

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**“EVALUACIÓN DE LA TÉCNICA ÁCIDO/ACETATO
ETÍLICO, EN COMPARACIÓN CON LA TÉCNICA
MODIFICADA DE FORMALINA DETERGENTE, PARA LA
DETECCIÓN DE PARÁSITOS GASTROINTESTINALES EN
BOVINOS.”**

MIRIAM DENISSE ROSALES MENDOZA

Médica Veterinaria

GUATEMALA, MAYO DE 2013

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**“EVALUACIÓN DE LA TÉCNICA ÁCIDO/ACETATO ETÍLICO, EN
COMPARACIÓN CON LA TÉCNICA MODIFICADA DE FORMALINA
DETERGENTE, PARA LA DETECCIÓN DE PARÁSITOS
GASTROINTESTINALES EN BOVINOS.”**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

MIRIAM DENISSE ROSALES MENDOZA

Al conferírsele el título profesional de

Médica Veterinaria

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, MAYO DE 2013

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
JUNTA DIRECTIVA

DECANO:	MSc. Carlos Enrique Saavedra Velez
SECRETARIO:	M.V. Blanca Josefina Zelaya de Romillo
VOCAL I:	Lic. Sergio Amilcar Dávila Hidalgo
VOCAL II:	M.V. MSc Dennis Sigfried Guerra Centeno
VOCAL III:	M.V. Carlos Alberto Sánchez Flamenco
VOCAL IV:	Br. Mercedes de los Ángeles Marroquín Godoy
VOCAL V:	Br. Jean Paul Rivera Bustamente

ASESORES

M.V. Manuel Eduardo Rodríguez Zea
M.V. Carlos Enrique Camey Rodas
M.V. Rember Rafael Arriola Molina

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

“EVALUACIÓN DE LA TÉCNICA ÁCIDO/ACETATO ETÍLICO, EN COMPARACIÓN CON LA TÉCNICA MODIFICADA DE FORMALINA DETERGENTE, PARA LA DETECCIÓN DE PARÁSITOS GASTROINTESTINALES EN BOVINOS.”

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título profesional de:

MÉDICA VETERINARIA

DEDICATORIAS

A Dios por bendecirme con su infinita misericordia y bondad, por ser la fuerza y el guía que conduce mi camino.

A mi madre Miriam por apoyarme en todo momento, por sus consejos y por creer ciegamente en mí. A mi padre Lyonel por darme los ejemplos de entrega y perseverancia que me han influenciado siempre y por el valor mostrado para salir adelante. Gracias a la motivación constante de ambos he logrado ser una persona de bien y hoy he alcanzado mi meta, pero más que nada muchas gracias por su amor.

A mi bebé Roberto Carlos Andrés por ser la luz de mi alma, por inspirarme en la búsqueda de un mejor futuro y por darme fuerzas para superar todos los obstáculos.

A mis hermanos Andrea, Lyonel y Javier, tíos, primos y abuelos por haber fomentado en mí el deseo de superación y el anhelo de triunfo en la vida. A mi sobrina Sofía por la alegría que me brinda cada día.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por acompañarme en cada paso que he dado, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad, por iluminar mi camino, y haber puesto en mi sendero aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante mi carrera.

A Don Arnoldo Melgar y familia por haberme brindado el apoyo y la oportunidad de desarrollar mi tesis.

A mis catedráticos por el apoyo brindado durante la carrera, el tiempo dedicado y haber compartido su amistad y conocimientos.

A mis amigos por confiar y creer en mí, haber hecho de mi carrera un trayecto de experiencias que nunca olvidare.

Mil palabras no bastarían para agradecerles su apoyo, su comprensión y sus consejos en los momentos difíciles.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. HIPÓTESIS.....	3
III. OBJETIVOS	
3.1 General.....	4
3.2 Específicos.....	4
IV. REVISIÓN DE LITERATURA	
4.1 Parasitismo.....	5
4.2 Nematodos.....	5
4.2.1 Ciclo biológico.....	5
4.2.2 Taxonomía.....	6
4.3 Gastroenteritis verminosa.....	12
4.3.1 Síntomas.....	13
4.3.2 Patogenia.....	13
4.3.3 Lesiones.....	15
4.3.4 Tratamiento.....	15
4.3.5 Medidas de control.....	16
4.3.6 Diagnóstico.....	16
4.4 Formalina detergente.....	18
4.5 Sedimentación con ácido/acetato de etílico.....	18
V. MATERIALES Y MÉTODOS	
5.1 Materiales.....	20
5.1.1 Recursos humanos.....	20
5.1.2 Campo.....	20
5.1.3 Bilógico.....	20

5.1.4 Laboratorio.....	20
5.1.5 Reactivos.....	21
5.1.6 Gabinete.....	21
5.2 Métodos.....	21
5.2.3 Técnica.....	22
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
VII. CONCLUSIONES.....	28
VIII. RECOMENDACIONES.....	29
IX. RESUMEN.....	30
ABSTRACT.....	31
X. BIBLIOGRAFÍA.....	32
XI. ANEXOS.....	34

I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades parasitarias son un problema común en todo el mundo. El desarrollo de los parásitos y sus fases evolutivas se ven favorecidas por el clima tropical, la temperatura y las condiciones de pobreza en el área rural de Guatemala y Centroamérica. Estas enfermedades pueden ocasionar graves daños en el ganado bovino. Sin embargo, en la mayoría de ocasiones pasan desapercibidas y ocasionan grandes mermas. Ya sea por las enfermedades en si, como por la inversión económica para su control, en la producción de carne o leche.

Por lo anteriormente expuesto, se hace necesario diagnosticar las enfermedades con la mayor rapidez posible, para proveer el tratamiento adecuado contra las nematodosis gastrointestinales, a través de otras técnicas de laboratorio que permitan determinar la presencia de las mismas en el menor tiempo posible y que sean de bajo costo.

La técnica ácido/acetato etílico ha sido utilizada con mayor frecuencia para el proceso de muestras provenientes de animales silvestres. Con ella se han logrado visualizar mayor número de parásitos. Además en comparación con otras técnicas, provee muestras más limpias.

Según varios estudios la técnica formalina detergente ha demostrado ser una prueba confiable por ser más sensible que las técnicas: flotación solución salina, flotación solución sacarosa y Mac Master.

En la presente investigación se pretende determinar si la técnica ácido/acetato etílico es capaz de detectar un mayor número de parásitos, en menor tiempo y a menor costo comparada con la técnica de formalina detergente.

II. HIPÓTESIS

- Existe diferencia entre la técnica ácido/acetato etílico y la técnica formalina detergente en cuanto a la cantidad de huevos detectados por gramo de heces.
- Existe diferencia en cuanto a las especies de huevos detectadas por gramo de heces entre la técnica formalina detergente y la técnica ácido/acetato etílico.
- Existe diferencia entre la técnica ácido/acetato etílico y la técnica formalina en cuanto al tiempo para procesar las muestras.
- Existe diferencia en cuanto al costo para procesar las muestras entre la técnica formalina detergente y la técnica ácido/acetato etílico.

III. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

- Generar información sobre técnicas coprológicas eficaces y eficientes para el diagnóstico de las helmintiasis gastrointestinales en las ganaderías productivas en Guatemala.

3.2 Objetivos Específicos

- Determinar la eficacia de la técnica ácido/acetato etílico para detectar helmintos gastrointestinales, en comparación con la técnica formalina detergente.
- Comparar la eficacia, en cuanto al tiempo para procesar las muestras coprológicas entre cada técnica.
- Determinar y comparar los costos del uso de la técnica ácido/acetato etílico y la técnica de formalina detergente.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Parasitismo

El parasitismo en sentido estricto es la relación interespecífica según la cual una especie llamada parásito depende metabólicamente de otra llamada hospedador, de manera tal que sólo en condiciones especiales implica perjuicio para una de ellas, en particular del hospedador (11).

4.2 Nematodos

Los nematodos de vida libre o parásitos son vermes que carecen de segmentación; presentan, generalmente, forma cilíndrica con los extremos aguzados. El tamaño es muy variable, muchos no superan el milímetro y otros pueden medir más de un metro de longitud (11).

El cuerpo está cubierto por una cutícula que puede tener aspecto anillado, lisa o con estriaciones longitudinales. Las formas parásitas pueden localizarse dentro del hospedador en los ojos, boca, lengua, estómago, intestinos, hígado, tráquea, pulmones y en las cavidades del cuerpo. La mayoría son de sexos separados; los machos, frecuentemente, son de menor tamaño que las hembras (11).

4.2.1 Ciclo biológico

Los nematodos durante su desarrollo mudan de cutícula varias veces. En el ciclo de vida completo existen cuatro mudas con los siguientes estadios larvarios L1, L2, L3, L4 y L5 (adulto). Una característica del ciclo de vida de los nematodos es la transmisión de la infección del hospedero definitivo a otro hospedero. El desarrollo se lleva a cabo en las heces o en animales de

diferentes especies, hospederos intermediarios, antes que la infección se lleve a cabo (10).

En el ciclo biológico directo, las larvas de vida libre presentan dos mudas usualmente después de obtener la infección por la ingestión de la L3. Sin embargo, siempre hay excepciones, en ocasiones la penetración de las larvas es vía cutánea o por ingestión de huevos que contienen las larvas (10).

En el ciclo de vida indirecto, las primeras dos mudadas, se llevan a cabo en un hospedador intermedio y la infección del hospedero definitivo es por la ingestión del hospedero intermediario o por la inoculación de L3 cuando los hospederos intermediarios se alimentan (insectos hematófagos). (10).

Después de la infección se producen dos mudas más, hasta desarrollar la L5. Al copular los machos y hembras se inicia un nuevo ciclo biológico (10).

En varias especies, la larva viaja a lo largo del cuerpo antes de llegar al sitio diana, ésta es la forma migratoria del ciclo. Una de las rutas más comunes es la hepática-traqueal. En ésta, los estadios en desarrollo viajan desde el intestino por el sistema porta, al hígado, por la vena hepática y la vena cava posterior, al corazón, y por la arteria pulmonar, a los pulmones. Las larvas luego viajan por los bronquios, tráquea y esófago hacia el intestino (10).

4.2.2 Taxonomía:

Phyllum: Nematelminthes

Clase: Nematoda

Subclase: Secernentea

Orden: Strongylida

Superfamilia: Trichostrongyloidea

Familia: Trichostrongylidae

Los trichostrongilidos son pequeños helmintos que presentan cápsula bucal vestigial que carece de coronas radiadas y generalmente sin dientes. Los machos tienen bursa copulatrix bien desarrollada y dos espículas que sirven para diferenciar entre especies. Los adultos son parásitos del tracto digestivo del ganado bovino, ovino, equino y otros vertebrados. El ciclo de vida es directo y sin migraciones y la fase infectiva es L3 (1, 9).

Género: Trichostrongylus

Las especies de este género no presentan extremo cefálico manifiesto. El poro excretor está situado en una hendidura próxima al extremo anterior. La bolsa copuladora del macho tiene largos lóbulos laterales, un lóbulo dorsal poco definido. Las espículas son fuertes y acanaladas; con gubernaculum. Los huevos son ovales, de cara fina y segmentado en el momento de la puesta.

La larva de *Trichostrongylus* sp. parasita en el tercer estadio, ubicado en el abomaso o el intestino después de 2-5 días. El período prepatente dura unos 20 días (1, 10).

Trichostrongylus colubriformis

Se presenta en la porción anterior del intestino delgado y a veces en el abomaso del ganado bovino, ovino, caprino, entre otros. Los machos miden 4 a 5.5 mm de longitud y las hembras, de 5 a 7mm. Los huevos miden 79-101x39-47µm (1, 9, 10).

Género: Mecistocirrus*Mecistocirrus digitatus*

Presente en el abomaso de las ovejas, cabras, bovinos, estómago del cerdo y el hombre ocasionalmente. El macho mide 31mm de longitud y las

hembras 43mm. Las papilas cervicales son prominentes y la pequeña cápsula bucal contiene una pequeña lanceta. La hembra presenta ovarios espiralados alrededor del intestino, se diferencia de *Haemonchus*, en las hembras, por la posición de la vulva situada a unos 0.6-0.9mm del extremo de la cola y por la ausencia de la solapa vulvar. La bolsa copuladora del macho tiene un pequeño lóbulo dorsal simétrico. Las espículas son largas y finas, miden de 3.8-7mm de longitud y permanecen unidas durante casi toda su longitud. Los huevos miden 95-120x56-60µm. El ciclo biológico es directo y el período prepatente dura unos 60 días (1, 10).

Género: *Haemonchus*

Las especies de este género son de regular tamaño, 22-25mm. Se caracterizan por el contenido rojo de su tubo digestivo al que se adosa en forma helicoidal el aparato genital, lo que da aspecto de “palo de barbero”. *Haemonchus* sp. posee elevada prolificidad, una hembra puede poner de 5.000 a 10.000 huevos por día, lo que le da un gran potencial biótico; su período prepatente es de 4 semanas en bovinos (1, 10).

Haemonchus placei

Afecta al abomaso del ganado vacuno. El macho tiene espículas miden 454-470mm de longitud, la lengüeta a la punta de la espícula izquierda mide 52-54µm y la distancia de la lengüeta a la punta de la espícula derecha es de 24-37µm. El macho tiene un color rojizo uniforme, mientras que en la hembra, los ovarios blancos se enrollan en espiral alrededor del intestino rojo, dando un aspecto rayado. Las papilas cervicales son prominentes y espiniformes. Hay una pequeña cavidad bucal que contiene una lanceta dorsal. La bolsa del macho tiene lóbulos laterales alargados sustentados por radios largos y finos. El pequeño lóbulo dorsal es asimétrico y está desviado hacia el lóbulo lateral izquierdo, siendo sustentado por un radio dorsal en forma de Y. Las espículas miden de

0.46-0.506mm de longitud y cada una lleva una pequeña lengüeta cerca del extremo. La vulva de la hembra está cubierta por un proceso lingüiforme, grande y muy prominente, que puede aparecer reducido a una pequeña prominencia en forma de botón en algunos ejemplares. Los huevos 70-85x41-48µm conteniendo un embrión de 16-32 células. Las larvas pueden sobrevivir varios meses en las heces y se liberan cuando hay suficiente humedad. Al ser ingeridos los huevos, las larvas se liberan en el rumen y migran al abomaso alojándose entre las glándulas epiteliales gástricas. El período prepatente está entre 26 y 28 días (9, 10, 11).

Género: Ostertagia

Son tricostrongídeos de poco más de un centímetro de longitud. Se localizan en el cuajar y producen lesiones en las glándulas tanto en estadios juveniles como adultos. Los huevos se desarrollan a partir de los 7-8°C de temperatura, y las larvas de tercer estadio son más susceptibles que las de otras especies a la desecación estival. Este es el principal causante de la gastritis en los rumiantes que viven en áreas templadas y frías. (1, 11, 10).

Ostertagia ostertagi

Afecta el abomaso de animales jóvenes produce la enfermedad llamada ostertagiosis caracterizada por la pérdida de peso y diarrea (10).

Género: Cooperia

Se encuentra en el intestino delgado y con menos frecuencia en el abomaso de los rumiantes. La cutícula del extremo anterior forma una dilatación cefálica y estrías cuticulares transversas en esófago. La bolsa copuladora del macho presenta un pequeño lóbulo dorsal. Las espículas son fuertes, cortas, con reborde o expansión en forma de ala en su zona media. No hay piezas accesorias. La vulva puede estar cubierta por una solapa y está situada por

detrás de la línea media del cuerpo (10 y 11).

Las especies de *Cooperia* se localizan en intestino delgado, en ocasiones se hallan en el abomaso (*C. punctata*). Son poco patógenas, producen lesiones superficiales en las criptas de Lieberkühn donde se ubican; se alimentan de secreciones y células descamadas del epitelio. Pueden hallarse en cargas muy elevadas en animales menores de un año de zonas templadas y cálidas. Sus larvas pueden entrar en hipobiosis en alguna época del año, presenta un período perpatente que varía entre 15 y 18 días (11).

Cooperia punctata

Se encuentra en ganado vacuno. Los machos miden 4.8-5.9 mm de longitud y las hembras 5.7-7.5mm. Las espículas miden de 0.12-0.15mm (9).

Cooperia pectinata

Se presenta en el ganado vacuno. Los machos miden 7 mm de longitud y las hembras 7.5-9mm. Las espículas miden 0.24-0.28mm (9).

Cooperia oncophora

Se encuentra en ganado vacuno principalmente. Los machos miden 5.5 a 9mm de longitud y las hembras de 6-8mm. Las espículas miden 0.24-0.3mm (9).

Superfamilia: Strongyloidea

Se caracterizan por la presencia de una larga cápsula bucal que contiene dientes y plaquetas afiladas y algunas son prominentes coronas alrededor de la boca. Los adultos se observan en la superficie mucosa del tracto gastrointestinal y respiratorio y se alimentan de la secreción mucosa.

Los géneros presentes en el tracto gastrointestinal se dividen en dos grupos estróngilos y ancilostómidos (10).

Los estróngilos son parásitos del intestino grueso y el de mayor importancia es *Oesophagostomum*. Los ancilostómidos son parásitos del intestino delgado y el género de importancia veterinaria *Bunostomum* (10).

Género: *Bunostomum*

Posee una gran cápsula bucal, tiene un diente dorsal muy desarrollado en forma de cono en el interior de la cavidad oral y un par de lancetas subventrales. Se adhiere a la mucosa intestinal dañándola y accediendo a la lámina propia de cuya sangre, líquidos y células se alimenta.

Provoca hemorragias cuando cambia de sitio de alimentación, por lo que la anemia es el signo más importante de su acción patógena. Puede penetrar a través de la piel, ingestión o vía permucosa. En caso de infección cutánea o mucosa alcanza la circulación venosa, llega al pulmón donde muda por tercera vez, a los 11 días post-infección se halla en el intestino delgado y completa el desarrollo hasta la postura de huevos en 30 a 56 días, en este caso el período prepatente dura entre 1 y 2 dos meses (10, 11).

Bunostomum phlebotomum

Se presenta en el intestino delgado, principalmente en el duodeno del ganado vacuno. El macho mide 10-18 mm de longitud y la hembra 24-28mm. Presenta un cono dorsal corto, tiene dos pares de lancetas subventrales en la cápsula bucal, las espículas miden 3.5-4mm. Los huevos miden 106x46 μm (10, 11).

Género: Oesophagostomum

Los miembros de este género presentan una cápsula bucal cilíndrica, estrecha, con corona radiada. Tiene un surco cervical ventral cerca del extremo anterior, por delante del cual la cutícula se dilata formando una vesícula cefálica. Parasitan intestino delgado y grueso del ganado vacuno, ovino, porcino y primates. Estos nematodos se denominan con frecuencia nematodos nodulares, debido a que diversas especies producen la formación de nódulos en la pared intestinal (11, 10).

La vía de penetración puede ser por ingestión de L3, aunque también puede ingresar vía cutánea. Al ingresar L3 penetran en la pared del intestino enroscándose sobre la *muscularis mucosae* y produciendo quistes en cualquier tramo del intestino, al 4º día mudan a L4, luego de 7 días regresan a la luz intestinal y se localizan en el colon donde se produce la última muda y desarrolla el estadio adulto, el período prepatente dura 45 días (10, 11).

Oesophagostomum radiatum

Se presenta en el colon del ganado vacuno. El macho mide 14-17mm de longitud y la hembra 16-22 mm. Esta especie se caracteriza por un collar bucal redondeado, por una gran vesícula cefálica por detrás de su línea media, y por la carencia de corona radiada externa. La vagina es corta. Las espículas miden 0.7-0.8 mm de longitud. Los huevos miden 70-76x36-40µm son de tipo estróngilo. El período prepatente es de 32-34 días (10, 11)

4.3 Gastroenteritis verminosa

Enfermedad parasitaria causada por nematodos de la superfamilia Trichostrongyloidea incluyendo especies de los géneros Haemonchus, Osteragia, Trichostrongylus y Cooperia entre otros. Estos parásitos se encuentran en el abomaso y en los intestinos del bovino especialmente y, afectan preferentemente

a animales jóvenes (1).

4.3.1 Síntomas

Usualmente es una afección asintomática y la mortalidad es un pálido reflejo de las inmensas pérdidas en la producción de carne y leche (1, 10).

Inicialmente puede causar una anemia hipocrómica normocítica. En infecciones severas o prolongadas sobreviene una depleción del hierro y agotamiento de la médula ósea produciendo anemia hipocrómica microcítica severa, que puede producir la muerte (1, 10).

La pérdida de proteínas plasmáticas obliga a reemplazarlas con aminoácidos de otros tejidos y se produce una pérdida de peso. La hipovolemia estimula los factores renales antidiuréticos y baja la presión coloidosmótica, debido a la pérdida de proteínas plasmáticas favorece a la filtración capilar de modo que se producen edemas; además, las proteínas del estómago aumentan el pH gástrico de manera que el pepsinógeno no se transforma en pepsina y, debido a la permeabilidad gástrica aumentada, suben las tasas de pepsinógeno en la sangre (1, 10).

Puede haber diarrea intensa, persistente y verdosa, el pelaje se ve descuidado, los miembros traseros están sucios con heces y sufren una pérdida de peso importante (1, 10).

4.3.2 Patogenia

La patogenia de los parásitos varía extensamente dependiendo de su número, sus hábitos, las migraciones que realiza en el huésped y el grado de adaptación entre el huésped y el parásito. Cuando se reproducen dentro del

huésped, la cantidad de parásitos puede aumentar sin producir enfermedad (2).

Los parásitos dañan al hospedero mediante diferentes acciones así como (2, 11):

1. **Acción exfoliatriz:** utilizan los tejidos para la nutrición del parásito y va desde el daño celular hasta la hematofagia o histio-hematofagia. Muchos parásitos se nutren de esta manera y no siempre producen evidencias clínicas (7, 11).

2. **Competencia por los nutrientes:** los parásitos se nutren en el intestino delgado, de los alimentos predigeridos por el propio hospedador. Seleccionado las proteínas y vitaminas necesarias. El tamaño y cantidad de helmintos resultan determinantes del daño (7, 11).

3. **Acción mecánica:**
 - Traumática: muchos parásitos lesionan tejidos u órganos durante sus migraciones. Además de su acción exfoliatriz, producen daño en los trayectos que forman. Otros ejercen presión sobre los órganos que parasitan y alteran su forma (7, 11).

 - Obstruictiva: algunos helmintos por su tamaño obstruyen vías naturales como el intestino. Aunque no se alimentan del epitelio producen una acción traumática y de competencia por nutrientes cuya gravedad depende de la intensidad de la carga parasitaria (7, 11).

4. **Alteración funcional de órganos afectados:** independientemente del daño en sí sobre los tejidos, muchas veces la cantidad de parásitos en un órgano termina por alterar su función (7, 11).

5. **Acción tóxica:** Por la secreción de toxinas u otras sustancias dañinas

(enzimas antidigestivas, enzimas digestivas, enzimas anticoagulantes, enzimas hemolíticas, etc.) (7, 11).

6. Efecto patogénico de la reacción inmune a los parásitos: este es uno de los mecanismos de daño más importante se basa en la propia reacción del organismo. Gran parte de las reacciones inmunes de los hospedadores se inducen en forma específica por reacción a antígenos parasitarios, pero se expresan por mecanismos efectores diversos, algunos de los cuales suelen resultar muy importantes. La reacción frente a larvas de nematodos en individuos sensibilizados despliega la cadena de reacciones propias de hipersensibilidad de tipo alérgico (7, 11).

4.3.3 Lesiones

En las especies que parasitan el intestino las larvas suelen producir cavidades entre el epitelio y la membrana basal, por lo que ocasionan la pérdida de células, y generan un proceso inflamatorio en donde la lámina propia aparece engrosada, edematosa e infiltrada, aumentan la permeabilidad y facilitan una diarrea de tipo osmótico con tendencia a la hipoalbuminemia. En infecciones graves puede producirse atrofia de las vellosidades en grado variable. Otro efecto importante de la afección mucosa se produce sobre células endócrinas; las células que secretan colecistoquinina (CCQ) se ven estimuladas, ese aumento deprime el centro regulador del apetito en el cerebro; por otro lado, la reducción de secreción de secretina en el duodeno induce la reducción de producción de gastrina en el estómago. A la reducción del apetito se agrega la pérdida de capacidad digestiva y de absorción del intestino (11).

4.3.4 Tratamiento

Para el tratamiento de la gastroenteritis verminosa se pueden utilizar diversos antihelmínticos como: bendimidazoles, los probendimidazoles, el levamisol, el pirantel y las avermectinas los cuales son altamente efectivos contra

los parásitos adultos o en desarrollo y las avermectinas son también efectivas contra las larvas hipobióticas (1, 10).

4.3.5 Medidas de control

Actualmente se controla la presencia de parásitos mediante su eliminación antes de que causen daño a los animales y antes de que contaminen el ambiente.

Existen tres formas de lograrlo:

- Tratamiento supresivo: consiste en tratar a los animales con tal frecuencia que evite que las infecciones se hagan patentes. Este sistema es simple preciso, pero de alto costo en antihelmínticos y mano de obra; estimula la aparición de parásitos resistentes a los antiparasitarios y evita que se forme suficiente estímulo antigénico, para desarrollar resistencia contra los mismos (1).
- Tratamiento estratégico: consiste en efectuar pocos tratamientos al año que interfieran con la epidemiología de la transmisión. Esta estrategia ahorra dinero en drogas y trabajo, posterga la aparición de resistencia al antihelmíntico y permite estimular la inmunidad a los parásitos (1).
- Tratamiento integrado: consiste en combinar todos los medios de control posibles, y minimizar el uso de tratamiento antiparasitario. Este método es efectivo, ahorra el uso de antihelmínticos y demora la aparición de resistencia a los mismos (1).

4.3.6 Diagnóstico

El diagnóstico clínico de la gastroenteritis verminosa en rumiantes es difícil, porque los signos y síntomas no son exclusivos de esta afección y porque la mayoría de los animales siempre están eliminando alguna cantidad de huevos. A

menudo se establece un diagnóstico presuntivo basado en los síntomas, la edad de los animales enfermos, la historia, el pastoreo y la época del año; estos se confirman con un examen coprológico cuantitativo (11).

El diagnóstico de las infecciones parasitarias puede establecerse de dos maneras fundamentales: por métodos directos, diseñados para observar o detectar el parásito o alguno de sus elementos identificables y/o por métodos indirectos, dirigidos a hacer evidente la respuesta inmune del hospedero frente al parásito (4).

La selección de una o más técnicas dependerá de qué especie parasitaria está presente y la fase de su ciclo evolutivo (5).

Las técnicas de laboratorio más utilizadas son:

Cualitativas:

- Frotis fecal directo: Es el método más rápido para la detección de parasitosis. Una pequeña cantidad de heces, se humedece en una gota de solución salina en un portaobjetos para visualizar trofozoitos vivos. Si se realiza con agua permite detectar altas concentraciones de huevos o quistes (2).
- Flotación: suspende la muestra en un medio de densidad superior a la de los huevos, quistes y ooquistes, que por su capacidad de flotación se concentran en la superficie. (11).
- Sedimentación: se lleva a cabo suspendiendo la muestra fecal en una solución acuosa para que sedimente de forma natural o acelerando el proceso por centrifugación. Se utiliza para la búsqueda de huevos, quistes u ooquistes en materia fecal con alto contenido en grasas (11).

- Filtración: Indicada para la búsqueda huevos de *Fasciola hepática* (11).

Cuantitativas:

Las técnicas cuantitativas permiten determinar la cantidad de huevos u ooquistes que son eliminados con la materia fecal. El resultado expresa el número de huevos u ooquistes por gramo de heces, HPG u OPG respectivamente (11).

- Técnica de Mc Master (modificada): La sensibilidad depende de la dilución de la materia fecal y del tamaño de las cámaras de conteo utilizadas (2).

4.4 Formalina Detergente

La formalina detergente es una técnica hermana de la técnica de sedimentación formalina-éter para la detección de parásitos, aunque no es recomendada para protozoos. Es un método fácil de realizar y muy sensible a los huevos de parásitos gastrointestinales (8).

El método consiste en mezclar heces en una solución de formalina al 2% y detergente al 2%, dejándolo reposar entre dos capas de gasa, durante una noche. En 1990, Kightlinger y colaboradores, realizaron una modificación al usar previamente heces preservadas con 0.5 ml de formalina, mejorando de esta manera los resultados, en comparación con la técnica de etil-acetato. Concluyeron que la técnica de Formalina-Detergente, es un método eficaz y sensible, para la detección de parásitos gastrointestinales (3).

4.5 Sedimentación con ácido/acetato etílico

La sedimentación en ácido/acetato etílico es una técnica hermana de la sedimentación en formol/acetato etílico. En esta técnica, las heces frescas se

suspenden en una solución ácida, comúnmente ácido clorhídrico. El resto de la técnica es igual que para el método de sedimentación en formol/acetato etílico.

Tiende a proporcionar una muestra más limpia que la obtenida con formol, pero no funciona en quistes de protozoos. Sin embargo, algunos técnicos prefieren usar el método con ácido/acetato etílico para las muestras de materia fecal tomadas de animales silvestres (2).

El acetato de etilo preserva la morfología de los parásitos y la concentración es comparable con la de otras técnicas (5).

Este sistema es más largo de realizar pero se captura un mayor número de parásitos (quistes de amebas y ciliados) para helmintos como: huevos de trematodos y cestodos (tenias), larvas de nematodos y otros quistes de protozoos sin distorsionarlos (6).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales

Recursos humanos

- 1 Estudiante tesista
- 3 Asesores

Campo

- 1 Hielera
- Hielo suficiente
- 200 Bolsas plásticas
- 1 Marcador permanente
- 200 Etiquetas de papel

Biológico

- 100 muestras fecales de bovino

Laboratorio

- Aplicadores de madera
- Colador
- Beakers
- Botellas plásticas para lavado
- Centrífuga
- Tubos de centrífuga cónicos de vidrio de 15 ml con tapón de goma
- Láminas Portaobjetos
- Láminas Cubreobjetos
- Microscopio

Reactivos

- 450 g detergente al 10 %
- 10 ml formalina al 2 %
- 10 ml formalina al 5 %
- Acetato etílico
- Ácido clorhídrico al 37%

Gabinete

- Calculadora
- Lapiceros
- Computadora
- Impresora
- Hojas de papel bond

5.2 Métodos

Durante el verano, previo a iniciar el proyecto se realizó un muestreo para determinar y confirmar la presencia de parásitos en el área de estudio.

Al obtener resultados positivos se inició el trabajo de campo. Cada semana se tomaron muestras de 25 bovinos diferentes. Cada muestra se identificó y colocó en una hielera con preservante y se transportó al laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

En el laboratorio cada muestra se procesó con ambas técnicas: formalina detergente y ácido/acetato etílico. Se identificaron los huevos de los parásitos presentes y la cantidad de los mismos en las muestras; se contabilizó el tiempo de duración del procedimiento de cada técnica.

Al final se compararon los datos obtenidos mediante el método estadístico Kruskal Wallis para determinar cuál de las técnicas era más eficaz.

5.2.1 Técnicas

Procedimiento Formalina detergente (FD)

- Elaborar solución madre con formalina, detergente y agua destilada para realizar una solución al 10 % de detergente y formalina al 2 %,
- Se adiciona 9.5 ml de la solución Formalina Detergente en un tubo graduado,
- Se agrega heces fecales hasta que alcance la medida de 10 ml,
- Se mezcla y homogeniza la muestra, con una varilla de madera, luego se deja reposar por treinta minutos; con el fin que el detergente actúe y libere los huevos y larvas de parásitos, así como también ooquistes de protozoos de los detritos fecales.
- Se tamiza a través de un embudo (con malla) a otro tubo,
- Se tapa el tubo y se agita vigorosamente por 30 segundos,
- Se deja reposar,
- Se descarta el sobrenadante,
- Se ajusta el sedimento con formalina al 5 % hasta llegar a 1 ml,
- Se homogeniza la muestra adecuadamente, y
- Se observa al microscopio con una lámina porta objetos, 0.04 ml del sedimento, completamente cubierta con una laminilla cubre objetos.

Interpretación

Los huevos contados, de dos observaciones en una misma muestra son tomados en porcentaje. Para determinar el número de huevos por gramo, se multiplica el número de huevos, por lámina por el factor 50 y dependiendo de la consistencia de la materia fecal, se multiplica por otro factor, así:

- Muestra sólida X 2
- Muestra pastosa X 3
- Muestra diarreica X 4

Procedimiento Sedimentación con ácido/acetato etílico (AAE)

- Colocar 1.0g de heces en un vaso de cartón.
- Agregar 8.0 ml de agua y agitar vigorosamente con los aplicadores. Puede ser que las heces no se separen rápidamente; de ser así, dejar descansar la muestra durante un corto tiempo para permitir que se ablande.
- Tamizar la muestra fecal pasándolo a un beaker.
- Colocar la muestra en el tubo de ensayo de la centrífuga.
- Centrifugar a 800g durante 1 minuto.
- Decantar el sobrenadante.
- Agregar 8.0 ml de solución ácida mezclando con el aplicador.
- Agregar 5.0 ml de acetato etílico, colocar el tapón y agitar vigorosamente.
- Sacar el tapón, cargar y balancear la centrífuga. Centrifugar a 800.0g durante 5 minutos.
- Habrá una obstrucción de material en el lugar de la interfaz ácido/acetato etílico. Pasar el aplicador alrededor de la pared de vidrio y hacer decantar el acetato etílico, la obstrucción y la solución ácida.
- Examinar el sedimento para detectar la presencia de huevos.

Interpretación

Los huevos contados, de dos observaciones en una misma muestra son tomados en porcentaje. Para determinar el número de huevos por gramo, se multiplica el número de huevos, por lámina por el factor 50.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este proyecto lo llevé a cabo durante la época seca en el año 2011 en la finca “La Primavera”, ubicada en el kilometro 43 del municipio San José Pinula.

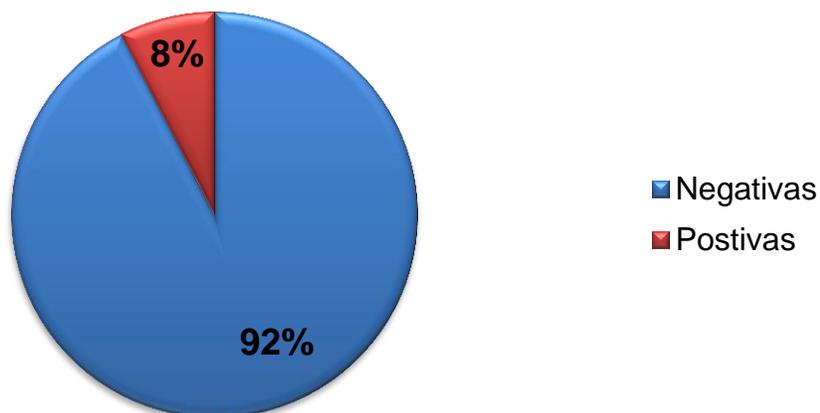
En el desarrollo del mismo, se hizo un muestreo previo en 25 bovinos raza Jersey de diferentes edades que confirmó la presencia de parásitos en el área.

Para realizar el trabajo de campo tomé muestras de 25 diferentes bovinos (terneros mayores a tres meses, novillas, vacas adultas y toros), hasta acumular 100 muestras. Cada semana procesé las muestras a través de las técnicas formalina detergente y ácido/acetato etílico.

En los resultados logré observar que en la técnica de ácido/acetato etílico existía una mayor cantidad de huevos de parásitos a diferencia de la técnica de formalina detergente.

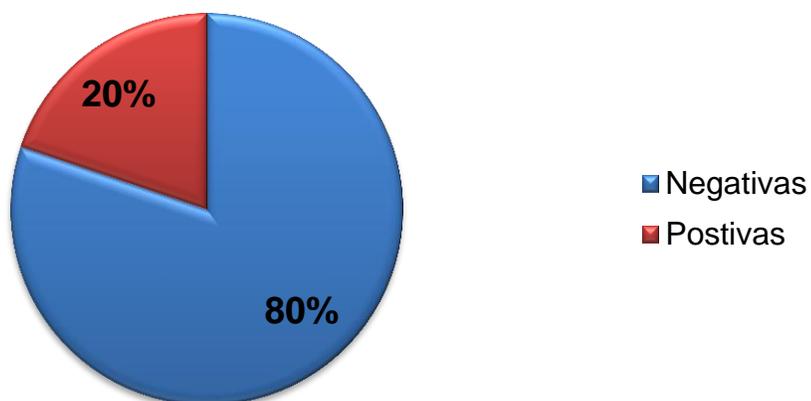
La técnica formalina detergente permitió detectar huevos de parásitos de los géneros *Cooperia* y *Oesophagostomum*, a diferencia de la técnica ácido/acetato de etilo, que además de haber detectado los géneros ya mencionados, también detectó *Mecistocirrus*, corroborando así los resultados obtenidos por Bowman y Fogarly quienes afirman que la técnica ácido acetato etílico es capaz de detectar una mayor variedad y cantidad de huevos de parásitos.

Muestras Positivas de Huevos de Parásitos con la técnica Formalina Detergente



Del total de las muestras trabajadas (100) el 8% fueron positivas con la técnica formalina detergente.

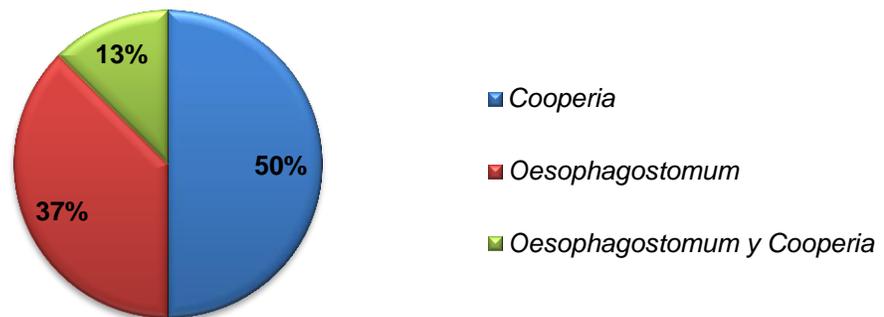
Muestras Positivas de Huevos de Parásitos con la Técnica Ácido/Acetato Etílico



El 20% positivas con la técnica de ácido/acetato etílico. De las muestras positivas únicamente dos coincidieron en ambas técnicas.

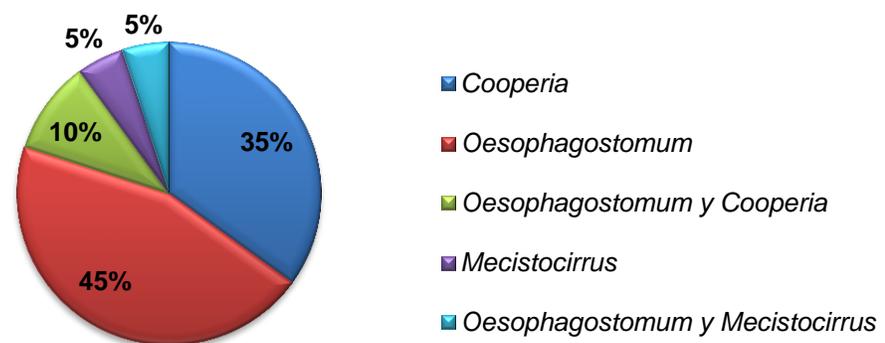
De las 8 muestras positivas procesadas con la técnica formalina detergente el 50% de los huevos detectados fueron *Cooperia*; el 37.5% *Oesophagostomum*; y el 12.5% de las muestras presentaron *Oesophagostomum* y *Cooperia*.

Especie de huevos de parásitos detectados con la técnica Formalina Detergente



De las 20 muestras positivas procesadas con ácido/acetato etílico el 35% fueron huevos de *Cooperia*, el 45% huevos de *Oesophagostomum*, el 10% fue una combinación de *Oesophagostomum* y *Cooperia*; 5% fue para huevos de *Mecistocirrus*, y 5%, para una combinación de *Cooperia*, *Oesophagostomum* y *Mecistocirrus*.

Especie de huevos de parásitos detectados con la técnica Ácido/Acetato Etílico



Dentro de los hallazgos cabe mencionar, que durante la lectura de las muestras procesadas con ácido/acetato etílico, la membrana del huevo se deterioró, dificultando con ello, la identificación de los mismos. Así mismo, esta técnica también presentó menos residuos de materia orgánica que la técnica formalina detergente (ver Anexo III).

En sus estudios Magaró menciona que la técnica ácido/acetato etílico preservaba la morfología de los parásitos; sin embargo, en este caso, observé un gran deterioro de la membrana de varios huevos (ver Anexo III), probablemente debido a la concentración de ácido clorhídrico utilizado en la elaboración de la misma. También se mencionaba que esta técnica proporcionaba una muestra más limpia que la obtenida con formol, lo cual pude constatar en la práctica.

La técnica ácido/acetato etílico, en promedio, tiene una duración del proceso de 10 minutos. Por el contrario el tiempo de proceso de formalina detergente es de 24 horas y 40 minutos, por lo que la primera técnica mencionada permite un diagnóstico más rápido que la segunda, en beneficio de los usuarios.

Al analizar los datos con la prueba estadística no paramétrica de Kruskal Wallis, determiné que existe una diferencia significativa en la detección de huevos de parásitos entre ambas técnicas, siendo ácido/acetato de etilo más eficaz que formalina detergente (H calculado: 3.15 y H tabulado: 0.0000393).

Durante la realización de la técnica formalina detergente la sumatoria del valor de sus componentes y su elaboración representaba un costo de Q5.00 por muestra, y un total de Q13.50, por muestra, al utilizar la técnica ácido acetato de etilo (ver Anexo II).

VII. CONCLUSIONES

1. La técnica ácido/acetato etílico es capaz de detectar más especies de huevos de parásitos que la técnica de formalina detergente.
2. Al analizar los resultados con el método estadístico, se observó una diferencia significativa entre las técnicas para la detección de huevos de parásitos siendo ácido/acetato etílico más sensible (H calculado: 3.15 y H tabulado: 0.0000393).
3. La identificación de huevos de parásitos se dificulta en la técnica ácido/acetato etílico, debido a la destrucción de los mismos durante el proceso.
4. El género de huevo de parásito, en el cual se observó deterioro en mayor grado, fue *Cooperia sp.*
5. El tiempo para procesar las muestras con la técnica ácido/acetato etílico es menor (00:10:01horas) en comparación de la técnica formalina detergente (24:35:36 horas), por lo que la primera técnica mencionada permite un diagnóstico más rápido.
6. Los costos de procesamiento para la técnica formalina detergente son de Q5.00, mientras que ácido/acetato etílico es de Q13.50.
7. La técnica ácido/acetato etílico es una técnica más eficiente, que formalina detergente. A pesar de ser una técnica más costosa permite en mayor grado la detección de huevos de parásitos.

VIII. RECOMENDACIONES

1. La técnica ácido/acetato de etilo puede ser utilizada como un método de diagnóstico rápido.
2. Evaluar diferentes concentraciones de ácido clorhídrico para determinar con que concentración se evita la destrucción de los huevos de parásitos.
3. Las técnicas que se han utilizado con anterioridad como: flotación, siguen siendo buenas opciones para la detección de huevos de parásitos, por lo que las técnicas descritas solamente deberían de utilizarse como técnicas complementarias.

IX. RESUMEN

La presente investigación permitió determinar si la técnica ácido/acetato etílico es capaz de detectar un mayor número de parásitos, en menos tiempo y costo, comparada con la técnica de formalina detergente.

Este proyecto se realizó durante la época seca en el año 2011 en la finca “La Primavera”, ubicada en el kilómetro 43 del municipio San José Pinula. En el trabajo de campo, cada semana se tomaron muestras de 25 diferentes bovinos, hasta acumular 100 muestras. Estas se procesaron a través de las técnicas formalina detergente (FD) y ácido/acetato etílico (AAE).

En los resultados se observó que en la técnica AAE existía una mayor cantidad de huevos de parásitos a diferencia de la técnica FD. La técnica FD permitió detectar huevos de parásitos de los géneros *Cooperia* y *Oesophagostomum*, y la técnica AAE, además de los ya mencionados, también detectó *Mecistocirrus*. En los hallazgos de la técnica AAE, se observó el deterioro de la membrana del huevo, dificultando, la identificación de los mismos. Así mismo, esta técnica también presentó menos residuos de materia orgánica que la técnica FD.

Estadísticamente se presentó diferencia significativa entre las técnicas para la detección de huevos de parásitos siendo ácido/acetato etílico más sensible. La técnica ácido/acetato etílico permitió un diagnóstico en menor tiempo (10:01mins) comparado con formalina detergente (24:35:36horas). El costo del proceso para la técnica FD fue de Q5.00, mientras que el de la técnica AAE de Q13.50. Determinando que la técnica AAE, es más eficiente, que FD. A pesar de ser más costosa permite en mayor grado la detección de huevos de parásitos.

ABSTRACT

This research allowed determine if the technique acid acetate ethylic is able to detect a bigger amount of parasites, in less time and cost, compared to formalin detergent technique.

This project had place during the dry season in 2011 at "La Primavera" ranch, localized in San José Pinula kilometer 43. In field, until to accumulate 100 samples, each week was sampled 25 different bovines. These were process through the techniques formalin detergent (FD) and acid/acetate ethylic (AAE).

As result I found there were a greater number of parasites eggs with AAE in contrast to the FD technique. The FD technique allowed to detect parasites eggs from Cooperia and Oesophagostomum genus, and AAE technique, in addition to those already mentioned, also detected Mecistocirrus. In addition, this technique presented less waste organic matter than the FD technique. But in AAE technique was observed injury in egg's membrane making difficult the identification of the parasite kind.

Statistically, for the detection of parasites eggs, was observed a significant difference between the techniques being acid acetate ethylic more sensitive. The AAE technique allowed a diagnosis in less time (10 mins) compared with formalin detergent (24:35:36 hours).

The cost of the technical process was Q5.00 FD, while AAE procedure is Q13.50. In conclusion the AAE technique is more efficient than FD. Despite being more expensive, permits in greater detection of parasite eggs.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Barriga, O. 2002. Las enfermedades parasitarias de los animales domésticos en América Latina. Tricostrongiloidiasis (gastroenteritis verminosa) de los rumiantes. Santiago, CL. Editorial Germinal. 247 p.
2. Bowman, D; Fogarly, E. 2003. Parasitología: diagnostico en perros y gatos. Argentina. Nestlé Purina Pet Care Company. 88 p.
3. De la Rosa Gómez, ES. 2007. Evaluación de la técnica modificada formalina detergente en comparación con la técnica de flotación con sacarosa y solución salina, para la detección de parásitos gastrointestinales en caprinos de ordeño en el municipio de Villa Nueva, Guatemala. *Tesis Lic. Med. Vet.* Guatemala, USAC/FMVZ. 38p.
4. Espinosa, F; Figueroa DR; Torres, FE; Barriga, G; Castillo, N; Espinosa, O. 1998. Programa de actualización continua para infectología, diagnóstico por el laboratorio de las parasitosis (en línea). México. Intersistemas, S.A. Consultado 09 feb. 2011. Disponible en www.drscope.com/pac/infecto-1/a5/in1a5_p48.htm
5. Magaró, HM. s.f. Parásitos del tracto intestinal humano. Módulo III. s.l. consultado 09 feb. 2011. Disponible en interware.org/labeutm2006/wpcontent/uploads/2008/05/parasitos-intestinales-iii.pdf

6. Martínez, A. Parásitos digestivos en reptiles (en línea). Revista ARGOS. Consultado 09 feb. 2011. Disponible en www.amasquefa.com/uploads/parasitos_reptiles_ARGOS128.pdf
7. Mönnig, HO. 1950. Veterinary helminthology and entomology, the disease of domesticated animals caused by helminth and arthropods parasites. 3 ed. Gran Bretaña. Baltimore, The Wiliam & Wilkins Company. 427 p.
8. Rungkanta, M. Kom, S. Kabkaew, L. Sukontason. Somsak, P. 2003. Evaluation of the formalin-tween concentration technique for parasitic detection (en línea). Sao Paulo, BR. Consultado 22 mayo 2011. Disponible en www.scielo.br/pdf/rim_tsp/v45n5/a09v45n5.pdf
9. Soulsby, E.J.L. 1987. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7 ed. México. Interamericana.
10. Urquhart, GM; Armour, J; Duncan, JL; Dunn, AM; Jennings, FW. s.f. Veterinary parasitology. 2 ed. Escocia. Editorial blackwell. 307 p.
11. Vignau, ML; Venturini, LM; Romero, JR; Eiras, DF; Basso, WU. 2005. Parasitología práctica y modelos de enfermedades parasitarias en los animales domésticos. Argentina. Universidad Nacional de La Plata. 194 p.

XI. ANEXOS

ANEXO I

Boleta de recolección de Datos

Técnica:

No. muestra	Identificación del animal	Sexo	Edad	Resultado	Huevos por gramo de heces
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					

ANEXO II

Material	Costo de proceso	
	Formalina detergente	Ácido/acetato etílico
Bolsas plásticas	Q 0.2	Q 0.2
Etiquetas	Q 0.1	Q 0.1
Portaobjetos	Q 0.42	Q 0.42
Cubreobjetos	Q 0.49	Q 0.49
Detergente	Q 1.00	
Formol	Q 0.06	
Acetato etílico		Q 4.00
Ácido clorhídrico		Q 0.85
Otros costos	Q 2.73	Q 6.06
Total	Q 5.00	Q 13.00

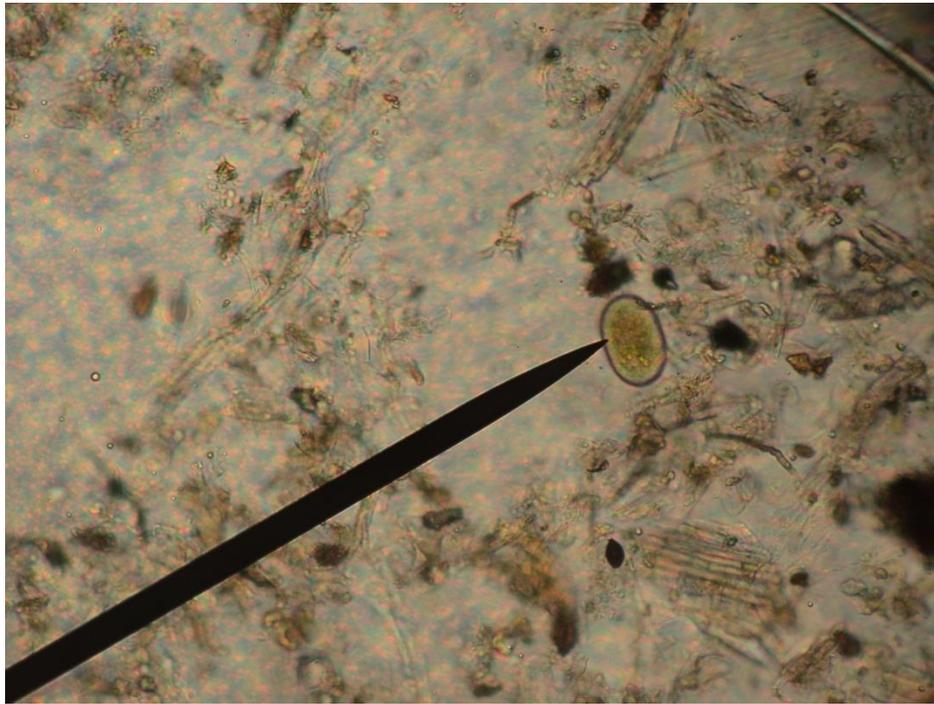
Anexo III



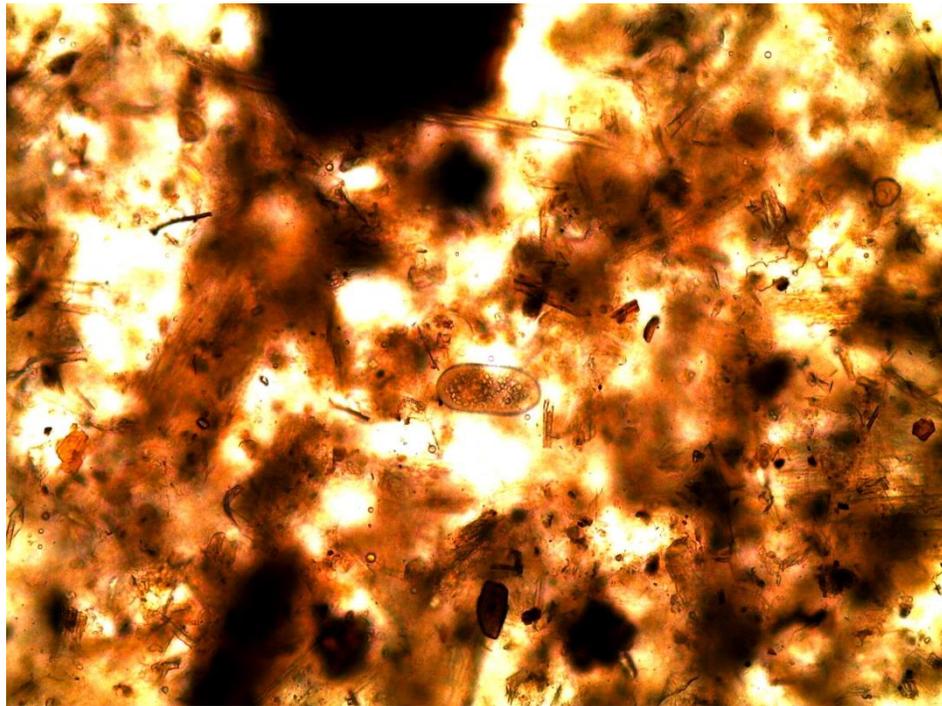
Finca “La Primavera” ubicada en el kilómetro 43 del municipio San José Pinula.



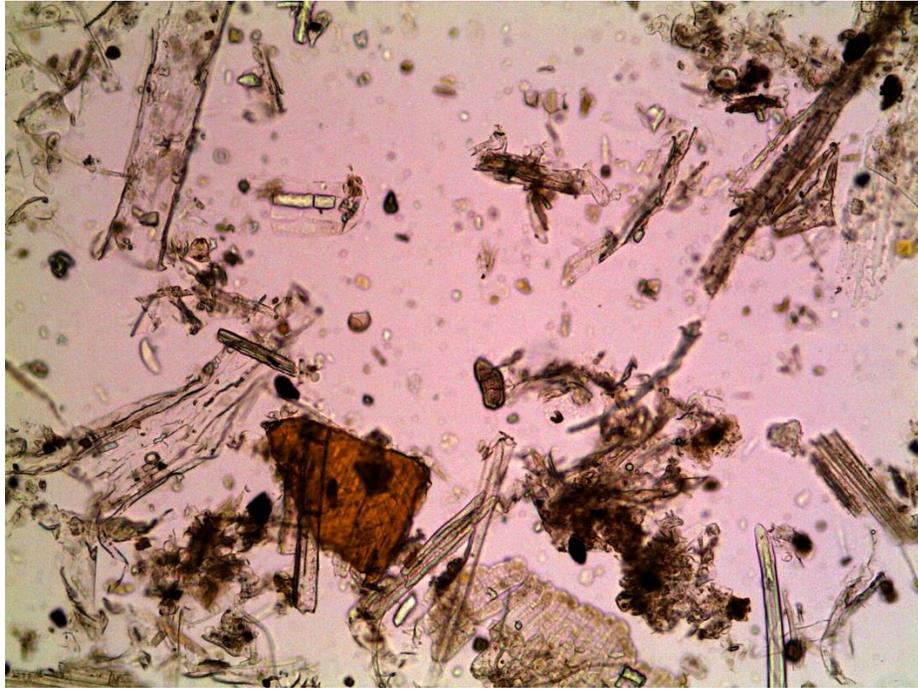
Toma de muestra de heces para diagnóstico de parásitos.



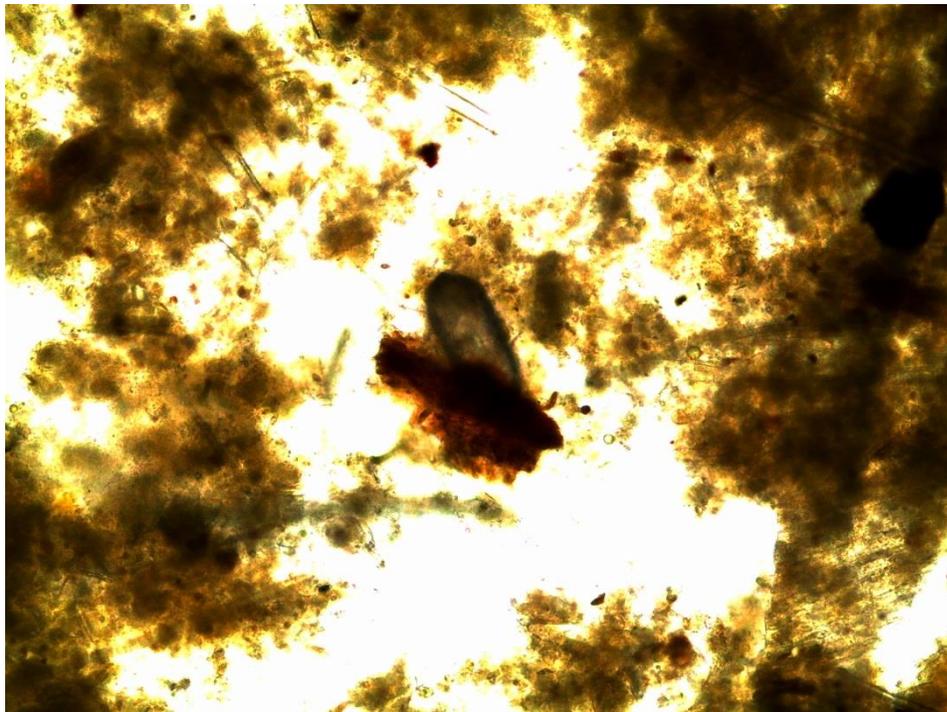
Huevo de *Oesophagotomum* sp. Detectado con la técnica ácido/acetato etílico.



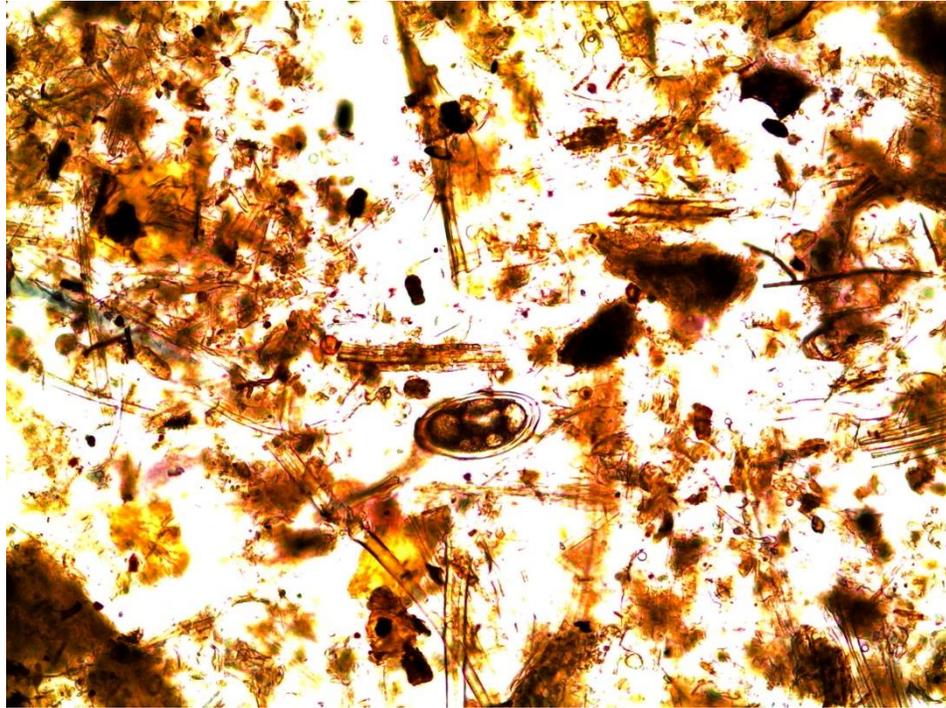
Huevo de *Oesophagotomum* sp. Detectado con la técnica formalina detergente.



Deterioro de la membrana en Huevo de *Cooperia* sp. Detectado con la técnica ácido/acetato etílico.



Huevo de *Cooperia* sp. Detectado con la técnica formalina detergente.



Huevo de *Mesitocirrus* sp. Detectado con la técnica ácido/acetato etílico.

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**“EVALUACIÓN DE LA TÉCNICA ÁCIDO/ACETATO ETÍLICO, EN
COMPARACIÓN CON LA TÉCNICA MODIFICADA DE FORMALINA
DETERGENTE, PARA LA DETECCIÓN DE PARÁSITOS
GASTROINTESTINALES EN BOVINOS.”**

f. _____

Br. Miriam Denisse Rosales Mendoza

f. _____

Dr. Manuel Eduardo Rodríguez Zea

ASESOR PRINCIPAL

f. _____

Dr. Carlos Enrique Camey Rodas

ASESOR

f. _____

Dr. Rember Rafael Arriola Molina

ASESOR

IMPRIMASE:

F. _____

MSc. Carlos Enrique Saavedra Vélez

DECANO