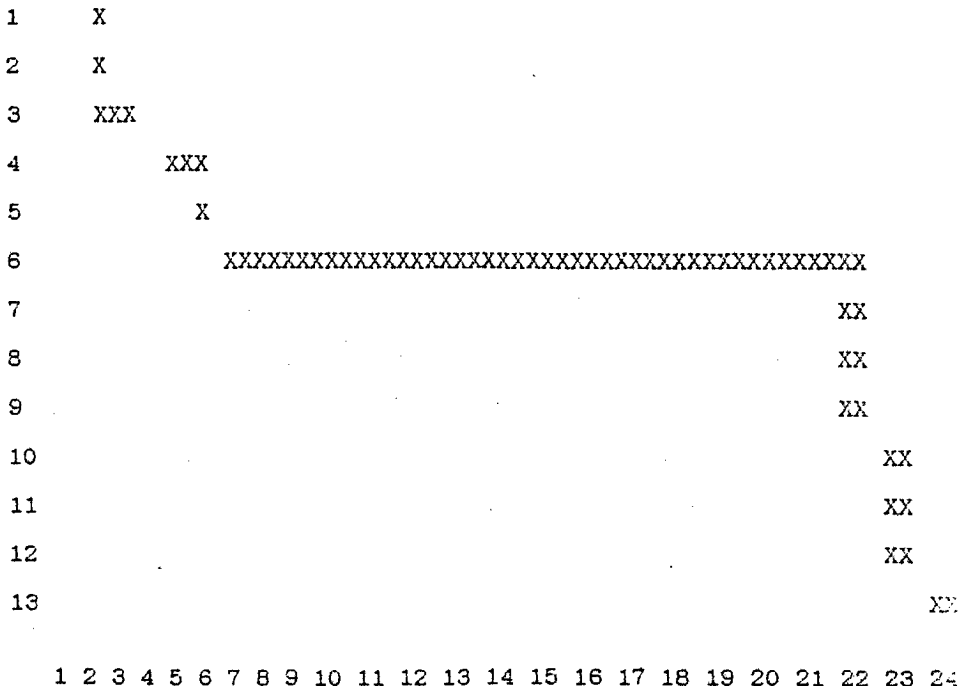
- Bibliotecas.

Actividades:

1. Selección del tema del proyecto de la investigación.
2. Elección del asesor y revisor.
3. Recopilación del material bibliográfico.
4. Elaboración del proyecto conjuntamente con asesor y revisor
5. Aprobación del proyecto por la unidad de tesis.
6. Ejecución del trabajo de campo y recolección de la información.
7. Procesamiento de resultados, elaboración de tablas y gráficas.
8. Análisis y discusión de resultados.
9. Elaboración de conclusiones, recomendaciones y resumen..
10. Presentación del informe final para correcciones.
11. Aprobación del informe final.
12. Impresión del informe final y trámites administrativos.
13. Examen público de defensa de tesis.

ACTIVIDADES

Gráfica de Gantt



S E M A N A S
18 A

VII. PRESENTACION DE RESULTADOS

CUADRO No. 1

RESULTADOS POSITIVOS Y NEGATIVOS OBTENIDOS
 POR EL METODO COLORIMETRICO PARA EL
 DIAGNOSTICO DE GIARDIASIS INTESTINAL

RESULTADO	POSITIVO	%	NEGATIVO	%	TOTAL	%
MUESTRAS CONTROLES NEGATIVAS	1	2.56%	18	46.15%	19	48.72%
MUESTRAS CONFIRMADAS	16	41.02%	4	10.26%	20	51.28%
TOTAL	17	43.58%	22	56.41%	39	100%


FUENTE: BOLETA DE RECOLECCION DE DATOS


CUADRO No. 2


ILUSTRACION DE LOS RESULTADOS
 DEL METODO COLORIMETRICO EN
 LA PLACA DE MICROTITULACION
 EN EL DIAGNOSTICO DE GIARDIASIS INTESTINAL

	1	2	3	4	5
A	-	-	-	+	+
B	-	-	-	-	-
C	-	-	-	+	+
D	-	-	-	+	+
E	X	-	-	+	+
F	-	-	+	+	-
G	-	+	+	+	+
H	-	-	+	+	+

FUENTE: BOLETA RECOLECCION DE DATOS

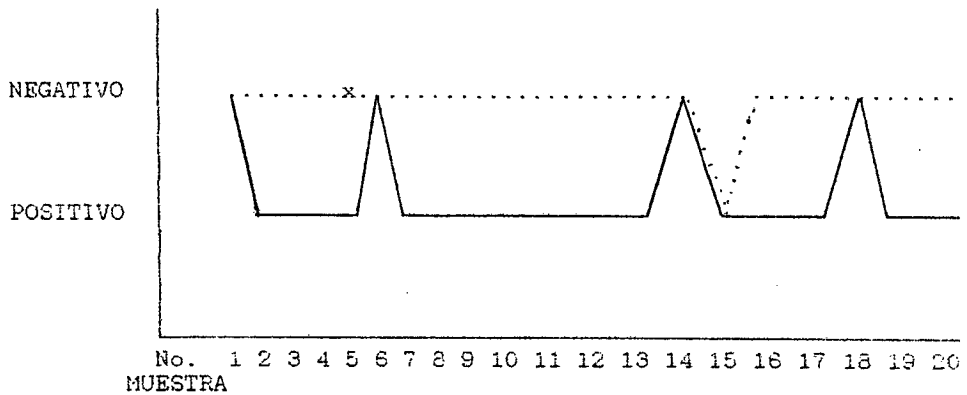
 CONTROLES NEGATIVOS

 MUESTRAS CONFIRMADAS

 MUESTRA CONTROL NEGATIVO ANULADA

GRAFICA No. 2

COMPORTAMIENTO DEL METODO COLORIMETRICO CON
LAS MUESTRAS CONFIRMADAS PARA GIARDIA LAMBLIA
Y SUS CONTROLES



FUENTE: BOLETA DE RECOLECCION DE DATOS

..... CONTROLES NEGATIVOS

———— MUESTRAS CONFIRMADAS

x MUESTRA CONTROL NEGATIVA ANULADA

CUADRO No. 3

EVALUACION DEL METODO COLORIMETRICO
 COMO METODO DIAGNOSTICO
 DE GIARDIASIS INTESTINAL

		EXAMEN DE HECES EN FRESCO		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
METODO COLORIMETRICO	POSITIVO	16 (a)	1 (b)	17 a+b
	NEGATIVO	4 (c)	18 (d)	22 c+d
TOTAL		20	19	39

FUENTE: BOLETA DE RECOLECCION DE DATOS

CUADRO No. 4

CALCULO DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD
DEL METODO COLORIMETRICO COMO DIAGNOSTICO
DE GIARDIASIS INTESTINAL

SENSIBILIDAD	=	$\frac{16}{16 + 4}$	x	100	=	80%
ESPECIFICIDAD	=	$\frac{18}{18 + 1}$		100	=	94.7%
RELACION DE FALSOS POSITIVOS	=	$\frac{1}{1 + 18}$	x	100	=	5.2%
RELACION DE FALSOS NEGATIVOS	=	$\frac{4}{16 + 4}$	x	100	=	20%
VALOR PREDICTIVO DE LA PRUEBA POSITIVA	=	$\frac{16}{16 + 1}$	x	100	=	94.1%
VALOR PREDICTIVO DE LA PRUEBA NEGATIVA	=	$\frac{18}{4 + 18}$	x	100	=	81.8%
FALSOS POSITIVOS DE LA PRUEBA POSITIVA	=	$\frac{1}{16 + 1}$	x	100	=	5.8%
FALSOS NEGATIVOS DE LA PRUEBA NEGATIVA	=	$\frac{4}{4 + 18}$	x	100	=	18.1%
EXACTITUD	=	$\frac{16 + 18}{16+1+4+18}$	x	100	=	87.1%

FUENTE: BOLETA DE RECOLECCION DE DATOS

VIII. ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

En el presente estudio se consideraron un total de 39 muestras de heces en fresco, recopiladas de diversos centros asistenciales, durante el periodo comprendido de marzo a julio del presente año y a las cuales se les aplicó el método colorimétrico. De este total de muestras, 20 fueron muestras confirmadas para *Giardia Lamblia* y 19 muestras controles negativas; una de las muestras controles negativas ya aplicado el método colorimétrico debió ser excluida del estudio por error en el procedimiento para no obtener un resultado falso positivo.

La identificación de *Giardia Lamblia* a través del examen de heces en fresco por microscopio electrónico, se hace observando en forma directa los trofozoitos o quistes, que son la forma parasitaria o infectante de dicho protozooario respectivamente. Dicho método presenta el inconveniente de requerir para su diagnóstico de personal experimentado para no aumentar su índice de error.

El método colorimétrico del cual no existe literatura ni estudios previos, consistió en la aplicación de muestras de heces en fresco diluidas confirmadas para *Giardia Lamblia*, y sus respectivos controles negativos, en los pozos de una placa de microtitulación, sensibilizada previamente con suero de conejo anti*giardia Lamblia*, colocándose posteriormente el colorante Amido Black con suero fraccionado de conejo y leyéndose los resultados visualmente. Se tomaron como positivas las muestras cuyo pozo se coloreó de azul claro, debido a la reacción antígeno-anticuerpo que ocurrió en el mismo por presencia de *Giardia Lamblia*, y como muestras negativas aquellas cuyo pozo no tuvo ninguna coloración.

En el cuadro No.1 se puede observar los resultados que se obtuvieron con el método colorimétrico para el diagnóstico de *Giardiasis Intestinal* por las muestras de heces en fresco.

De las 39 muestras incluidas en el estudio 17 fueron muestras positivas correspondiendo a un 43.58% ; 22 fueron muestras negativas siendo un 56.41%.

En el cuadro y gráfica No. 2 se puede observar el comportamiento que tuvo el método colorimétrico con respecto a las muestras controles negativas, de las cuales dio como resultado la muestra No. 5 anulada por error en el procedimiento, ya que se adhirió sedimento del colorante en pozo, lo cual hubiera dado un resultado falso positivo, la

muestra No.15 coloreada, dando un resultado falso positivo y las demás muestras negativas. Con respecto a las muestras confirmadas para Giardia Lamblia, la muestra No.1, 6, 14, y 18 no se colorearon, dando 4 resultados falsos negativos, las demás muestras fueron positivas.

En el cuadro No.3 se presenta evaluación del método colorimétrico como método diagnóstico de Giardiasis Intestinal, se puede observar que se dieron como resultado total 17 muestras positivas, 22 muestras negativas, un resultado falso positivo y 4 resultados falsos negativos. 2

Se considera que los resultados falsos positivos y falsos negativos se pudieron dar debido a múltiples factores entre los que se incluyen: tiempo de conservación de las muestras utilizadas en el estudio, reacciones cruzadas con otros parásitos o bacterias, aun cuando los pozos de la placa de microtitulación se bloquearon con leche descremada al 1% para que no ocurrieran las mismas, pero se debe tomar en cuenta que algunas de las muestras confirmadas para Giardia Lamblia lo eran también para Entamoeba Histolytica y/o Ascaris, o una alta sensibilidad del método para la detección de la Giardia Lamblia, en el caso de la muestra falsa positiva.

En el cuadro No. 4 se presenta la determinación de la sensibilidad y especificidad del método colorimétrico con respecto al examen de heces en fresco, utilizando para ello el Standard de Oro. Los resultados obtenidos fueron una sensibilidad de 80%, una especificidad de 94.7%, una relación de falsos positivos de 5.2%, una relación de falsos negativos de 20%, un valor predictivo de la prueba positiva de un 94.1%, un valor predictivo de la prueba negativa de 81.8%, falsos positivos de la prueba positiva de 5.8%, falsos negativos de la prueba negativa de 18.1%, y una exactitud de 87.1%.

Estudios previos han demostrado que otros métodos de diagnóstico para Giardiasis Intestinal, como el aspirado duodenal tiene una sensibilidad del 73%, pero conlleva mucha incomodidad para el paciente; la biopsia histológica que tiene una sensibilidad de 88%, pero éste método tiene limitaciones ya que se necesitan de varios cortes histológicos para la búsqueda de trofozoitos, y esto implica gasto de tiempo y recursos; la contraímmunolectroforesis que tiene una sensibilidad de 89%; la determinación de anticuerpos séricos por el test de ELISA que tiene una sensibilidad de 92%, pero ambos métodos son costosos. Por consiguiente se puede proponer el método colorimétrico como una buena opción para el diagnóstico de Giardiasis Intestinal debido a su sensibilidad y especificidad, además de su bajo costo y accesibilidad. (25,27,36)

IX. CONCLUSIONES

1. La sensibilidad y especificidad del método colorimétrico como método diagnóstico de Giardiasis Intestinal fué de 80% y 94.7% respectivamente.
2. La relación de falsos positivos fué de 5.2%, la relación de falsos negativos fué de 20% y la exactitud del procedimiento de 87.1%.
3. La lectura de los resultados del método colorimétrico se obtienen 72 horas después de haberse aplicado la técnica.
4. El método colorimétrico debido a su sensibilidad y especificidad se considera una buena alternativa como método diagnóstico de Giardiasis Intestinal en el paciente que exista duda sobre el mismo.
5. El método colorimétrico es no invasivo, accesible y de bajo costo.
6. La aplicación inadecuada de la técnica puede provocar índice de error.

X. RECOMENDACIONES

1. Por su costo y accesibilidad el método colorimétrico puede utilizarse como apoyo diagnóstico de Giardiasis Intestinal.
2. Debe tenerse cuidado en la aplicación de la técnica, para evitar la existencia de margen de error.
3. Deben realizarse otros estudios que ayuden a mejorar la técnica del método colorimétrico para aumentar su sensibilidad y especificidad.

XI. RESUMEN

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas, durante el periodo comprendido de marzo a julio del presente año.

El objetivo del estudio fué determinar la sensibilidad y especificidad del método colorimétrico como diagnóstico de Giardiasis Intestinal, utilizando para el mismo muestras de heces en fresco confirmadas para Giardia Lamblia por el examen microscópico y sus respectivos controles.

El total de muestras incluidas en el estudio fue de 39 muestras. De las cuales 20 fueron muestras confirmadas y 19 muestras controles negativos.

Los resultados obtenidos del estudio fueron una sensibilidad de 80%, una especificidad de 94.7% y una exactitud de 87.1%. Por lo que se considera el Método Colorimétrico como una buena opción para el diagnóstico de Giardiasis Intestinal y se recomienda su uso en aquellos casos en los cuales exista duda sobre el mismo, ya que es accesible y de bajo costo.

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 0.- Aguilar, F. J. Giardia Lamblia. Parasitología Médica, 1era. Ed. Guatemala, 231-36.
- 1.- Allison, D. J. Giardiasis a recent investigation. Can J Public Health. 1984, Jul-Aug; 75 (4): 318-20.
- 2.- Amin, A. M. et. al. Giardiasis. Hospital Medicine. 1984 May; 39-52.
- 3.- Azab, M. E. et. al. Prevalence of Giardia Lamblia antibodies in serum and milk in lactating women from different social classes in Egypt. J. of the Egyptian Soc. of Parasitology. 1991, Dec: 21 (3): 611-19.
- 4.- Bartlett, A. V. et. al. Diarrheal illness among infants and toddlers in day care centers. J. Pediatr. 1986, 107: 495.
- 5.- Buret, A. et. al. Zoonotic potencial of Giardiasis in domestic ruminants. J. Infect Dis. 1990; 162: 231-37.
- 6.- Chute, C. G. et. al. Risk factors for endemic giardiasis Am. J. Public Health. 1987, 77 (5): 585-87.
- 7.- Crawford, F. G. et. al. Parasitic infections in day care centers. Pediatr. Infect Dis. J. 1987, 6: 744-49.
- 8.- Davison, R. A. The treatment of Giardiasis. Am. J. Gastroenterology. 1984, Apr; 79 (4): 295-307.
- 9.- Dominguez, G. E. et. al. Diagnóstico de Giardiasis. Guatemala Pediátrica. 1988, Jul-Sep; 10 (3): 135-54.
- 10.- Farthing, J. G. et. al. Natural history of Giardia infection in infants children in rural Guatemala and its impact physical growth. Am. J. of Nutrition. 1986, Mar; 43: 395-405.

- 11.- Figueredo, L. R. et. al. Algunos aportes al diagnostico de Giardiasis. Memorias 50 Aniversario del Instituto Pedro Kouri Cuba. 1988, 279.
- 12.- Gandhi, B. M. et. al. Elisa for NTI-Giardia IgM. Lancet 1989 Sep; 16: 685.
- 13.- Gendrel, D. et. al. Giardiasis and breast-feeding in Urban Africa. Pediatr. Infect Dis. J. 1989, Jan; 8 (1): 58-59.
- 14.- Gibb, A. P. Identification of unsuspected cases of Giardiasis by wet film microscopy. Lancet. 1989, Jul; 22: 216-17.
- 15.- Gilman, R. H. et. al. Rapid reinfection by Giardia Lamblia after treatment in hyperendemic third world community. Lancet. 1988, Feb, 1 (8581): 343-45.
- 16.- Hill, D. R. et. al. Susceptibility of Giardia Lamblia trophozoites to the lethal effect of human serum. J. Inmun 1984, 132: 2046-52.
- 17.- Jawetz, E. et. al. Giardia Lamblia. Microbiologia Médica 12a. Ed. México, Manual Moderno. 1987, 561-62.
- 18.- Jefferson, B. et. al. Giardiasis and occupational risk in sewage workers. Lancet. 1991, Nov; 2(338): 1152.
- 19.- Kaczmarek, E. B. et. al. Let sleeping Giardia lie. Lancet. 1989, Oct; 7: 872.
- 20.- Karabiber, N. et. al. Foodborne Giardiasis. Lancet. 1991 Feb, 9 (337): 376-77.
- 21.- Kumate, J. et. al. Giardiasis. Manual de Infectología. 10a. ed. México. 1986, 66-71.

- 22.- Mazunder, D. N. et. al. Immunological status of women with prolonged oral contraceptives and occurrence of Giardiasis. J. of the Indian Med. Assoc. 1990, May; 88 (5): 129-31.
- 23.- Moraleda, T. L. Absorción intestinal en escolares asintomáticos portadores de Giardia Lamblia. Rev. Chi. Ped. 1985, 56 (6): 430-34.
- 24.- Nash, T. E. et. al. Antigenic variation in Giardia Lamblia. J. Immunol. 1988, 141: 636-41.
- 25.- Neal, R. H. Giardiasis. Tribuna Médica. 1988, Oct; 41 (494) tomo 43: 1-4.
- 26.- Ortega, M. G. et. al. The response if humans to antigens of Giardia Lamblia. Adv Giar Lam Research. 1988, 177-80.
- 27.- Pedroza, M. I. Frecuencia de Giardiasis utilizando examen de heces vrs. Método de Ferreira en una comunidad rural. Tesis (Médico y Cirujano). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas. 1990, Abr-Jun, 66 pág.
- 28.- Pickering, L. K. et. al. Acute infectuos diarrhea among children in day care center: epidemiology and control. Rev. Infect. Dis. 1986, 8: 539-47.
- 29.- Pieckening, L. Problems in diagnosis of Giardia Lamblia and Managing. J. Infect Dis. 1985, 4: 6-10.
- 30.- Pinto, M. R. et. al. Relación Hospedero-Parásito en Giardiasis. Rev. Asoc. Guat. de Parasitología y Med. Tropic. 1993, Oct; 8 (1): 16-22.
- 31.- Polis, M. A. et. al. Transmission of Giardia Lamblia from day care center to the community. A.J.P.H. 1986, Sep; 76 (9): 1142-44.
- 32.- Smith, P. H. Pathophysiology and Immunology of Giardiasis. An. Rev. Med. 1985, 36: 295-307.

- 33.- Stoller, J. S. et. al. Incidence of intestinal parasitic disease in an acquired immunodeficiency syndrome day care center. Pediatr. Infect Dis. J. 1991, Sep; 10 (9): 654-58.
- 34.- Taylor, G. et. al. Concise laboratory and clinical communications: Human immune response to Giardia Lamblia infection. J. Infect Dis. 1987, Jan; 155 (1): 137-40.
- 35.- Thornton, S. A. et. al. Comparision of methods for identification of Giardia Lamblia. A.J.C.P. 1985, Dec; 80 (6): 858-60.
- 36.- Thomas, E. Diagnóstico de Giardiasis por inmunolectroforesis en heces. Tesis. (Medico y Cirujano). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas. 1986, Abr-Sep. 44 Pág.
- 37.- Tolboom, J. M. et. al. Lactose absorption and Giardiasis in bosotho school children. Act. Pediatr. Sacand. 1987, 76: 60-65.
- 38.- Torregosa, L. et. al. Giardiasis. Enfermedades Diarreas en el niño. 9a. ed. Hosp. Inf. México. 1988, 130-243
- 39.- Vega, F. L. et. al. La Giardiasis en relación al grupo sanguíneo A. Bol. Med. Hosp. Inf. Mex. 1987, Oct; 44 (10): 594-97.
- 40.- Vinayak, V. K. et. al. Hipogammaglobulinemia in children with persistent Giardiasis. J. Trop. Pediatr. 1987, 33: 140-42.
- 41.- Wolfe, M. S. Giardiasis. Clin. Pediatr. de N. A. 1988, 26 (2): 613-22.
- 42.- Wynngaarden, J. B. et. al. Giardiasis. Tratado de Medicina Interna Cecil. 17a. ed. México. Interamericana. 1987, 2015-16.

XIII. ANEXOS

ANEXO No. 1

BOLETA RECOLECCION DATOS

NUMERO DE MUESTRA: _____

CENTRO ASISTENCIAL: _____

EXAMEN DE HECES EN FRESCO

POSITIVO

NEGATIVO

RESULTADO:

METODO COLORIMETRICO

POSITIVO

NEGATIVO

RESULTADO:

ANEXO No. 2

PREPARACION DEL ANTIGENO

- 1.- Se obtuvieron muestras de heces en fresco con quistes de Giardia Lamblia de 10 a 12 por campo.
- 2.- Se emulsificaron las heces con agua detilada.
- 3.- Se colaron con colador de gasa.
- 4.- Se centrifugó el material colado en centrifuga refrigerada a 3000 RPM por 15 minutos.
- 5.- Se descartó el sobrenadante.
- 6.- Se diluyó el material centrifugado en 5 veces la cantidad con agua destilada.
- 7.- Se colocó 5 ml. de la mezcla en 15 ml. de solución de gradiente de sucrosa al 1m en tubos de 45 ml. y se centrifugó en centrifuga refrigerada a 5000 RPM por 15 min.
- 8.- Se extrajo la capa intermedia del centrifugado.
- 9.- Se paso por el gradiente de sucrosa al 0.85m 3 veces para limpiar la muestra.
- 10.- Se diluyó el material centrifugado en igual cantidad de agua detilada y se centrifugo a 5000 RPM por 15 minutos.
- 11.- Se descartó el sobrenadante.
- 12.- Se diluyó el material centrifugado en 10ml. de agua estéril con penicilina G procaína 500 Uds por ml. y Gentamicina 50 ugms por ml.
- 13.- Se incubó por 24 horas a 4 grados centigrados.
- 14.- Se diluyó 5 veces con agua estéril y se centrifugó a 3000 RPM por 15 minutos.
- 15.- Se descartó el sobrenadante.
- 16.- Se diluyó el material centrifugado en 3 ml. de agua estéril.
- 17.- Se congeló la muestra a menos 70 grados centigrados y despues se descongeló para romper los quistes y liberar el antígeno.
- 18.- Se repitió el procedimiento No. 17, 5 veces.
- 19.- Se almacenó el antígeno en refrigeración hasta su uso a menos 70 grados centigrados.

ANEXO No. 3

PREPARACION DEL ANTICUERPO

- 1.- El anticuerpo sérico a Giardia Lamblia es preparado usando 2 conejos blancos.
- 2.- Se inmunizan con una mezcla de 1 ml de ácido estéril quístico de 10 quistes por ml, y 9 ml de coadyuvante completo de Freud dando la concentración final 10 quistes por ml.
- 3.- Un ml de la mezcla es inyectado subcutáneamente, una vez a la semana por 6 semanas. El contenido proteínico en l suspección antigénica antes de la adición del adyuvante es de 1.85 -- 2.15 mgs por ml.
- 4.- A partir de la tercera semana se le extrae una pequeña cantidad de sangre de la oreja para irle corroborando la presencia de anticuerpos a través de inmunodifusión radial simple.
- 5.- Al finalizar la sexta semana y ya habiéndose comprobado la presencia de anticuerpos, se exangina completamente a los conejos (ver anexo No. 4).
- 6.- Luego se centrifuga la sangre para obtener el suero, el cual es almacenado a - 70 grados centígrados, listo para usarse con el método colorimétrico.

ANEXO No. 4

TECNICA DE EXANGUINACION

- 1.- Se procede a amarrar el conejo en una tabla de madera especial para esto.
- 2.- Luego se realiza una venodisección a nivel de la vena femoral y se busca el paquete vascular.
- 3.- Una vez localizado se realiza una incisión en la arteria.
- 4.- Se recibe la sangre a través de un embudo el cual va a un balón con gasa.
- 5.- Ya recolectada toda la sangre se lleva a centrifugar para obtener el suero.

ANEXO No. 5

EVALUACION DEL PROCEDIMIENTO DIAGNOSTICO

		PATOLOGIA CONFIRMADA		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
RESULTADO DEL PROCEDIMIENTO	POSITIVO	VERDADERO POSITIVO (a)	FALSO POSITIVO (b)	a + b
	NEGATIVO	FALSO POSITIVO (c)	VERDADERO NEGATIVO (d)	c + d

1. VERDADERO POSITIVO: Muestra de heces en fresco positiva y método Colorimétrico positivo.
2. FALSO POSITIVO: Muestra de heces en fresco negativo y método Colorimétrico positivo.
3. VERDADERO NEGATIVO: Muestra de heces en fresco negativa y método Colorimétrico negativo.
4. FALSO NEGATIVO: Muestra de heces en fresco positiva y método Colorimétrico negativo.

SENSIBILIDAD:

Es la capacidad del procedimiento de efectuar diagnósticos correctos de muestras positivas cuando éstas lo son.

$$\text{SENSIBILIDAD} = \frac{\text{Verdaderos Positivos}}{\text{Total de muestras}} = \frac{a}{a + c} \times 100$$

ESPECIFICIDAD:

Es la capacidad del procedimiento de efectuar diagnósticos correctos en muestras no confirmadas.

$$\text{ESPECIFICIDAD} = \frac{\text{Verdaderos Negativos } d}{\text{Total sin patología } b + d} \times 100$$

FALSOS NEGATIVOS: Se da cuando el procedimiento resulta negativo, pero la muestra de heces en fresco es positiva. Este tipo de error se puede medir mediante la relación de falsos negativos, así:

$$\text{RELACION DE FALSOS NEGATIVOS} = \frac{\text{F. N. } c}{\text{Total de muestras } a + c} \times 100$$

FALSOS POSITIVOS: Se da cuando el procedimiento resulta positivo, pero la muestra de heces en fresco es negativa. Este tipo de error del procedimiento se mide mediante la relación de falsos positivos, así:

$$\text{RELACION DE FALSOS POSITIVOS} = \frac{\text{F. P. } b}{\text{Total sin patología } b + d} \times 100$$

VALOR PREDICTIVO DE LA PRUEBA POSITIVA: Es la probabilidad de que la muestra sea positiva cuando el resultado del procedimiento es positivo y se expresa como el porcentaje de verdaderos positivos entre los que tuvieron prueba positiva. Calculándose de la siguiente manera:

$$\text{V.P.P.P.} = \frac{\text{V. P. } a}{\text{Total de muestras positivas } a + b} \times 100$$

VALOR PREDICTIVO DE LA PRUEBA NEGATIVA: Es la probabilidad de que la muestra sea negativa cuando el resultado del procedimiento es negativo y se expresa como el porcentaje de verdaderos negativos entre los que tuvieron prueba negativa. Calculándose de la siguiente manera:

$$\text{V.P.P.N.} = \frac{\text{V. N. } d}{\text{Total de muestras negativas } c + d} \times 100$$

MEDIDA DE LOS ERRORES: Se observa que hay casos en que la prueba indica como positivos y que no lo son (falsos positivos de la predicción), y casos en que la prueba es negativa, pero son muestras confirmadas (falsos negativos de la predicción), éstos errores se miden en las relaciones:

$$\begin{array}{l} \text{FALSOS POSITIVOS} \\ \text{DE LA} \\ \text{PRUEBA POSITIVA} \end{array} = \frac{\text{F. P.}}{\text{Total de pruebas positivas}} \frac{b}{a + b} \times 100$$

$$\begin{array}{l} \text{FALSOS NEGATIVOS} \\ \text{DE LA} \\ \text{PRUEBA NEGATIVA} \end{array} = \frac{\text{F. N.}}{\text{Total de pruebas negativas}} \frac{c}{c + d} \times 100$$

EXACTITUD: Es un índice que considera, en forma conjunta, las predicciones correctas del procedimiento, positivas y negativas:

$$\text{EXACTITUD} = \frac{\text{V. P.} + \text{V. N.}}{\text{Total de muestras con y sin patología}} \frac{a + d}{(a + b) + (c + d)} \times 100$$