

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



“DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Giardia sp.* EN HECES DE 30 PERROS CON PROBLEMAS ENTÉRICOS, MEDIANTE LOS MÉTODOS DIRECTO Y FLOTACIÓN EN SULFATO DE ZINC, QUE ACUDAN AL HOSPITAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA, DURANTE LOS MESES DE FEBRERO A ABRIL 2011”

ABRAHAM ERNESTO NIEVES CRUZ

MÉDICO VETERINARIO

GUATEMALA, JULIO DE 2013

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



“DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Giardia sp.* EN HECES DE 30 PERROS CON PROBLEMAS ENTÉRICOS, MEDIANTE LOS MÉTODOS DIRECTO Y FLOTACIÓN EN SULFATO DE ZINC, QUE ACUDAN AL HOSPITAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA, DURANTE LOS MESES DE FEBRERO A ABRIL 2011”

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

ABRAHAM ERNESTO NIEVES CRUZ

Al Conferírsele el título profesional de

Médico Veterinario

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, JULIO DE 2013

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

DECANO:	M.V. MSc. Carlos Enrique Saavedra Vélez
SECRETARIA:	M.V. Blanca Josefina Zelaya de Romillo
VOCAL I:	Lic. Zoot. Sergio Amílcar 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 Bustamante

ASESORES

M.V. Carmen Grizelda Arizandieta Altán
M.V. Manuel Eduardo Rodríguez Zea
M.V. Jaime Rolando Méndez Sosa

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

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

DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Giardia sp.* EN HECES DE 30 PERROS CON PROBLEMAS ENTÉRICOS, MEDIANTE LOS MÉTODOS DIRECTO Y FLOTACIÓN EN SULFATO DE ZINC, QUE ACUDAN AL HOSPITAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA, DURANTE LOS MESES DE FEBRERO A ABRIL 2011

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:

MÉDICO VETERINARIO

ACTO QUE DEDICO

A Dios nuestro Padre.

A mi madre, Blanca Lilian Cruz de Nieves quien es el pilar de mi vida.

Con Dedicatoria especial al Arquitecto Romeo Solórzano, Licenciada Eutiquia Solorzano Nowell.

Al apoyo y dedicación de mis asesores.

**A mis amigos que me acompañaron en esta trayectoria de estudio:
Romeo Solorzano, Ana Gabriela Suruy, Roderico Hernández Chea,
Juan Carlos Dubón, Marco Tulio Delgado, Andrea Díaz.**

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. HIPÓTESIS	3
III. OBJETIVOS	4
3.1 General.....	4
3.2 Específicos.....	4
IV. REVISIÓN DE LITERATURA	5
4.1 Generalidades.....	5
4.2 Clasificación del agente etiológico.....	6
4.3 Características generales.....	7
4.4 Epidemiología.....	8
4.5 Ciclo evolutivo.....	9
4.6 Patogenia	10
4.7 Lesiones.....	11
4.8 Formas de presentación	12
4.9 Complicaciones	14
4.10 Diagnóstico	14
4.10.1 Método fecal directo	15
4.10.2 Flotación con sulfato de zinc	16
4.10.3 Pruebas de antígenos fecales	17
4.10.4 Inmunofluorescencia directa	18
4.10.5 Aspirados duodenales	18
4.11 Tratamiento	19
4.12 Aspectos inmunológicos	20
4.13 Control	25
V. MATERIALES Y MÉTODOS	28
5.1 Área de estudio.....	28
5.2 Materiales.....	28
5.3 Metodología.....	30

VI.	MÉTODO ESTADÍSTICO	32
VII.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
VIII.	CONCLUSIONES.....	35
IX.	RECOMENDACIONES.....	36
X.	RESUMEN.....	37
	SUMARY.....	38
XI.	BIBLIOGRAFÍA.....	39
XII.	ANEXOS.....	41

I. INTRODUCCIÓN

La giardiasis es una enfermedad causada por el protozoario *Giardia sp.*, distribuido mundialmente, siendo un problema de salud pública, que afecta tanto a perros como al hombre, teniendo mayor incidencia en la población infantil.

La infección se adquiere por ingesta de agua y vegetales contaminados, así como por contacto oro-fecal que se lleva a cabo por la evacuación de quistes en las heces de los reservorios potenciales; el trofozoito no persiste fuera del huésped, mientras que los quistes sobreviven en el medio ambiente bajo condiciones húmedas y frescas.

La presencia de giardiasis altera las funciones intestinales, causando principalmente diarreas agudas o crónicas, que no permiten la absorción y aprovechamiento de nutrientes y, en casos severos produce la muerte.

Los métodos de diagnóstico que se utilizan son serológicos (detectan anticuerpos) y en heces (detectan trofozoitos y quistes); sin embargo, debido a que el protozoario se excreta intermitentemente, puede dar falsos negativos, por lo que se debe muestrear periódicamente.

La prueba directa en heces, es una herramienta práctica debido a su bajo costo y rápida preparación, pudiendo observar los trofozoitos con su característica de movilidad errática y los quistes de *Giardia sp.*; mientras que en la prueba de sulfato de zinc se observan los quistes del parásito.

Por lo tanto, con el presente estudio se pretende generar información para el diagnóstico de giardiasis en heces de perros,

teniendo en cuenta el ciclo biológico intermitente y zoonótico del parásito, utilizando los métodos directo y de sulfato de zinc, para así determinar una prueba efectiva, rápida y económica, que pueda realizarse periódicamente, como herramienta para el diagnóstico, tratamiento, control y prevención de la enfermedad en la práctica clínica veterinaria.

II. HIPÓTESIS

No existe diferencia entre el método directo y el método de flotación en Sulfato de Zinc, para el diagnóstico de *Giardia sp.* en heces de perros.

III. OBJETIVOS

3.1 **General**

Generar información sobre la eficacia de métodos de diagnóstico clínico de *Giardia sp.* en perros con problemas entéricos, atendidos en el Hospital de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

3.2 **Específicos**

Determinar la presencia de *Giardia sp.* utilizando los métodos directo y flotación con Sulfato de Zinc, en heces de perros con problemas entéricos.

Comparar la eficacia de ambos métodos para el diagnóstico de *Giardia sp.*

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 GENERALIDADES

Fue identificado por primera vez en el año 1681 por Anton van Leewenhock, en sus propias heces. Descrita por Lamb en 1859 y por Dobl en 1932. Lamb las denominó "*Cercomas intestinalis*". En 1882, Kunstler estableció el género "*Giardia*", en 1888 Blanchard propuso el nombre de *lamblia* para el género, en homenaje al médico Vilem Lamb recibiendo el nombre de "*Lamblia intestinalis*" y en 1915, 97Stiles creó la designación de *Giardia lamblia*, como se conoce actualmente. (12)

La taxonomía de las especies del género *Giardia* aun es objeto de controversia. Las tres formas morfológicas aceptadas en la actualidad: *Giardia intestinalis* del hombre, animales domésticos y otros mamíferos. *G. muris* para aves reptiles y roedores y *G. agilis* de los anfibios. Aunque en el pasado se nombraron muchas especies de acuerdo a su huésped en donde se encontraron, por ejemplo: *G. canis*, *G. bovis*, *G. caviae*, no existen criterios ciertos para diferenciarlos. La infección en el hombre es por *G. intestinalis* o bien llamada *G. lamblia* y a veces *Lamblia intestinalis*. Si bien *Lamblia* fue el nombre original del género asignado por Lamb cuando la describió en 1859, Stiles la cambio por *Giardia* en 1915; es posible que *G. intestinalis* sea un complejo de varias especies y sub especies.

Mientras que algunos genotipos son específicos de un hospedador, otros son compartidos por distintas especies de hospedadores.

4.2 CLASIFICACIÓN DEL AGENTE ETIOLÓGICO

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	
REINO	Protista
FILO	Sarcomastigophora (flagelados-amebas)
SUB FILO	Mastigophora
CLASE	Zoomastigophora.
ORDEN	Diplomanadida
FAMILIA	Hexamitidae
GÉNERO	Giardia
ESPECIE	<i>G.lamblia</i>

NOMBRE BINOMIAL	<i>Giardia lamblia.</i>
DESCUBRIMIENTO	lambl (1859)
SINONIMIA	<i>Giardia intestinalis</i> , <i>G. duodenalis</i> , <i>G. intestinalis.</i>

Los flagelados son aquellos protozoos que poseen como mínimo un flagelo (largo apéndice en forma de látigo) en su trofozoíto o forma móvil. Este flagelo permite el movimiento del protozoo en un medio líquido, como resultado de esta actividad los parásitos flagelados viven en medios líquidos.

Dichos parásitos carecen de ciertos organelos como son las mitocondrias y el aparato de Golgi.

Dentro de los parásitos flagelados uno de los más patógenos es la Giardia sp. (3)

4.3 CARACTERÍSTICAS GENERALES

MORFOLOGÍA

Este parásito puede adoptar dos formas morfológicas distintas dentro de su ciclo evolutivo:

El trofozoito: es el estadio móvil en fase nutricional teniendo una forma de pera, es aplanado en sentido dorso-ventral mide de 12 a 17 μm , de localización extracelular, habita el lumen intestinal del hospedador, y se fija a la superficie de los enterocitos mediante el disco adhesivo ventral, en la parte anterior, lo que sugiere al observador un *par de ojos de mirada fija*. Posee cuatro pares de flagelos, 2 anteriores, 2 posteriores, 2 ventrales y 2 caudales cuya función es la motilidad celular; dos núcleos, axostilo y un par de cuerpos parabasales. Es un organismo anaerobio, aerotolerante.(5)

El quiste maduro: puede medir de 9 a 12 μm es la forma de resistencia, posee una pared retráctil y cuatro núcleos, siendo ésta la forma de diseminación en el ambiente y el principal elemento de transmisión entre hospedadores; es ovalado y en su interior tiene dos trofozoitos formados pero aún no separados completamente, flagelos, dos axostilos y cuerpos parabasales. Pueden resistir el frío, la humedad, y en el agua de semanas a meses, pero la desecación y el calor los mata. Los quistes inmaduros que

representan formas móviles recientemente enquistados solo tienen dos núcleos.(5)

Los trofozoitos mueren rápido en el medio ambiente y no se consideran de importancia epidemiológica. (1)

4.4 EPIDEMIOLOGÍA

Distribución geográfica: mundial

Giardia sp. es cosmopolita, en los últimos años, la incidencia de esta parasitosis ha aumentado en varios países del mundo. En los países industrializados constituye la enteroparasitosis más frecuente en humanos y pequeñas especies. También se observó elevada prevalencia en especies mayores. Su importancia epidemiológica radica en que es una cadena de contagio en diferentes especies hasta llegar al eslabón humano. La infección se presenta más frecuentemente en los cachorros, los adultos inmunodeprimidos y en los animales mantenidos en hacinamiento. (6)

Las infecciones parasitarias son frecuentes en las zonas rurales, pero son poco frecuentes en los países desarrollados. Sin embargo, quienes viven en países desarrollados y visitan otros en vías de desarrollo pueden resultar infectados por parásitos y regresar a su país sin saber que portan la enfermedad, lo que puede resultar difícil de diagnosticar debido a que es muy poco frecuente. (6)

PRESENTACIÓN EN EL HOMBRE.

La Giardiasis como bien se mencionó anteriormente es endémica en todos los países del mundo. Su prevalencia en países no industrializados es

del 10% al 15% pero puede llegar a un 30% y aún más en la población infantil. La infección y la enfermedad se dan más en niños que en adultos. La giardiasis puede darse en forma *epidémica*. (6)

PRESENTACIÓN EN PERROS

La infección se ha comprobado en muchas especies de mamíferos domésticos y silvestres. En encuestas de todo el mundo se han encontrado prevalencias de 20% y 35% en perros jóvenes; como en humanos, la infección en perros adultos es menos frecuente. En un estudio coproparasitario se obtuvo como resultado de 494 perros, se encontró la infección de 3.4% de machos adultos, 7% hembras adultas y 53% en cachorritos. (6)

Algunos animales han funcionado como reservorio de la infección humana. La *Giardia* en animales domésticos y silvestres es morfológicamente idéntica y en varios experimentos se ha demostrado que la posibilidad de infección es cruzada. Se han podido infectar con *Giardia* de origen humano a varias especies de animales, entre ellos perros; mapaches, cobayos carneros, antílopes. También se han podido infectar con quistes de castores a 2 o 3 voluntarios humanos y a perros; no obstante, no se pudo infectar hamsters, cobayos, ratas y ratones. (6)

El período prepatente: es de 5-6 días

El período patente: es de varias semanas durante las cuales hay eliminación intermitente de quistes.

4.5 CICLO EVOLUTIVO

El huésped se infecta con la ingestión de quistes, los cuales se enquistan en el duodeno, la *Giardia* contiene en su membrana unas moléculas denominadas lectinas, las cuales son activadas por la secreción duodenal y pancreática (proteasa, principalmente la tripsina). La activación de las lectinas confiere a la *Giardia* la capacidad de adherirse a las microvellosidades del duodeno, para luego multiplicarse (Frisancho, 1993). Allí, el quiste se abre, liberando a los dos trofozoítos desde su interior, los que se separan y maduran con rapidez, fijándose al ribete en cepillo del epitelio veloso (en el área glandular intestinal). En los perros, el parásito ha sido aislado desde el duodeno hasta el íleon; el duodeno y yeyuno son residencias óptimas. Si la dieta es abundante en carbohidratos más que en proteínas, favorece un hábitat intestinal anterior.

Los trofozoítos se multiplican en el intestino, por fisión binaria longitudinal, y luego se enquistan mediante un mecanismo y localización que son desconocidos. Los quistes son expulsados con las heces 1 ó 2 semanas después de la infección. Las heces pueden contener trofozoítos, pero pocas veces sobreviven mucho tiempo fuera del huésped. (8)

4.6 PATOGENIA

La *Giardia* sp. con una acción irritativa sobre las células intestinales, ocasionando acortamiento de microvellosidades intestinales y destrucción del borde en cepillo de las células. Como consecuencia de la ingestión del parásito se presenta un cuadro en general de mala absorción, siendo los ácidos grasos los más comprometidos, así como azúcares, vitaminas y proteínas. Ello también se debe a una menor actividad de las disacaridasas.

La Giardia consume con avidez los ácidos y sales biliares y rompe además su conjugación; las reservas disminuidas propician la mala absorción intestinal al impedir la formación de micelas; esto reduce de manera secundaria

la eficiencia de la lipasa pancreática. *Giardia* promueve el crecimiento de muchas bacterias, reduce en forma directa la actividad de la lipasa pancreática e inhibe la tripsina. Además incrementa la prostaglandina E2 producida por monocitos, ésta acelera la motilidad intestinal y disminuye el tiempo de absorción de los alimentos. El parásito reduce la emisión de disacaridasas producidas por las microvellosidades y causa alteraciones del transporte de sodio. (10)

Por acción secuestrante sobre los principales elementos nutricionales, tomando para su propio metabolismo proteínas, carbohidratos, grasas del hospedador e interfiriendo en el metabolismo de éste.

Por efectos en el mecanismo de transporte activo, aumento el recambio de enterocitos, infiltración por células plasmáticas y linfocitos, atrofia de las vellosidades y producción de enterotoxina; es importante un sistema inmunitario celular y humoral intacto para poder superar la infección y desarrollar inmunidad protectora. La ausencia de una respuesta IGA a una de las proteínas de choque de calor de *Giardia* se acompaña de una infección persistente a pesar de una respuesta de igG a esta proteína y de igA a otros polipéptidos de *Giardia*.

4.7 LESIONES

Giardia sp produce un daño variable que va desde alteraciones mínimas de la mucosa intestinal (infección asintomática) hasta atrofia parcial de las vellosidades intestinales con deterioro de la absorción y consecuencias en el estado nutricional. La gravedad del cuadro dependerá de la cepa de *Giardia* sp, de la edad, el estado inmunológico y nutricional del hospedador.

En los animales jóvenes se produce una inflamación catarral, generalmente del intestino delgado, con acortamiento de las vellosidades intestinales. (4)

El daño es producido mecánicamente por el disco adhesivo y por la respuesta inmune del hospedador. Se produce el acortamiento y la desorganización de las microvellosidades y la vacuolización del citoplasma de los enterocitos.

Estas células dañadas son eliminadas al lumen intestinal y reemplazadas por nuevas, con lo que se acelera el recambio celular, esto hace menor capacidad de absorción y enzimática, ya que las células formadas en las criptas de Lieberkühn no alcanzan a diferenciarse completamente, observándose además una disminución de las disacaridasas y lipasas. Ello conduciría a un síndrome de mala absorción, con alteraciones en la absorción de lactosa, sacarosa, grasas, vitamina B12, folato y hierro, pudiendo producir anemias.(4)

La infección puede manifestarse clínicamente, el principal signo observado, es la diarrea que puede ser aguda (a veces auto limitante), intermitente o crónica. Las heces son líquidas o semiformadas, pálidas, esteatorréicas y con mal olor. En ocasiones se observan vómitos asociados con la diarrea, los que en algunos casos se tornan crónicos. Generalmente no se presenta fiebre y el apetito se mantiene normal. En casos de diarrea crónica puede verse pérdida ponderal y mal estado general.(4)

4.8 FORMAS DE PRESENTACIÓN

a) Presentación aguda

La fase aguda dura de 3 a 4 días, cursa con dolor abdominal como principal manifestación clínica, seguido de hiporexia e irritabilidad, náuseas, vómitos, diarrea acuosa, fétida y crónica, meteorismo, flatulencia y distensión abdominal, náuseas.

b) Presentación crónica

También se presenta una fase crónica donde se agregan, adelgazamiento y síndrome de mala absorción, las mismas que remiten y reaparecen (Quevedo,1990).

En los pacientes inmunocomprometidos *Giardia sp* es capaz de provocar diarrea crónica, en algunos casos severos, acompañados de dolor abdominal difuso, meteorismo y náuseas. (5)

El desarrollo de la enfermedad depende de:

1. Número de quistes ingeridos.
2. Barrera mecánica.
3. Competencia por los alimentos cuando hay presencia de muchos parásitos.
4. Toxinas. Aunque no se han identificado, si se ha demostrado efecto tóxico de los trofozoitos para los fibroblastos, en los filtrados de cultivos.
5. Lesión mecánica directa. Está considerado como el mecanismo más probable, por las lesiones circulares del disco adhesivo. Ocurre una migración de células inmaduras a la superficie de las vellosidades para reemplazar las lesionadas. (5)
6. Endosimbiosis en *G. muris* con bacterias gramnegativas y en *G. lamblia* con virus ARN (rodeado de cápsula icosaédrica) Modificación de la virulencia y de la resistencia.
7. Prostaglandina E2 que produce diarrea a través de la estimulación de la producción de adenilato ciclasa, alterando así la motilidad intestinal.
8. Mecanismos de mediación inmune. Leucocitos intraepiteliales (LIE) los cuales modulan las funciones del epitelio, pudieran ser responsables de deficiencias en la actividad de disacaridasas y la mala absorción.

9. Modificación de los antígenos de superficie, sería responsable de las manifestaciones clínicas y de los casos crónicos. (5)

4.9 COMPLICACIONES

Las complicaciones que suelen observarse son:

Síndrome de mala absorción con heces abundantes, malolientes, grasosas y trastornos de la absorción de grasas (esteatorrea), proteínas (creatorrea), azúcares, deficiencia de vitamina B12 secundaria a gastritis crónica atrófica, que produce disminución de la secreción de factor intrínseco y por ende mala absorción de la vitamina con polineuropatía resultante.

Cuadros clínicos no habituales: infección de vesícula biliar, urticaria, asma bronquial, rinitis. Estos últimos como resultado de una respuesta inmune a la infección mediada por IgE. El síndrome de Wells, una dermatosis inflamatoria, se ha asociado con giardiasis recurrente, mejorando con el tratamiento antiparasitario.

4.10 DIAGNÓSTICO

El diagnóstico confirmatorio se obtiene mediante la detección de trofozoitos o quistes en materia fecal y puede hacerse un examen microscópico directo de las heces, el que es ideal para recuperar trofozoitos, especialmente en animales con heces diarreicas. Si bien un resultado positivo en un examen directo confirma la infección, un resultado negativo no la descarta y se deberán adicionar técnicas de concentración o enriquecimiento, en particular para detectar quistes. Debido a que la eliminación de quistes con la materia fecal es intermitente, es recomendable la observación de tres muestras frescas de materia fecal durante 3 a 5 días. Éstas se deben conservar refrigeradas a 4 °C, sin conservantes.

4.10.1 MÉTODO FECAL DIRECTO

El método más rápido para la detección de parasitosis es el frote fecal salino directo. Se debe tomar una pequeña cantidad de heces, aproximadamente la que se puede tomar con el extremo de un aplicador de madera, apenas se humedece en una gota de solución salina en un portaobjetos. En el caso de heces de perro, hay altas probabilidades de encontrar grandes trozos de granos del alimento seco ingeridos por la mascota, estos trozos pueden retirarse con el extremo del aplicador. Las heces de perros con frecuencia absorben la humedad de la gota que se colocó en el portaobjetos, por lo tanto puede ser necesario agregar un poco más de solución salina. Colocar la gota al aplicador y dejar que se deslice sobre el portaobjetos con las heces es una de las mejores formas de hacerlo. Por lo general, no hay motivo para hacer estas preparaciones con agua. El objetivo del método directo es visualizar trofozoitos vivos y estas etapas habitualmente se lisan si la preparación se hace con agua en lugar de solución salina. Por supuesto que, si el agua es el único medio disponible, puede permitirle al clínico dar un vistazo rápido y detectar altas concentraciones de quistes que pueden detectarse en muestras con agua. Una vez que se ha desparramado el material en el portaobjetos hasta formar una preparación homogénea y que se han retirado los trozos grandes, se puede colocar un cubreobjetos sobre la preparación. Primero, se debe escanear el portaobjetos con un objetivo de 10X o 20X (con práctica, todos los parásitos de los perros y gatos se pueden visualizar con un objetivo de 10X). Luego, se pueden examinar los objetos de interés más de cerca con el objetivo (40X). El uso de una lente de inmersión en aceite sobre preparaciones húmedas por lo general no resulta satisfactorio porque la preparación es demasiado espesa o porque el material que se encuentra debajo del portaobjetos se mueve por la presión de la lente sobre la superficie del cubreobjetos. La observación con inmersión en aceite es una posibilidad, pero sólo si se sella primero el portaobjetos con esmalte para uñas o parafina derretida. En parasitología humana, las preparaciones con frecuencia se tiñen con yodo, lo cual hace que los núcleos de los trofozoitos

sean más fáciles de visualizar ya que los gránulos de glucógeno se tiñen en algunos de los quistes y trofozoitos. En Medicina Veterinaria, la mayoría de las especies de amebas y otros parásitos protozoos importantes en medicina para seres humanos, por lo general no se observan, por lo tanto el uso de yodo no es necesario y tampoco resulta útil.(2)

4.10.2 FLOTACIÓN CON SULFATO DE ZINC

Uno de los mejores medios para observar los quistes de Giardia y diversos huevos de parásitos es con la flotación con sulfato de zinc. Esta técnica tiene la ventaja de ser rápida y relativamente fácil de realizar. Como actualmente se consigue solución de sulfato de zinc ya preparada, la tarea se hace menos onerosa porque no hay que trabajar en la preparación de este reactivo. Una alternativa poco costosa es usar sulfato de magnesio (sales de Epsom) en lugar de sulfato de zinc. Las únicas desventajas con las sales de Epsom son que la solución es un poco más viscosa y que tiende a cristalizarse un poco más rápido durante la observación.(2)

Cuando se la hace en forma correcta, la centrifugación de sulfato de zinc puede hacerse rápido. Mediante el uso de una centrífuga en la que se puedan colocar seis tubos a la vez, es fácil que una persona procese y examine alrededor de 60 muestras por hora con este método. El secreto del análisis rápido es no usar un cubreobjetos durante la fase de observación del examen. Una vez que uno se ha tomado el trabajo de concentrar los quistes y huevos en un pequeño círculo de 5 mm. La realización de la prueba sin cubreobjetos hace que sea necesario examinar las muestras rápidamente, antes de que se sequen y se formen cristales en solución de sulfato de zinc, evitando que la observación de las muestras resulte imposible. Por lo tanto, sólo se puede preparar la cantidad de muestras que una persona puede leer en una sola sentada. Con seis muestras, se pueden colocar tres porciones tomadas con el

loop en cada portaobjetos, de este modo sólo se necesitan dos portaobjetos cada seis muestras. Si se necesita más tiempo, se puede colocar en el portaobjetos un loop lleno de agua o una gota de solución salina antes de agregar el loop del tubo. Si en último caso se necesita un cubreobjetos, se puede agregar una gota de agua al material que se encuentra sobre el portaobjetos y luego aplicar un cubreobjetos. El loop funcionará mejor si se pasa por la llama antes de cada uso. La llama asegura que no se arrastre nada entre una muestra y la otra. Mientras se coloca el loop en la llama, puede observarse una acumulación de sulfato de zinc y materia fecal en él que formará una costra. Se puede limpiar el loop sumergiéndolo dos o tres veces en agua, raspándolo con un aplicador o colocándolo más tiempo sobre la llama. Es importante que el loop sea de alambre resistente a las llamas y también que sea lo suficientemente delgado para que funcione bien. Un loop típico de microbiología para placas de agar tiene un alambre muy grueso y el orificio del loop es demasiado pequeño. Los quistes de *Giardia sp* flotarán sobre la superficie del sulfato de zinc. Con frecuencia, cuando están presentes en los bordes del material que se encuentra sobre el portaobjetos, aparecerán de un color rosado debido a la aberración esférica causada por la curvatura de la gota sobre el portaobjetos. La presencia de huevos también será obvia sobre el portaobjetos. A medida que se seca el portaobjetos, los quistes colapsan.

4.10.3 PRUEBAS DE ANTÍGENOS FECALES

En la actualidad, existen pruebas para detectar los antígenos de *Giardia sp* cuando están presentes en muestras de materia fecal. Estas pruebas tienen la ventaja de eliminar la necesidad de confiar en la microscopía. Sin embargo, una desventaja importante es que en la actualidad su uso resulta relativamente costoso. Por lo tanto, cuando se ejecuta un control positivo y negativo, una sola prueba puede ser muy costosa. Aunque, existen muchas razones para pensar que este tipo de pruebas será cada vez más común para el diagnóstico de los patógenos relativamente difíciles de encontrar. Las pruebas actuales se

realizan del modo típico para una placa de ensayo inmuno-absorbente vinculado a enzimas (ELISA) o para inmuno-ensayos de fase sólida. Es mucho más probable que los veterinarios realicen los ensayos de fase sólida porque están diseñados para usarlos con pacientes individuales. Los laboratorios de diagnóstico es más probable que utilicen las placas de ELISA porque ellos realizan un batch de muestras de proceso y tienen muchas muestras para analizar al mismo tiempo. (2)

4.10.4 INMUNOFLUORESCENCIA DIRECTA.

Emplea anticuerpos monoclonales con marcación fluorescente para la detección de quistes fecales de *Giardia sp.* Es más sensible que la sacarosa y sulfato de zinc para detectar heces infectadas, sobre todo cuando la concentración de quistes es reducida. El método requiere instrumental especial y las muestras pueden remitirse en formol al 10%. (7)

4.10.5 ASPIRADOS DUODENALES

Los aspirados duodenales recolectados mediante gastroduodenoscopia para trofozoítos son más eficaces que el sulfato de zinc en una sola muestra fecal de perros con giardiasis clínica. Pero, en casos asintomáticos tiene la misma eficacia que la flotación de una sola muestra fecal. Esto se explica por el hecho que el organismo coloniza distintas zonas (no siempre el duodeno) del intestino delgado en los perros asintomáticos. Los resultados sugieren que este procedimiento es impráctico para el descarte específico de la giardiasis excepto que se lo realice por otro motivo en un perro con sintomatología compatible.

Se irrigan 10 ml de solución salina normal mediante un tubo de polietileno, introducido a través del canal del endoscopio; la aspiración procede

en forma inmediata. La muestra es centrifugada (150 G durante 10 minutos) y con el sedimento se hace un extendido (montaje húmedo o secado y teñido con Giemsa). (11) Cuando no se detecta el parásito en las muestras de heces seriadas, se puede buscar en el líquido de la unión duodeno-yeyunal mediante aspirado por endoscopia digestiva (cápsula de Beal o Enterotest) o por estudio histológico de la muestra del tejido duodenal.

Los hallazgos endoscópicos que sugieren una duodenitis producida por *Giardia* son la presencia de un punteado fino nodular blanquecino sobre una mucosa congestiva. (11)

4.11 TRATAMIENTO

La quinacrina, usada en el pasado, (6,6 mg/kg/12 horas durante 5 días) demostró un 95 % de eficacia, y se acompañaba con letargia y fiebre hacia el fin de la terapia, en cerca del 50% de los pacientes. Estos efectos desaparecían a los 2 o 3 días de finalizar la medicación.(11)

El metronidazol oral es una droga clásica y antigua para la giardiasis canina y felina. Se usa a una dosis de 25 mg/kg cada 12 horas durante 5 días para perros y 12-25 mg/kg cada 12 horas durante 5 días, para gatos. Tiene un 67% de eficacia en perros infectados y se lo asocia con la aparición de anorexia y vómitos agudos, con progresión a ataxia generalizada pronunciada.

En época reciente, algunos derivados benzimidazólicos (en especial albendazol) demostraron elevada eficacia contra la *Giardia* in vitro y en personas. El albendazol es usado para otros parásitos en una dosificación de una toma al día, pero, en el caso de Giardiasis, éste se debe administrar cada 12 horas: 25 mg/kg oral, durante 2 días. En un estudio de eficacia realizado en

perros, se comprobó que el albendazol eliminó la excreción de los quistes fecales en 18 de los 20 perros tratados (90% de eficacia). Como se lo sospecha teratogénico, se contraindica en animales gestantes. (11)

El fenbendazol usado actualmente para el tratamiento de la Giardiasis, en un estudio de eficacia realizado en perros, eliminó los quistes fecales en el 100% de los perros tratados, a una dosis de 50 mg/kg al día por 3 días consecutivos, en forma oral. No hubo efectos colaterales y, la droga no tiene antecedentes de ser teratogénica. Los resultados sugieren que el fenbendazol administrado como única droga, puede emplearse para tratar giardiasis, o descartar una infección oculta causante de diarreas crónicas en perros. (6)

4.12 ASPECTOS INMUNOLÓGICOS

- La respuesta inmune humoral es importante para la eliminación de la infección, tanto en animales como en el humano. Probablemente la IgA secretoria sea la más importante.
- Las madres con giardiasis tienen en su leche IgA secretoria anti-giardia y sus niños tienen más baja incidencia de giardiasis.
- No se conoce si en humanos la respuesta inmune está mediada por células T, sin embargo, ésta sí sucede en animales.
- El papel del macrófago puede ser el de presentador de antígeno y/o fagocitar y destruir los trofozoitos.
- Las formas importantes de protección inespecífica incluyen: la capa de moco intestinal, la motilidad intestinal y la lactancia materna. La leche de pacientes no inmunes es capaz de destruir trofozoitos de *Giardia sp.* por digestión de los triglicéridos de la leche liberando así los ácidos grasos.
- Es posible que la variación antigénica y la proteasa IgA sean usados por el organismo para evadir la respuesta inmune.

LA RESPUESTA INMUNE CONTRA *GIARDIA SP.*

Se cree que la inmunidad humoral es importante en la eliminación de los trofozoitos de *Giardia* del intestino del huésped.

En los animales infectados experimentalmente así como en los humanos infectados durante la fase de eliminación de *Giardia*, se encuentran niveles elevados de anticuerpos séricos y en las mucosas, y el huésped produce anticuerpos específicos que se encuentran en estos dos sitios, contra los antígenos de *Giardia*, tanto de la superficie como del citosol. En humanos con la infección natural y en ratones infectados experimentalmente, se observan anticuerpos IgM específicos contra *Giardia* en el suero y en la mucosa intestinal aproximadamente diez días después de la infección, además, los niveles de IgG e IgA se elevan aproximadamente una semana después, indicando que es posible que los antígenos de *Giardia* se reconozcan desde el principio de una infección. Los estudios recientes realizados en ovinos, perros y gatos infectados experimentalmente, establecieron que una proporción significativa de los animales no desarrolla elevación en la respuesta de IgG ni IgA contra *Giardia*. (9)

Esto puede estar asociado con la incapacidad del huésped de reconocer los antígenos del parásito o bien una dificultad en el cambio de clases de inmunoglobulinas de IgM a IgG y a IgA. Parece que el sistema inmune celular no desempeña un papel directo en la eliminación del parásito.

Los trofozoitos presentes en el intestino delgado murino durante la fase de eliminación de las infecciones están recubiertos por IgG e IgA. La presencia de anticuerpos monoméricos sugiere que estos anticuerpos logran entrar al intestino durante el curso de la infección, ya sea atravesando el intestino dañado o mediante el transporte de inmunoglobulinas. De hecho, la secreción

intestinal de IgA poliméricas, IgA monoméricas, IgG e IgM, se ha demostrado tanto en el tracto intestinal sano como en el enfermo. Los anticuerpos secretados en la bilis también pueden actuar como una fuente importante de anticuerpos citotóxicos. (9)

La muerte de los trofozoitos y quistes de *Giardia sp.* mediada por anticuerpos, es un fenómeno comprobado. La lisis de los trofozoitos se presentó cuando el parásito se expuso a suero o bilis que contenían anticuerpos policlonales anti-*Giardia*, o bien dos anticuerpos monoclonales específicos. Recientemente se demostró que el tratamiento con anticuerpos monoclonales de los trofozoitos en vías de enquistamiento da como resultado la formación de quistes no viables, lo cual sugiere que la inmunidad humoral puede ser responsable de la liberación de quistes no viables hacia el ambiente, según se ha observado en gatos jóvenes vacunados.

LOS ANTÍGENOS DE *GIARDIA SP.*

Se ha demostrado que existe homogeneidad de las proteínas entre los aislamientos de *Giardia* recuperados de una amplia variedad de huéspedes mamíferos. Dicha homogeneidad se observó a pesar de la heterogeneidad genotípica entre los aislamientos de *Giardia sp.* De hecho, el fenotipo antigénico de los trofozoitos probablemente muestre poca correlación con variaciones en las regiones hipervariables del genoma de *Giardia sp.* Ciertos antígenos bien caracterizados son la giardina, las proteínas ricas en cistina, las proteínas del citoesqueleto, las proteínas del shock calórico, las lectinas proteicas de superficie y las proteínas solubles de alto peso molecular.(9)

Se ha demostrado que existen variaciones en el antígeno de superficie de este parásito, pero hay poca evidencia que sugiera que sea responsable de la cronicidad de las infecciones. Cuando una población se infecta con la misma

cepa o con diferentes cepas de *Giardia* sp. existe cierta heterogeneidad en el reconocimiento del antígeno, la cual ha sido descrito por algunos investigadores como significativa y por otros como de índole menor. Los antígenos de alto peso molecular de la membrana del citoesqueleto y del citosol son buenos candidatos como antígenos vacunales pues se ha demostrado que son más inmunogénicos. Los antígenos del citosol son importantes en una vacuna contra *Giardia* puesto que se encuentran en la superficie del parásito y pueden tener actividad como antitoxinas. (9)

Los huéspedes infectados natural y experimentalmente, los animales inmunizados con preparaciones de células completas, reconocen a los antígenos comunes de una amplia variedad de aislamientos de *Giardia*, lo cual sugiere que sería posible desarrollar una vacuna con una cepa capaz de presentar reacción cruzada con las otras. De hecho, los animales vacunados con una cepa estuvieron protegidos cuando se desafiaron con una cepa distinta. Se ha especulado sobre la existencia de toxinas putativas de *Giardia* pero cada vez hay más evidencia que los trofozoitos de este parásito producen toxinas. La infección causa un acortamiento difuso de las microvellosidades de los enterocitos, ésto a su vez, inhibe la actividad enzimática y el transporte de nutrimentos a través de dichas microvellosidades, lo que sugiere la secreción de toxinas de acción difusa sobre la mucosa intestinal. A lo largo de las superficies dorsal y ventral de los trofozoitos se encuentran vacuolas lisosomales, de las que se desconocen con exactitud las características, pero contienen enzimas hidrolíticas y posiblemente otras moléculas que podrían actuar como toxinas al ser secretadas a la luz intestinal. Se ha demostrado que los trofozoitos sometidos a ultrasonido y los medios de cultivo después de usados causan aumento en la capacidad contráctil del músculo liso en gerbos y que tienen efecto citotóxico sobre las células ováricas del hámster chino. En otros estudios se demostró que los extractos de trofozoitos sonicados hemolisan los eritrocitos y resultaron citotóxicos para los leucocitos periféricos humanos y para las células HeLa cultivadas. Se recuperó un extracto de trofozoitos cultivados que causa deficiencia de disacaridasa en animales

experimentales, de manera similar a lo observado en infecciones realizadas con fines de investigación. Recientemente, se describió un gen que codifica para una proteína similar a la sarafotoxina. Dicho gen está localizado teloméricamente y por lo tanto está sujeto a efectos de posicionamiento y regulación. De hecho, *Giardia sp.* podría producir diversas toxinas que pueden verse influenciadas por las condiciones ambientales dentro del intestino delgado del huésped como la secreción de bilis, antitoxinas y bacterias. La producción de antitoxinas tal vez no elimine necesariamente al parásito, pero sí puede minimizar los signos clínicos o impedir que se presenten. Los animales inmunizados con un extracto de medio ya usado y poseedor de actividad citotóxica, quedaron protegidos contra los signos clínicos pero diseminaron quistes por más tiempo, que los animales que recibieron una vacuna con trofozoítos sonicados. Las toxinas de *Giardia* o sus toxoides pueden ser componentes importantes de las vacunas pues protegen al huésped contra el desarrollo de algunos signos clínicos. (9)

VACUNAS CONTRA *GIARDIA SP.*

Existen pocos reportes de estudios con vacunas contra *Giardia sp.*, a pesar del gran interés que existe en el uso de un enfoque inmunoproláctico para controlar la enfermedad. Cuando se inmunizaron ratones intraperitonealmente y en los cojinetes plantares posteriores con 106 trofozoítos de *G. muris* en adyuvante completo de Freund y desafiados con *G. muris*, cuatro de ocho ratones no diseminaron quistes en las heces, mientras que esto sí ocurrió hasta por ocho semanas en los ratones testigos que habían recibido sólo el adyuvante.(11)

El mismo protocolo de vacunación no protegió a una estirpe de ratones que era susceptible a la infección crónica. Este primer estudio proporcionó evidencia que las infecciones con *Giardia sp.* en humanos y animales se

pueden prevenir con una vacuna. Al inmunizar ratones de tres a cuatro semanas de edad (30 animales) subcutáneamente, y lo repitieron siete días después por la vía oral con una vacuna subunitaria de 56 KDa. Los ratones testigos recibieron sólo solución salina. Todos los animales se desafiaron con 107 trofozoitos de *G. duodenalis* siete días después de la dosis final inmunizante. Se sacrificaron seis animales en los tiempos post-desafío que se indican a continuación: 3-5, 9-11, 17-21 y 30-35 días. Los trofozoitos se eliminaron de los animales vacunados de 9 a 11 días después del desafío, mientras que los testigos tardaron de 30 a 35 días en eliminar la infección. (9)

Inicialmente se observó un influjo de linfocitos T supresores y una declinación en las células plasmáticas de las mucosas, productoras de IgA, después del desafío de los animales no vacunados, y la inducción de los linfocitos T de ayuda, además de un incremento en las células plasmáticas productoras de IgA e IgG que se asociaron con la eliminación natural del parásito. La vacunación causó una elevación en el número de linfocitos T de ayuda, pero no tuvo efecto sobre el número de linfocitos T supresores. La inmunización también incrementó el número de células plasmáticas productoras de IgA e IgG. En este modelo pareció que la vacuna subunitaria de *Giardia* fue efectiva. (9)

4.13 CONTROL

La mayoría de los ensayos sobre eficacia de drogas contra Giardiasis se basan en la eliminación de los quistes fecales y no en la remoción de los organismos intestinales. Es factible que estos compuestos no eliminen los parásitos, sino que inhiban la producción de quistes durante un cierto período. Por ello, se desconoce si los animales tratados siguen siendo una fuente de infección futura.

Además, dichos animales también pueden ser una fuente de infección, debido a los quistes viables que pueda haber en el material fecal adherido a su pelaje o, presentes en el medio, si éste es frío y húmedo. Estos factores son de particular importancia para el control de la infección en un criadero.

El sistema de control recomendado para tales efectos se basa en: descontaminación del ambiente, uso de nuevas terapias para tratar animales, eliminación de los quistes presentes en el pelaje y prevención de la reintroducción del organismo. (7)

PASOS DE UNA BUENA ERRADICACIÓN

1. Establecer una zona limpia para movilizar a los animales durante la higienización y tratarlos con Febendazole, por 5 días consecutivos.
2. Remover toda la materia fecal.
3. Realizar limpieza con compuestos de amonio cuaternario.
4. Dejar secar las áreas, de ser posible, por varios días (el quiste es sensible a la desecación)
5. Bañar los animales para eliminar materia fecal del pelaje, antes de ingresar a zona limpia.
6. Aplicar amonio cuaternario, en zona perianal, dejando actuar de 3 a 5 minutos, luego enjuagar y dejar secar.
7. Volver a tratar con febendazole, por otros 5 días.(7)
8. Animales nuevos: tratar y bañar antes de ingresar al área limpia, aún cuando sus heces sean negativas.
9. Usar pediluvios de amonio cuaternario, o un cubre-calzado para evitar reingreso del parásito.
10. Hacer controles fecales periódicos con los métodos descritos anteriormente. (7)

PLAN PROFILÁCTICO

DESCRIPCIÓN	Vacuna inactivada contra el parásito <i>Giardia lamblia</i> de uso en caninos.
COMPOSICIÓN	Trofozoitos inactivados de <i>Giardia lamblia</i>
ACCIÓN	Vacuna contra <i>Giardia lamblia</i> (antígeno inactivado).
PROFILAXIS	Inyectar una dosis en perros de 8 semanas. Repetir una segunda dosis 2 a 4 semanas después. Se recomienda la revacunación anual.
DOSIS	1 ml por vía subcutánea (SC)

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 ÁREA DE ESTUDIO

El presente trabajo se efectuó en el Hospital de Medicina Veterinaria y Zootecnia, ubicado en el edificio M8, de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

5.2 MATERIALES

5.2.1 RECURSOS HUMANOS

Asesores.

Estudiante investigador.

Médico Veterinario encargado del área del laboratorio.

Asistente técnico del laboratorio.

5.2.2 RECURSOS BIOLÓGICOS

30 muestras fecales de pacientes con problemas entéricos que asistan al Hospital Veterinario.

5.2.3 RECURSOS MATERIALES DE LABORATORIO

Hisopos para toma de muestra fecales.

Microscopios.
Tubos de ensayo
Solución salina isotónica.
Porta objetos.
Cubre objetos.
Solución saturada de Sulfato de zinc.
Beaker de 10ml
Ficha control de muestras tomadas.
Guantes desechables
Balanza digital.
Probeta 1000ml
Mortero.

5.2.4 EQUIPO Y PAPELERÍA

Computadora
Memoria USB
Papel bond
Lapiceros
Cds.
Impresora.

5.2.5 CENTROS DE REFERENCIA

Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la
Universidad de San Carlos de Guatemala.
Bibliotecas particulares
Docentes.
Páginas de internet.

5.3 METODOLOGÍA

Se muestrearon 30 perros con problemas entéricos, que acudieron al hospital de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

5.3.1 SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Las muestras se recolectaron de todos los perros que asistieron al Hospital de Medicina Veterinaria y Zootecnia con sintomatología entérica.

Recolección de la muestra

- Hisopado anal
- Enema.

5.3.2 MÉTODO DIRECTO

- 1) Sobre un porta objeto, colocar 2 o 3 gotas de solución salina.
- 2) Las heces que se recolectan deben ser diarreicas, mucosanguinolentas.
- 3) Si la muestra fue obtenida con hisopo, realizar el extendido en forma circular de la muestra sobre las gotas de solución salina previamente colocada.
- 4) Si se recolectan las heces en bolsa plástica, inmediatamente después que la mascota halla defecado, posteriormente depositar una pequeña cantidad sobre las gotas de la solución salina previamente colocadas y realizar el extendido en forma circular.
- 5) Si la muestra fue obtenida por medio de un enema salino, y si la cantidad es escasa, colocar una gota del enema sobre un porta objetos. Si la muestra es abundante, se recomienda centrifugar para observar el sedimento.
- 6) Colocar un cubre objeto sobre la muestra y observar al microscopio.

- 7) Si se pretende observar las formas quísticas de la Giardia, se recomienda agregar unas gotas de lugol débil, azul de metileno, verde de malaquita, u otro colorante, con el fin de colorear las estructuras y mejorar su visibilidad.

5.3.3 MÉTODO DE FLOTACIÓN DE SULFATO DE ZINC

Se uso la siguiente concentración:

- Sulfato de zinc 331gr. + 1000cc de agua tibia.
- Teniendo como resultado un peso específico de 1.28
- En un tubo de ensayo normal, colocar una porción de heces (tamaño de un guisante) y agregar agua o solución salina fisiológica hasta la tercera parte del tubo, con una varilla mezclar convenientemente
- Centrifugar por un minuto a 2500rpm.
- Eliminar el sobrenadante y repetir el procedimiento hasta que el sobrenadante quede claro.
- El ultimo sobrenadante, se decanta y se agrega solución saturada de sulfato de zinc, hasta la tercera parte del tubo, con una varilla remover el sedimento y agregando el sulfato de zinc hasta el borde superior.
- Centrifugar por 2 minutos a 2500 rpm.
- Tomar varias gotas de material que flota en la superficie del tubo y depositar sobre un porta objetos, cubriéndolas con un cubre objeto para observarlas en el microscopio.

VI. MÉTODO ESTADÍSTICO

Con cada prueba diagnóstica se estimó la proporción de perros positivos a giardiasis.

El método descriptivo que se utilizó fue el denominado "índice de concordancia de kappa", para comparar y analizar las dos pruebas de diagnóstico. Dicho método consiste en medir el grado de acuerdo entre varios métodos de evaluación que clasifican al paciente, según una serie de posibilidades o categorías mutuamente excluyentes.

El índice de concordancia kappa se calcula de la siguiente forma en la fórmula:

$$K = \frac{P_o - P_e}{1 - P_e}$$

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio se determinó la presencia de *Giardia sp* en heces de 30 perros con problemas entéricos, mediante los métodos Directo y Flotación en Sulfato de Zinc, que acudieron al Hospital de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad San Carlos de Guatemala.

Se analizaron 30 muestras fecales con ambos métodos, bajo las mismas circunstancias, teniendo los siguientes resultados:

Método directo; se obtuvieron 15 muestras diagnosticadas como positivas y 15 muestras diagnosticadas como negativas, dando un resultado de 50% de muestras positivas al quiste de *Giardia sp*.

De las muestras analizadas con el Método de Flotación con Sulfato de Zinc se obtuvo un resultado de 20 muestras positivas al quiste de *Giardia sp*.(67%) y 10 resultaron negativas(33%).

Como resultado final se obtuvo un índice de 0.66, el cual es catalogado como BUENO dentro de los parámetros del índice de kappa (tabla 1) que ayuda a definir la concordancia que tiene el Método Directo con el método de Flotación en Sulfato de Zinc.

Al realizar la prueba de hipótesis por diferencia de proporciones se rechazó la hipótesis nula por el 95% de confianza, por lo que se deduce que no hay diferencia significativa entre ambos métodos.

Cuando las muestras fecales resultaron negativas, se realizó un muestreo seriado, el cual consistió en analizarlas en dos días consecutivos

para descartar un resultado falso negativo, ya que se comprobó que la evacuación del parásito en heces de perros es intermitente.

Es importante mencionar que la incidencia de casos positivos de quistes de *Giardia sp* fueron en incremento conforme las condiciones climáticas y ambientales, siendo ideales para el desarrollo y sobrevivencia del quiste en época de invierno.

Una de las ventajas que observadas en el Método Directo fue que los materiales con que se realiza son de fácil adquisición; además, es más práctico, lo que facilita al Médico Veterinario el análisis tanto en clínica veterinaria como a nivel de campo; asimismo, es mucho más rápido realizar el método directo que el de Flotación con Sulfato de Zinc.

El Método de Flotación con Sulfato de Zinc, en este estudio presentó mayor facilidad para diagnosticar la presencia del parásito, ya que la solución es más densa y ubica a los quistes en la superficie. Éste presentó mejores características de conservación para el almacenaje de muestra de quistes de *Giardia sp*.

En ambos métodos se obtuvo mejores resultados tomando la muestra por enema, ya que el quiste o la fase móvil no percibe el cambio de ambiente al extraer las muestras del ano al ambiente exterior.

VIII. CONCLUSIONES

1. Se determinó la presencia de *Giardia sp* en heces de pacientes caninos, con problemas entéricos, del Hospital de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
2. Con el Método de Flotación en Sulfato de Zinc se obtuvo un 67% de positividad y con el Método Directo 50%; sin embargo, dicha diferencia no fue estadísticamente significativa.
3. Se estableció que existe concordancia entre el Método de Flotación en Sulfato de zinc y el método directo, para identificar la fase quística de *Giardia sp*.

IX. RECOMENDACIONES

1. Utilizar los métodos Directo y Flotación en Sulfato de Zinc para el diagnóstico de pacientes sospechosos a giardiasis.
2. Realizar un muestreo seriado, para aumentar la especificidad del diagnóstico de Giardia sp. en fase quística.
3. Para el método Directo tomar la muestra fecal por medio de un enema.
4. Utilizar el método de Sulfato de Zinc cuando se necesite almacenar muestras fecales.

RESUMEN

En el presente estudio se realizó una comparación del Método Directo y Flotación con Sulfato de Zinc para diagnóstico de *Giardia sp.* en muestras fecales de caninos, siendo el método directo catalogado como el más simple y de rutina para el diagnóstico de presencia de *Giardia sp.* en caninos. Se evaluaron las mismas muestras tanto con el Método de Flotación con Sulfato de Zinc, como con el método directo, relacionando los resultados entre sí para ver la concordancia, o la discrepancia del diagnóstico.

Las muestras analizadas con ambos métodos fueron 30, provenientes de pacientes con problemas entéricos que acudieron al Hospital de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad San Carlos de Guatemala. La recolección de las muestras de heces se tomó mediante hisopados anales y también por enemas rectales.

Los resultados de las 30 muestras analizadas fueron 50% positivas a giardiasis en fase de quiste, analizadas con el método directo y 67% muestras positivas con el método de flotación con sulfato de zinc.

Para el análisis estadístico se utilizó el método de Índice de Kappa. El resultado de concordancia entre ambos métodos fue de 0.66, siendo éste un parámetro que indica que hay buena concordancia entre ambos métodos.

Se demostró también que la diferencia entre ambos métodos no es estadísticamente significativa, pero que hay ciertas diferencias o ventajas que el Médico Veterinario analizará para la elección de alguno de estos métodos, ya que ambos demostraron ser buenos.

SUMMARY

In the present study a comparison was made of the direct method and Zinc Sulfate Flotation for diagnosis for *Giardia* sp. in canine fecal samples, being listed as the direct method and the simplest routine to diagnose the presence of *Giardia* sp. in dogs. The same samples were tested with both the flotation method with zinc sulfate, as with the direct method, relating the results together to see the consistency, or inconsistency of diagnosis.

The samples analyzed with both methods were 30, from patients with enteric problems attending the Hospital of the Faculty of Veterinary Medicine, University of San Carlos of Guatemala. The collection of stool samples was taken by anal swabs and by rectal enemas.

The results of the 30 samples tested positive in 50% under cyst giardiasis, analyzed with the direct method and 67% positive samples with the method of zinc sulfate flotation.

For statistical analysis we used the Kappa index method. The result of agreement between both methods was 0.66, and this is a parameter that indicates that there is good agreement between both methods.

It was also shown that the difference between the two methods is not statistically significant, but there are certain differences or advantages that a veterinarian examine the choice of any of these methods, as both proved to be good.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Borchet, A. 1976. Parasitología veterinaria. 2 ed. España, editorial Acribia.745 p.
2. Bowman, DD. 2003. Parasitología Diagnósticos en perros y gatos. Nestlé Purina PetCare Company Checkerboard Square. Argentina, 23p.
3. Castellanos, D. 2004. Giardiasis. (en línea). consultado 11 dic. 2010. Disponible en http://www.vet-uy.com/articulos/artic_can/0054/can0054.htm
4. Dwin, J. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. (en línea). Consultado 15 ene. 2011. Disponible en http://www.google.com.gt/imgres?imgurl=http://www.scielo.org.ve/img/fbpe/ic/v43n2/art7img2.jpg&imgrefurl=http://www.scielo.org.ve/scielo.php%3Fpid%3DS0535-51332002000200007%26script%3Dsci_arttext&usg=__yhUA-
5. Gomez, D. 2012 Giardiasis y desnutrición (en línea). Consultado 31 ago. 2012. Disponible en http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S102406752-005000300007&script=sci_arttext
6. Guzmán, M. 2008. Artículo giardiasis (en línea). Consultado 20 ene. 2011. Disponible en <http://www.huroncetes.com/forums/t/5066.aspx>
7. [Hendrix, Ch.](#) 1999. Diagnóstico parasitológico veterinario. 2 ed. España, editorial MOSBY-DOYMA. 326 p.
8. Katerlaris, PH; Farthing, MJG. 2008. Diarrohea and malabsorption in giardiasis: a multifactorial process (en línea). Consultado 5 nov. 2011. Disponible en <http://books.google.com.gt/books?id=lqKxu5oE2EC&pg=PA455&dq=Katerlaris+P,+Farthing+MJG.+Diarrhea+and+malabsorption+in+giardiasis:+a>

[+multifactorial+process&hl=es&ei=wW0Td1EoT78AaU5rXpBA&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CCIQ6AEwAA#v=onepage&q=K](#)
[atellaris%20P%2C%20Farthing%20MJG.%20Diarrhea%20and%20malabsorption%20in%20giardiasis%3A%20a%20multifactorial%20process&f=false](#)

9. Revisión literaria Giardia. 2000. (en línea). Consultado 11 dic. 2010. Disponible en http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/salud/tananta_vl/revision_literatura.htm
10. Rivera, M. 2002. Giardia intestinal. (en línea). Consultado 19 ene. 2011. Disponible en <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0535-513320020200007&script=sci>
11. Vidagro, E. 2004. Artículo 0103: Vacunación contra Giardia (en línea). Consultado 28 ene. 2011. Disponible en <http://www.vet-uy.com/articulos/caninos/150/0103/can0103.htm>
12. Vignau, M. 2005. Parasitología práctica modelos de enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 2 ed. Buenos aires, Argentina, editorial Ubaldo Basso. 194 p.

XII. ANEXOS

Tabla 1: indica los parámetros del índice de kappa en los cuales denota la relación entre dos variables.

Kappa	Grado de acuerdo
Menor que 0	Sin acuerdo
0.0- 0.2	Insignificante
0.2 – 0.4	Bajo
0.4 – 0.6	Moderado
0.6 – 0.8	Bueno
0.8 – 1	Muy bueno

DESARROLLO DE ÍNDICE DE KAPPA

RESULTADOS OBSERVADOS

Cuadro
N°4

Método de
flotación por
sulfato de zinc

Método directo

	positivo	negativo	total
positivo	(a)15	©0	(f1)15
negativo	(b)5	(d)10	(f2)15
	(c1)20	(c2)10	(N)30

Formulas:

Po= resultados observados

Pe= resultados esperados

$$Po = \frac{a + d}{N} = \frac{15 + 10}{30} = 0.83$$

$$Pe = \frac{f1xc1+f2xc2}{Nxn} = \frac{15x20+15x10}{900} = 0.5$$

$$K = \frac{Po - Pe}{1 - Pe}$$

$$k = \frac{0.83 - 0.5}{0.5} = 0.66$$

PRUEBA DE HIPÓTESIS POR DIFERENCIA DE PROPORCIONES

Ho: $P_2 = P_1$

Hi: $P_2 \neq P_1$

$\alpha : 0.05$

$$z = \frac{P_2 - P_1}{\sqrt{\frac{P_2(1-P_2)}{N} + \frac{P_1(1-P_1)}{N}}}$$

$$Z = \frac{0.5 - 0.67}{\sqrt{\frac{(0.5)(0.5)}{30} + \frac{(0.67)(0.33)}{30}}}$$

$$Z = \frac{0.17}{0.12}$$

$$Z = -1.42$$

Tabla No. 2 Número de muestras fecales positivas al ser analizadas con el método directo.

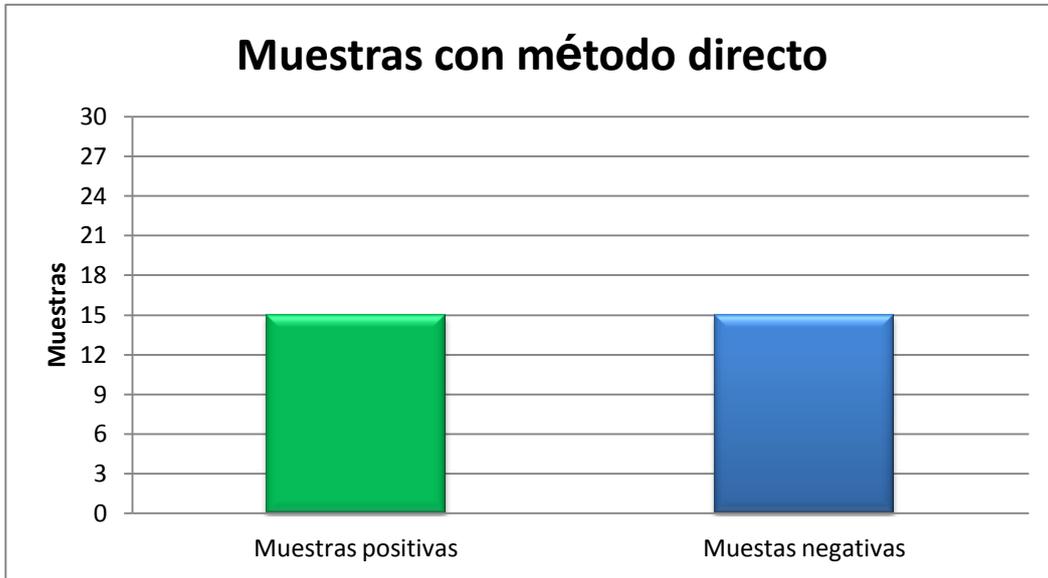


Tabla No 3 Número de muestras fecales positivas al ser analizadas con el método de flotación con Sulfato de zinc.

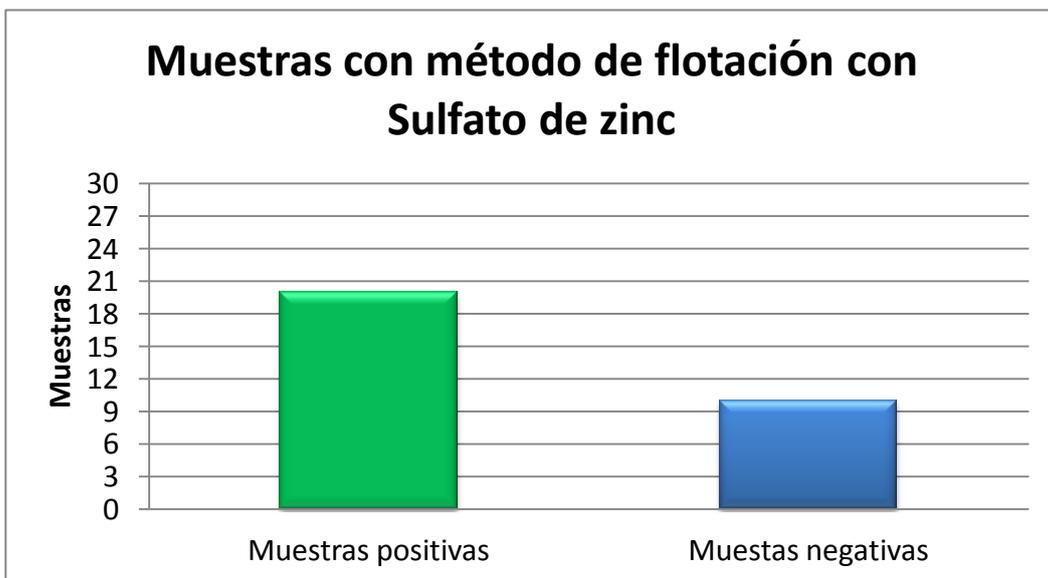
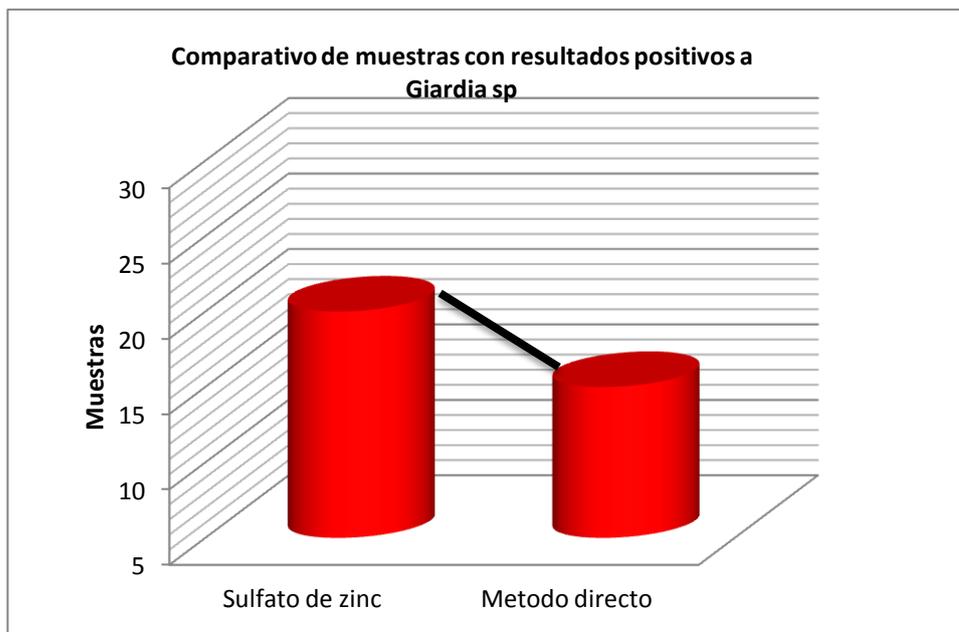
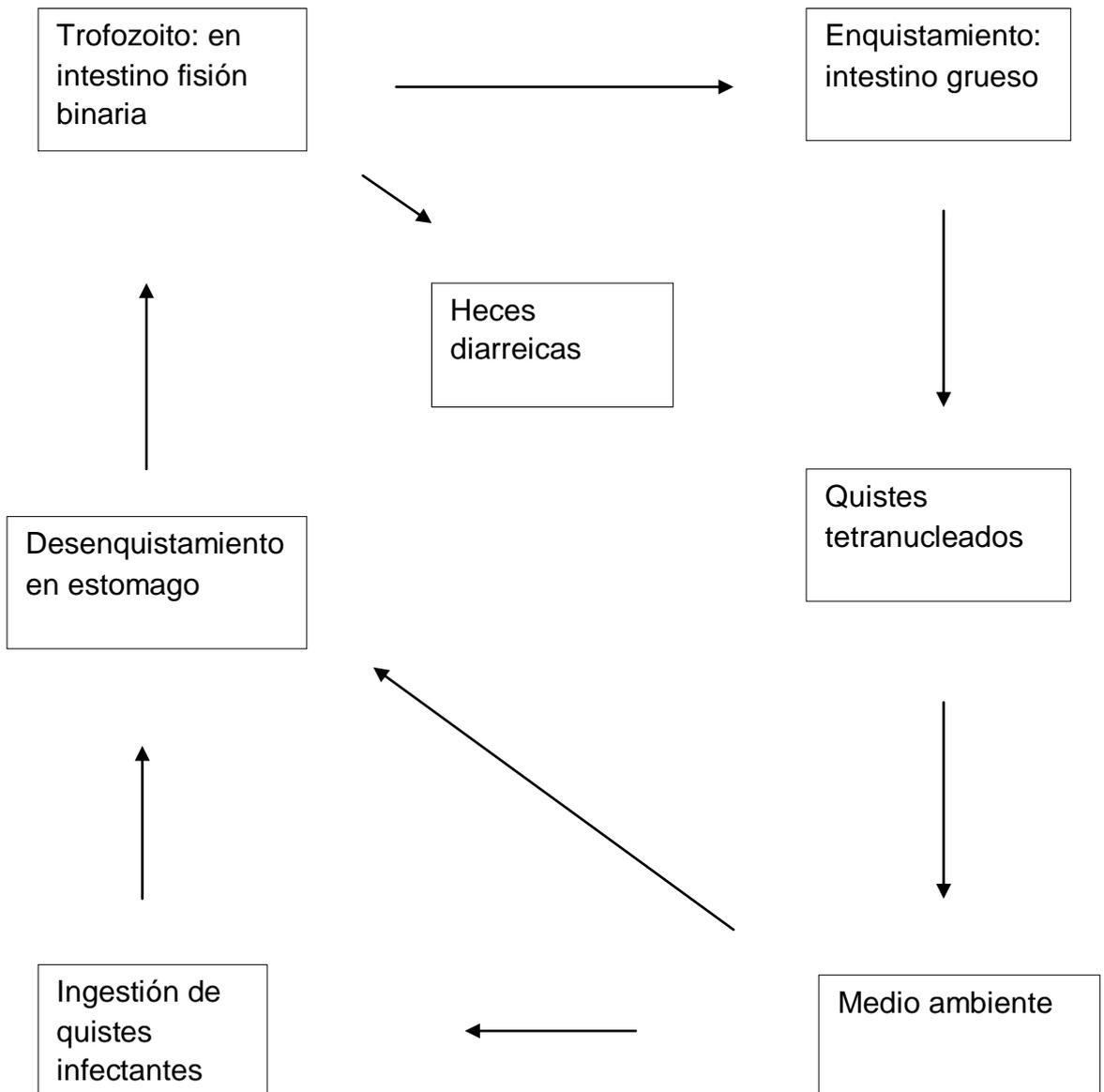


Tabla No 4 Muestra la comparación de resultados positivos entre los dos métodos de diagnóstico para giardiasis.



CICLO BIÓLOGICO



TABLAS DE RESULTADOS DE LAS MUESTRAS FECALES ANALIZADAS

N°	Fecha	paciente	Método directo	Flotación en Sulfato de Zinc	Observaciones
1	5/05/11	Bunny	(-)	(-)	
2	6/05/11	Pirata	(-)	(-)	
3	10/05/11	Hanna	(-)	(-)	
4	12/05/11	Loreta	(-)	(-)	
5	12/05/11	Choly	(-)	(-)	
6	15/05/11	Simon	(-)	(-)	
7	15/06/11	Ricky	(-)	(+)	
8	16/06/11	Ciara	(+)	(+)	
9	16/06/11	Bimby	(-)	(-)	
10	25/06/11	Cianon	(+)	(++)	
11	29/06/11	Peper	(+)	(+)	
12	2/07/11	Boby	(+)	(+)	
13	23/07/11	Bruno	(+)	(+)	
14	23/07/11	Chuleta	(-)	(+)	
15	28/07/11	Pisky	(+)	(+)	

N°	Fecha	Paciente	Método Directo	Método de flotación en Sulfato de Zinc	Observaciones
16	11/08/11	chipsy	(-)	(-)	16
17	21/08/11	hutch	(+)	(+)	17
18	23/08/11	sparky	(-)	(-)	18
19	26/08/11	muphin	(-)	(-)	
20	05/09/11	Delange	(+)	(+)	
21	07/09/11	Cumbia	(+)	(+)	
22	10/10/11	Ninja	(+)	(+)	
23	12/10/11	Trinket	(-)	(+)	<i>Ancylostoma caninum</i>
24	15/10/11	Dante	(+)	(++)	
25	19/10/11	cachorra	(-)	(+)	<i>Ancylostoma caninum</i>
26	19/10/12	Yaya	(-)	(+)	
27	20/10/12	minni	(+)	(+)	
28	26/10/12	Husky M	(+)	(+)	
29	29/10/12	Liotai	(+)	(+)	
30	29/10/12	negrita	(+)	(+)	

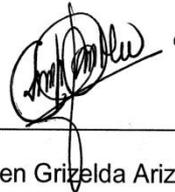
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

DETERMINACION DE LA PRESENCIA DE *Giardia sp* EN HECES DE 30
PERROS CON PROBLEMAS ENTERICOS, MEDIANTE LOS METODOS
DIRECTO Y FLOTACION EN SULFATO DE ZINC, QUE ACUDAN AL HOSPITAL
DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN
CARLOS DE GUATEMALA, DURANTE LOS MESES DE FEBRERO A ABRIL

2011



Br. Abraham Ernesto Nieves Cruz



M.V Carmen Grizelda Arizandieta Altán

Asesora Principal



M.V. Manuel Eduardo Rodríguez Zea

Asesor



M.V. Jaime Rolando Méndez Sosa

Asesor

IMPRIMASE



MSc. Carlos Enrique Saavedra Vélez

DECANO

