

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA

**“EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE LA VACUNA GIARDIA VAX EN
CACHORROS DE *Canis domesticus*.”**

POR:

Br. IRENE VERONICA DELGADO CHAVARRIA

PARA OPTAR AL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

SAN SALVADOR, JUNIO 2007

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTORA

Dra. MARÍA ISABEL RODRÍGUEZ

SECRETARIA GENERAL

Licda. ALICIA MARGARITA RIVAS DE RECINOS

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

DECANO

Ing. Agr. Lic. JORGE ALBERTO ULLOA ERROA

SECRETARIO

Ing. Agr. SANTOS ALIRIO SANDOVAL MONTERROSA

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA

MV ORLANDO ALBERTO SILVA HERNANDEZ

DOCENTES DIRECTORES

MV JUAN CARLOS ANDRADE PINEDA

MVZ OSCAR RENE FRANCISCO FUENTES MONTERROSA

MV JORGE ARMANDO CASTRO MENJIVAR

RESUMEN.

Se evaluó la efectividad profiláctica de la vacuna Giardia Vax, a partir de la infestación experimental en cachorros de *Canis domesticus*, desafiados por vía oral con quistes de *Giardia lamblia*. Se utilizaron 24 cachorros de raza criolla entre 6 y 16 semanas de edad. Fueron divididos aleatoriamente en dos lotes de 12 cachorros. El lote N° 1, grupo vacunado; y el lote N° 2, grupo no vacunado, ambos grupos fueron infestados. A los dos grupos se le realizó análisis coproparasitológico cada 72 horas, tres veces, antes de iniciar el ensayo, así como la prueba inmunocromática Test SNAP® *Giardia*, para descartar presencia de antígenos de *Giardia*. Los sujetos de estudio que no presentaron *Giardia* ni antígenos de *Giardia* en las heces, fueron seleccionados para el ensayo. Se aplicó vacuna Giardia Vax al lote N° 1, el día primero del ensayo, revacunándose 15 días después. El día 45 del ensayo ambos lotes fueron desafiados vía oral con quistes obtenidos a partir de medio de cultivo TYI-S-33. A ambos grupos se les practicó análisis coproparasitológico cada 72 horas por 15 días. El último día, se realizó prueba inmunocromática, Test SNAP® *Giardia*.

Del grupo no vacunado infestado, 9 / 12 cachorros (75%), eliminaron quistes de *Giardia lamblia* en heces durante 12 días (de 15) de la fase post desafío; a comparación del grupo vacunado, del cual, solamente 1 / 12 cachorros (8.33%), eliminó quistes en heces durante 3 días (de 15) de la fase post desafío; los animales restantes 11 / 12 vacunados (91.66%) y 3 / 12 no vacunados (25%), presentaron coproparasitológicos negativos al tercer día post desafío y se mantuvieron hasta el final del estudio. En el lote N° 1, con ayuda de la prueba inmunocromática, se logró detectar a un segundo cachorro positivo a *Giardia*, ya que no eliminó quistes en heces durante la periodo post desafío. Se comprobó la viabilidad de los quistes expulsados por el cachorro vacunado en medio específico para *Giardia lamblia*, TYI-S-33. Los resultados sugieren que la vacuna logra reducir los signos clínicos así como la diseminación de quistes potencialmente infestantes al ambiente, por lo que se puede lograr reducir la transmisión zoonótica, principalmente entre la población infantil.

DEDICATORIA.

A Dios Todopoderoso y a su Madre María por guiarme por mis caminos durante todo este tiempo.

A mis padres, por obsequiarme el más precioso e invaluable regalo que se le puede entregara a un hijo, el estudio.

IRENE VERÓNICA DELGADO CHAVARRÍA.

AGRADECIMIENTOS.

A Dios Todopoderoso, y a su Madre María, por la bendición y fortaleza que me brindaron en todo momento.

A mis asesores, MVZ. Francisco Fuentes, MV. Juan Carlos Andrade y MV. Jorge Castro, por que sin su profundo conocimiento, mi tesis no hubiera podido lograr su fin. Gracias por toda la ayuda, paciencia y guía que me brindaron durante todo este tiempo.

A la Licenciada Eva Arriaza, por toda su ayuda durante la fase de laboratorio. A Doris Rivera por todo el apoyo que me brindó durante todo el tiempo que pasé en la Universidad.

A mi mami Triny de Delgado, mi papi Leónidas Delgado y mis hermanas Claudia y Lucy, que me han ayudado a lo largo de mi carrera y de mi vida, apoyándome en aquellas decisiones buenas o malas, gracias de todo corazón por que siempre estuvieron conmigo en los momentos de angustia, desesperación y decepción, dándome su apoyo incondicional y ánimos para seguir adelante.

A mi sobrinito Gerardo, gracias por enseñarme a ser una persona nuevamente y, poder disfrutar así de las maravillas que el mundo nos proporciona. Espero poder seguir siendo un modelo para ti. Te quiero muchísimo, mi futuro veterinario.

A mi novio Alejandro López, por comprenderme durante esas etapas difíciles y escucharme en los momentos que necesitaba de alguien.

A mis amigas del colegio, mis amigas (os) de la Universidad, y a todas las personas que de una u otra forma, me han brindado apoyo moral para poder culminar uno de mis más grandes anhelos.

Sobre todo, gracias a mis pitis, que sin ellos nada de esto hubiera podido ocurrir.

IRENE VERONICA DELGADO CHAVARRIA.

TABLA DE CONTENIDOS.

	PÁGINA
1. INTRODUCCIÓN _____	1
2. MARCO TEORICO _____	2
2.1 GIARDIA SPP _____	3
2.1.1 Taxonomía de <i>Giardia</i> _____	3
2.1.2 Características y ciclo biológico de <i>Giardia</i> _____	4
2.1.3 Reproducción _____	7
2.1.4 Hospedadores _____	7
2.1.5 Epidemiología _____	8
2.1.6 Patogenia _____	8
2.1.7 Factores predisponentes _____	9
2.1.8 Transmisión _____	10
2.1.9 Síntomas clínicos _____	10
2.1.10 Diagnóstico _____	11
2.1.11 Tratamiento _____	13
2.1.12 Prevención y control _____	15
2.1.13 Inactivación parasitaria _____	16
2.1.14 Protocolo de control de giardiasis canina en ambientes y criaderos _____	16
2.2 INMUNIDAD _____	18
2.2.1 Inmunidad natural _____	18
2.2.2 Inmunidad adquirida _____	20
2.2.3 Inmunidad específica _____	22
2.2.3.1 Inmunidad celular _____	23
2.2.3.2 Inmunidad humoral _____	25
2.2.4 Anticuerpos (inmunoglobulinas) _____	27
2.2.5 Antígenos _____	28
2.2.6 Inmunidad contra parásitos _____	29
2.2.6.1 Inmunidad específica contra protozoarios _____	29
2.2.6.2 Evasión de la respuesta inmunitaria por los protozoarios	30

2.2.7	Vacunación y vacunas	31
2.3	GIARDIA VAX	37
2.3.1	Respuesta inmune contra <i>Giardia</i>	39
2.3.2	Antígenos de <i>Giardia</i>	39
2.3.3	Vacuna contra <i>Giardia</i>	41
2.4	TEST SNAP <i>GIARDIA</i>	42
2.4.1	ELISA	43
2.5	MEDIO DE CULTIVO TYI-S-33	45
2.6	EXQUISTACIÓN Y ENQUISTACIÓN DE <i>GIARDIA SPP</i>	47
3.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	48
4.	JUSTIFICACION	48
5.	HIPOTESIS CIENTIFICA	50
6.	OBJETIVOS DE INVESTIGACION	50
6.1	OBJETIVO GENERAL	50
6.2	OBJETIVO ESPECIFICO	50
7.	MATERIALES Y METODOS	51
7.1	MATERIALES	51
7.2	METODOS	53
7.2.1	Ubicación, duración y unidades experimentales.	53
7.2.2	Metodología de campo.	53
7.2.3	Metodología estadística.	55
8.	RESULTADOS	56
9.	CONCLUSIONES	62
10.	RECOMENDACIONES	63
11.	BIBLIOGRAFIA	64
12.	ANEXOS	68

12.1	Giardiasis a nivel Nacional	68
12.2	Antígenos	72
12.3	Técnica de concentración fecal: Formol / Éter.	74
12.4	Tests SNAP <i>Giardia</i> .	75
12.5	Medio TYI – S33	78
12.6	Ficha control de cada cachorro.	81
12.7	Imágenes	105
12.8	Cuadros	119
13.	GLOSARIO	122

LISTA DE CUADROS.

CUADRO	CONTENIDO	PÁGINA
1.	<i>Hospedadores principales de Giardia spp</i>	6
2.	<i>Comparación al desafío experimental con Giardia lamblia en perros vacunados y no vacunados</i>	56
3.	<i>Respuesta al desafío experimental con Giardia lamblia en perros vacunados</i>	57
4.	<i>Respuesta al desafío experimental con Giardia lamblia en perros no vacunados</i>	58
A1.	<i>Comparación de inmunidad activa y pasiva</i>	119
A2.	<i>Tipos de linfocitos T</i>	119
A3.	<i>Características de la Inmunidad específica</i>	120
A4.	<i>Anticuerpos. Estructura, localización y función</i>	120

LISTA DE GRAFICOS.

GRAFICO	PAGINA
1. Cantidad de perros positivos vacunados _____	58
2. Cantidad de perros positivos no vacunados _____	60
3. Cantidad de cachorros eliminando quistes en heces durante la fase de observación _____	61

LISTA DE FIGURAS.

FIGURA	CONTENIDO	PAGINA
A1.	Estructura tridimensional de trofozoitos de <i>Giardia spp</i> vista por microscopio electrónico _____	105
A2.	Forma enquistada de <i>Giardia spp</i> _____	105
A3.	Ciclo biológico de <i>Giardia spp</i> _____	106
A4.	Fisión binaria de trofozoitos de <i>Giardia spp</i> _____	106
A5.	Trofozoito emergiendo de un quiste _____	107
A6.	Trofozoitos de <i>Giardia</i> , adheridos a la superficie intestinal _____	107
A7.	Transmisión de <i>Giardia spp</i> _____	108
A8.	Trofozoito de <i>Giardia spp</i> diagnosticado por frotis directo _____	108
A9.	Flotación en sulfato de zinc que revela quistes de <i>Giardia spp</i> _____	109
A10.	Kit inmunocromático para la detección de antígeno parasitario en muestras fecales _____	109
A11.	Quistes de <i>Giardia spp</i> , demostrado por medio de prueba de inmunofluorescencia directa _____	110

A12. Diagnóstico de giardiasis mediante examen de un aspirado duodenal	110
A13. Presentación de vacuna contra <i>Giardia</i>, Giardia Vax	111
A14. Estructura básica de los anticuerpos	110
A15. Comparación de especificidad y sensibilidad del Snap Test y microscopía	112
A16. La mayor sensibilidad de ELISA	113
A17. Recopilación de cachorros	114
A18. Resultado de primera prueba inmunocromática	114
A19. Primera desparasitación de los cachorros	115
A20. Cachorros en jaulas individuales	115
A21. Giardia vax	116
A22. Elaboración de medio de cultivo TYI-S-33	116
A23. Desafío vía oral con quistes de <i>Giardia lamblia</i> provenientes de TYI-S-33	117
A24. Resultados de último Snap test y coproparasitológico realizado a los cachorros	117
A25. TYI-S-33 cultivado con heces positivas a <i>Giardia</i> de cachorros vacunados	118

1. INTRODUCCION.

Los problemas gastrointestinales causados por parásitos, son de las consultas más usuales en las clínicas veterinarias en la Región Metropolitana de San Salvador. Muchas de estas enfermedades son zoonóticas, como la giardiasis, por lo que ha sido necesaria la elaboración de planes preventivos en los que se incluye la vacuna contra *Giardia*.

La giardiasis, causada por *Giardia lamblia* (también conocida como *Giardia intestinalis* o *Giardia duodenalis*), constituye una parasitosis de gran importancia epidemiológica y clínica por su alta prevalencia, patogenicidad y zoonosis, fundamentalmente entre la población infantil (Cordero del Campillo y Rojo 1999).

La *Giardia*, es un parásito protozoario flagelado residente del tubo intestinal humano y de muchas clases de animales. Las encuestas de prevalencia en poblaciones caninas son: 10% en perros bien tratados, 36 a 50% en cachorros y hasta el 100% en criaderos. El hecho de que la prevalencia en gatos sea mucho menor (1,4-11%) puede reflejar la dificultad para identificar el organismo en las heces (Stephen y Dwigth 1994).

Debido a que los animales, en este caso la especie canina, representa una fuente de infestación para los humanos, el propósito de este trabajo fue evaluar la efectividad profiláctica de la vacuna *Giardia-vax* contra la infestación realizada experimentalmente en cachorros de *Canis domesticus* con quistes de *Giardia lamblia*, utilizando como parámetros de eficacia la ausencia de quistes del protozoario en heces, o en su defecto, la presencia de quistes no viables en las heces de los animales en estudio, ya que el fabricante de dicha vacuna, sostiene, que algunos animales vacunados podrán eliminar quistes pero, que los mismos no poseen la capacidad de infestar a otros animales (Olson et al 1996).

Con el propósito de demostrar que se puede proteger contra esta parasitosis, se utilizará en forma experimental la inmunización sistemática con una vacuna con trofozoitos inactivos de *Giardia lamblia*.

2. MARCO TEORICO.

La giardiasis es una enfermedad de los mamíferos, es decir que afecta a perros, gatos, animales silvestres mamíferos y al hombre. Por lo tanto es una enfermedad zoonótica o antropozoonótica (Nuñez 1997).

El agente causal es un protozooario del intestino delgado de los mamíferos, llamado *Giardia* (*Giardia lamblia*). Si bien no se diagnostica frecuentemente, esto no significa que no exista, ocurre que algunas veces no se incluye como diagnóstico diferencial de posibles causas de diarrea, sobretodo en cachorros (Foreyt 2001).

Según la observación de médicos veterinarios dedicados a la clínica de especies menores, y que acostumbran realizar exámenes de laboratorio (coproparasitológicos), se ha podido determinar que la *Giardia lamblia* es una parasitosis frecuente, y que según ellos podría ocupar el primer lugar como causa de diarreas en perros y sobre todo en cachorros (Belligotti 2005).

Un factor importante en la transmisión de la giardiasis, es el papel de portador que desempeñan algunos animales domésticos y silvestres que pueden estar infestados con *Giardia* y liberar gran cantidad de quistes potencialmente infestantes en el agua, así como en alimentos de consumo humano; ya que la principal vía de transmisión para los humanos es el consumo de aguas contaminadas con quistes viables o bien en forma directa de animales a personas (Coffing 1986).

La transmisión de la enfermedad entre animales se da principalmente por ruta oro-fecal y ocasionalmente por consumo de alimentos o aguas contaminadas. La diarrea es el signo clínico más común en los perros y gatos sintomáticos y puede ser aguda y de corta duración, intermitente o crónica. Las deposiciones con frecuencia son pálidas, malolientes y esteatorréicas. Los afectados pueden presentar pérdida de peso secundaria a la diarrea como consecuencia del síndrome de malabsorción / maladigestión de los alimentos, pero es inusual la inapetencia (Jiménez et al 2002).

El animal una vez infestado, se vuelve susceptible a otras enfermedades más graves y hasta mortales (Harvey y Meyer 1999).

Para el diagnóstico se debe recurrir a exámenes de materia fecal, con técnicas que no son las de rutina, por ello se suele pasar por alto el diagnóstico, entre estas técnicas se incluyen: Frotis fecal, técnica de concentración formol - éter, concentración en sulfato de zinc, flotación en sulfato de zinc, inmunofluorescencia directa, aspirados duodenales y prueba de la cuerda peroral (Cañete et al 2000).

En El Salvador, según monitoreo del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social para la consulta externa, durante el año 2005, se reportaron 29.950 consultas por Giardiasis, reportándose casos desde niños menores de un año hasta adultos mayores de 60 años, de ambos sexos. De este total, se demostró que 26.186 consultas fueron realizadas por primera vez (Ver anexo 1).

2.1 GIARDIA SPP.

En los animales, la *Giardia*, parasita el intestino delgado en forma de trofozoítos móviles, los cuales residen en el lumen, son anaerobios y frágiles; luego, migran al intestino grueso (principalmente ciego) donde forman quistes inmóviles, latentes y resistentes, que son eliminados con la materia fecal (Cordero del campillo y col, 1999).

2.1.1 Taxonomía de *Giardia*.

En la clasificación de los protozoos, la *Giardia* se incluye en el phylum *Sarcomastigophora*, subphylum *Mastigophora*, clase *Zoomastigophorea*, orden *Diplomonadida*, familia *Hexamitidae* que incluye un único género: *Giardia* (Soulsby 1988).

En este género se admiten diferentes especies, dependiendo de los criterios empleados por diferentes autores. Se han descrito 41 especies diferentes; sin embargo, por disposición de las estructuras microtubulares presentes en los cuerpos

medios de los trofozoítos, se admiten tres grupos de especies: *Giardia agilis*, *Giardia muris* y *Giardia intestinalis* (*duodenalis* o *lamblia*) (Cañete et al. 2000).

Solo los aislamientos de este último grupo se asocian con enfermedad en el hombre. A las cepas de procedencia exclusivamente humana se les denomina especies de *G. lamblia*, para diferenciarlas de aquéllas de origen animal, pero que pueden infectar al hombre, conocidas como especies de *G. intestinalis* o *G. duodenalis* (Harvey y Meyer 1999).

2.1.2 Características y ciclo biológico de *Giardia*.

Como otras especies de este género, el ciclo biológico de *G. lamblia* incluye dos fases o estadios: el trofozoito (forma vegetativa), y el quiste (forma de resistencia) (Cañete et al 2000).

El trofozoito es la forma motil, activa, residente intestinal, responsable de las manifestaciones clínicas, con un largo de 15 µm, ancho de 8 µm y posee una morfología piriforme, es convexo dorsalmente y con una concavidad ventral (disco succionario o ventral) (Ver figura A1) (Coffing 1986).

Según Coffing (1986), se distinguen las siguientes estructuras:

- Núcleo: Posee dos núcleos ovoides, situados simétricamente a cada lado de la línea media, con un gran cariosoma central. No se ha demostrado la presencia de nucléolo y la membrana nuclear no está revestida por cromatina, aunque parcialmente está recubierta por ribosomas
- Citoesqueleto: consta del disco succionario o ventral, los cuerpos medios y los cuatro pares de flagelos. El citoesqueleto y, fundamentalmente el disco ventral, tiene un papel importante en la supervivencia de *Giardia* en el intestino del hospedador. El disco succionario o ventral es una estructura cóncava de 0,4 mm rígida que contacta con las microvellosidades intestinales. Contiene proteínas contráctiles, actina, miosina y tropomiosina, que

constituyen la base bioquímica para la contracción del disco, implicada en la adherencia del trofozoito al epitelio intestinal. Los cuerpos medios están localizados en la línea media del trofozoito y dorsal al flagelo caudal; es una estructura única del género *Giardia* (criterio de clasificación de las especies de este género). En los trofozoítos de *G. lamblia* presentan una morfología típica de garra. Este parásito presenta cuatro pares de flagelos (antero-lateral, postero-lateral, caudal y ventral) que se originan de cuatro pares de cuerpos basales o blefaroplastos en la cara ventral del cuerpo del trofozoito con sus correspondientes axonemas. La función de los flagelos es permitir la movilidad a los trofozoítos y su papel en la adherencia al epitelio intestinal no parece importante.

- Otras organelas presentes en el citoplasma de los trofozoítos de *Giardia* son los ribosomas, los lisosomas, que contienen hidrolasas, DNAsas, RNAsas, cistein-proteasas, etc. y el retículo endoplásmico. El complejo de Golgi sólo ha podido ser demostrado en los trofozoítos durante el proceso de enquistación, formando las vesículas específicas de enquistación, pero no en los trofozoítos no enquistados.

Estos colonizan primariamente el yeyuno, aunque algunos organismos pueden encontrarse en el duodeno y, rara vez, en el íleon, vías biliares o vesícula biliar. El pH óptimo de desarrollo oscila entre 6,4 y 7,2. Esta predilección por el yeyuno sugiere que requieren una alta concentración de nutrientes para su supervivencia y proliferación, especialmente aquellos que el parásito no es capaz de sintetizar por sí mismo, como el colesterol, elemento fundamental para la biogénesis de sus membranas y en el proceso de enquistación de los trofozoitos a lo largo del intestino (Cañete et al 2000).

El quiste es el estadio inactivo, resistente, responsable de la transmisión del parásito, tienen una morfología elipsoidal con un largo de 12 μm y ancho de 7 μm . Los quistes se forman cuando los trofozoitos pierden casi totalmente su contenido de agua, que les permite reducir su tamaño hasta una décima parte de su dimensión normal,

posteriormente secretan una doble cubierta de quitina; ambas se encuentran separadas por el espacio periplásmico siendo la más interna de mayor grosor, dentro de la cual se mantienen en estado latente, es decir, sus funciones vitales se reducen al mínimo, se tornan inactivos. Se caracterizan por poseer una rígida pared glicoproteica externa que les permiten sobrevivir inclusive frente a la acción de los desinfectantes más comunes. Contiene dos trofozoítos formados, pero no del todo separados y pueden verse los axonemas, fragmentos de los discos ventrales; los quistes inmaduros o recién formados tienen dos núcleos y se denominan prequistes y los quistes maduros son tetranucleados. Los núcleos se suelen localizar en el extremo del quiste. (Coffing 1986) (Ver figura A2).

El ciclo biológico es directo (Ver figura A3). El huésped se infesta con la ingestión de los quistes (Nuñez 1987).

Una vez ingeridos, estos pasan por la parte alta del tubo digestivo, en el estómago se reblandece la pared quística mediante la acción de los jugos gástricos. Posteriormente en el duodeno se rompe dicha pared dando origen a los trofozoítos tetranucleados, los cuales se dividen, originando dos trofozoítos binucleados. Los trofozoítos se dividen por fisión binaria longitudinal y permanecen en el lumen donde se pueden encontrar en forma libre o unidos a la mucosa duodenal gracias a su disco suctor. La enquistación ocurre a medida que el parásito es arrastrado por el tránsito intestinal hacia el colon, por lo que el quiste es el estado que se encuentra más comúnmente en las heces formadas. Cuando el tránsito intestinal está acelerado se encuentra la forma de trofozoito (Kucik 2004).

Los quistes son expulsados con las heces 1 ó 2 semanas después de la infestación (Nuñez 1987).

2.1.3 Reproducción.

Los estudios realizados hasta la fecha indican que *Giardia* es un organismo con reproducción asexual y funcionalmente haploide, lo que permite cultivarla *in Vitro*, sin la necesidad de utilizar cultivos celulares; no se ha demostrado reproducción sexual a diferencia de lo que sucede con otros protozoos. Los trofozoitos se dividen en el intestino delgado mediante un proceso de fisión binaria, que incluye la división nuclear en primer lugar, seguida del aparato neuromotor y del disco ventral, y la separación posterior del citoplasma, obteniéndose dos trofozoítos hijos (Gautier 2000) (Ver figura A4).

2.1.4 Hospedadores

La giardiasis es una enfermedad parasitaria que afecta al hombre y algunos animales silvestres y domésticos.

Cuadro 1. Hospedadores principales de *Giardia spp.*

ESPECIE	HOSPEDADOR
<i>Giardia lamblia (duodenalis o intestinalis)</i>	La mayoría de mamíferos silvestres y domésticos. Incluyendo el humano.
<i>Giardia muris</i>	Roedores
<i>Giardia ardeae</i>	garza azul real, ibis cuello de paja
<i>Giardia psittaci</i>	Aves psitácidas
<i>Giardia varani</i>	Monitor de Nilo, monitor de bengala, monitor de agua.
<i>Giardia serpentis</i>	Serpientes
<i>Giardia agilis</i>	Anfibios
<i>Giardia microti</i>	Ratas silvestres y ratas almizcleras

Fuente: Olson et al, 1998.

2.1.5 Epidemiología.

La Giardiasis es una infección cosmopolita y se halla ampliamente distribuida en todas las latitudes y continentes. La infestación se adquiere por la ingestión de quistes o, más raramente, por trofozoítos, procedentes de la materia fecal. La transmisión es fundamentalmente fecal – oral directa, o, por contacto con personas o animales infectados con *Giardia*; la transmisión fecal-oral indirecta, por el consumo de aguas o alimentos contaminados con quistes, suele ser el origen de brotes epidémicos, y, en el caso de humanos, también se puede transmitir la parasitosis por vía sexual (Cañete et al 2000).

2.1.6 Patogenia.

Este parásito contiene en su membrana unas moléculas denominadas proteína alfa-1 giardina (lectinas), las cuales son activadas por la secreción duodenal y pancreática (proteasa, principalmente la tripsina). La activación de las lectinas le confiere la capacidad de adherirse a las microvellosidades del duodeno, para luego multiplicarse (Cañete et al. 2000) (ver figura A6).

El daño producido es variable, oscilando entre los pacientes que presentan alteraciones mínimas de la mucosa intestinal, o aquellos que cursan con atrofia parcial moderada de las vellosidades del intestino delgado. En este último caso se produce un serio deterioro de la absorción con la subsiguiente repercusión en el estado nutricional (Bennett 2006).

Existe una relación directa entre la magnitud del daño microscópico del intestino y la intensidad de la sintomatología. Así, si la infestación es asintomática, el daño histológico es mínimo; pero en casos severos con mala absorción, se observa a la microscopía óptica, una configuración anormal de las vellosidades intestinales y, bajo la microscopía electrónica, se describen alteraciones del epitelio intestinal tanto a nivel de las microvellosidades como en el citoplasma. Las microvellosidades que coronan como un cepillo la célula epitelial y aumentan enormemente su superficie de

absorción, aparecen achatadas, engrosadas o emergiendo unas de otras (Kucik 2004).

En el citoplasma, se presentan alteraciones evidentes que se manifiestan por un gran número de vacuolas. Las células epiteliales dañadas son eliminadas al lumen intestinal, por lo que se acelera la velocidad de recambio celular y la repoblación con células predominantemente inmaduras desde el punto de vista enzimático y de transporte. Esto ocasiona fallas en las nuevas células epiteliales que surgen en las criptas. Este hecho va a conducir a un síndrome de mala absorción que afecta a lípidos y menos frecuente a hidratos de carbono (Bennett 2006).

2.1.7 Factores predisponentes.

Según Cañete et al (2000), se pueden distinguir dos factores principales:

- a) **Factores ambientales:** en el caso de *Giardia*, que tiene ciclos evolutivos directos, los factores climáticos, variación en régimen de lluvias y temperatura ambiente son muy importantes para el desarrollo y supervivencia de los estados infestantes, y, además, unido al desplazamiento de los perros de un ambiente a otro, hacen que las posibilidades de infestación se incrementen.
- b) **Factores del hospedador:** La edad constituye el factor más importante para el desarrollo de la enfermedad parasitaria, los animales comprendidos entre 1 y 8 meses de edad, son los más receptivos a la infección por *Giardia spp.*, independientemente de la raza y el sexo. El estado sanitario y nutricional, en general, si es bueno, previene en cierta medida la aparición del proceso así como la situación inmunológica del paciente; de igual manera situaciones de estrés, procesos patológicos o carenciales favorecen el asentamiento del parásito y su posterior desarrollo.

2.1.8 Transmisión.

La transmisión se da por vía fecal – oral tanto en el hombre como en los animales (Ver figura A7). La ingestión de 10 quistes produce una infestación sintomática. La coprofagia es una ruta significativa para la autoinfestación en los animales (Cordero del Campillo y Rojo 1999).

La depredación es otro mecanismo potencial en la transmisión fecal – oral en caninos. La contaminación del agua con fluidos fecales o heces tanto de hombres como de animales puede favorecer la diseminación de la enfermedad (Gautier 2000). Los quistes de *Giardia* pueden sobrevivir en el agua por varios meses, la fuente de contaminación a veces es difícil de encontrar. Las heces de los animales de granja como el ganado, ovejas, caballos, cerdos, perros y gatos tienen un gran potencial de contaminación a nivel de agua (Stephen y Dwigth 1994).

2.1.9 Síntomas clínicos.

Los síntomas comienzan a aparecer por lo general de 1 a 2 semanas después de la infestación (Cordero del campillo y col, 1999).

En los pacientes con giardiasis, la sintomatología clínica muestra una gran variabilidad, que depende fundamentalmente de factores individuales de la respuesta inmunitaria más que de otros, como la virulencia de la cepa, la dosis infestante o la duración de la parasitosis. Además, en la giardiasis el período prepatente y la duración de la infestación no guardan relación con el tamaño del inóculo (Cañete et al 2000).

En la mayoría de los pacientes infestados por *G. lamblia* la parasitosis es asintomática. La infestación puede evolucionar de forma aguda, subaguda o crónica. La sintomatología gastrointestinal es la más frecuente y comprende un amplio espectro de manifestaciones clínicas como enteritis aguda, diarrea crónica, esteatorrea, mala absorción/ mala digestión y pérdida de peso. Las heces son muy olorosas ya que al presentarse el problema de mala digestión, la desintegración

bacteriana hace que tome ese olor. Puede presentarse náuseas acompañadas de anorexia y palidez. Las manifestaciones extraintestinales que con mayor frecuencia se han asociado a la giardiasis son erupción maculopapular, urticaria, aftas, poliartritis, colangitis, asma bronquial, iridociclitis, retinitis, entre otras. En las formas de giardiasis crónica los síntomas predominantes son el malestar abdominal acompañado de dolor epigástrico difuso. La diarrea puede persistir o alternar con estreñimiento y puede acompañarse de pérdida de peso (Cordero del Campillo y col 1999).

2.1.10 Diagnóstico.

Aunque la giardiasis está dentro de los parasitosis más prevalentes en perros y gatos, con frecuencia no se detecta ya que se utilizan métodos inapropiados para el análisis. El diagnóstico de la giardiasis debe ser considerado en todos los pacientes con diarrea aguda, persistente, o antecedentes de viajes a zonas endémicas. El método de referencia es la identificación de los quistes en un examen con microscopía óptica. Con menor frecuencia, es posible observar los trofozoítos en muestras de heces. Los exámenes se realizan directamente en fresco o tras un proceso previo de concentración (formol-éter-acetato, sulfato de zinc, formol-éter-etílico, etc.), en heces no conservadas o conservadas [formol 10%, alcohol polivinílico o mertiolato-yodo-formaldehído MYF)] (Cañete et al 2000).

Debido al carácter intermitente y, en general, al bajo nivel de excreción de quistes en la giardiasis, la sensibilidad del examen de una única muestra de heces es del 35-50%. La realización de técnicas de concentración y el estudio de dos o tres muestras de heces seriadas incrementa la sensibilidad al 70%. En pacientes con giardiasis persistente se recomienda realizar exámenes seriados de heces durante cuatro semanas; en estos casos, la sensibilidad del estudio microscópico alcanza el 97% (Bennett 2006).

- a. Frotis fecales: ante la sospecha de giardiasis se realiza un frotis directo de las heces para el diagnóstico de trofozoítos. Los trofozoítos son más comunes en las heces blandas y los quistes en las deposiciones formadas o semiformadas

(Ver figura A8). Una gota de materia fecal se mezcla con otra de solución salina normal sobre un porta objetos, se coloca un cubre objetos y se examina en microscopio sin pérdida de tiempo a 40x. Los trofozoítos se reconocen por su rápido movimiento anterógrado y disco ventral cóncavo. La morfología es acrecentada al agregar una gota de yodo de lugol (que mata e inmoviliza al parásito tiñendo las diferentes estructuras internas) (Contreras 2004).

- b. Concentración de sulfato de Zinc: el sulfato de zinc es muy eficaz para demostrar huevos de nematodos en las heces de perros y gatos y supera a la sucrosa (de igual densidad) la cual tiende a deformar los organismos (ver figura A9). Los especímenes deben examinarse dentro de los 10 minutos de la preparación por que los quistes se contraen con el tiempo y pierden las características morfológicas internas que los diferencian de otros organismos. Los quistes pueden ser confundidos con levaduras, las cuales también se tiñen con lugol, pero tiene la mitad del tamaño de *Giardia* y no poseen estructuras internas (Stephen y Dwigth 1994).
- c. Concertación fecal en formol/ éter: se añade con un aplicador 1.0 – 1.5 gr de heces a 10 ml de formol en un tubo y se remueve para obtener una suspensión, luego esta suspensión se filtra utilizando gasas húmedas y se pasa a otro tubo. Se añade 3.0 ml de éter y se mezcla bien, luego se centrifuga de 2 a 3 minutos y se observa el sedimento (ver anexo 3).
- d. Kits inmunocromáticos: se han desarrollado análisis inmunoenzimáticos que utilizan la tecnología ELISA para la detección de Giardiasis. Los análisis detectan antígenos fecales producidos por los trofozoitos. Pueden ser algo más eficaces que una sola flotación para su diagnóstico (Gautier 2000) (ver figura A10).
- e. Inmunofluorescencia directa: emplea anticuerpos monoclonales con marcación fluorescente para la detección de quistes fecales de *Giardia*. Es

más sensible que la sucrosa y sulfato de Zinc para detectar heces infestadas, sobre todo cuando la concentración de quistes es reducida. El método requiere instrumental especial y las muestras pueden remitirse en formol al 10% o formol ácido acético – acetato sódico (ver figura A11) (Contreras 2004).

- f. Aspirados duodenales: La muestra duodenal puede obtenerse bien, por esófago-gastro-duodenoscopia con aspiración o biopsia duodenal. La biopsia duodenal puede ser obtenida sin endoscopia utilizando una sonda nasogástrica (tubo de Rubin) unida a una cápsula de Crosby o Carey. (Cañete et al 2000). Se irrigan 10 ml de solución salina normal mediante un tubo de polietileno introducido a través del canal del endoscopio; la aspiración procede de forma inmediata. La muestra es centrifugada (150 G durante 10 minutos) con el sedimento se hace un extendido (teñido con giemsa) (Gautier 2000) (Ver figura A12).

- g. Prueba de la cuerda peroral. Los contenidos duodenales se obtienen con una cuerda de nylon comercial, que es satisfactoria y segura en personas. Debido a su insensibilidad, impracticidad y posible riesgo de ingestión de la cuerda, esta no se recomienda en caninos (Stephen y Dwigth 1994).

2.2.11 Tratamiento.

Se dispone en la actualidad de un gran número de fármacos. El mecanismo de acción principal es aparentemente el de alterar los potenciales de oxido reducción de las membranas del parásito (Fraser 1993).

Los medicamentos de elección en la giardiasis son los derivados nitroimidazólicos como el metronidazol, ipromidazol, tinidazol y furazolidona. Sus principales cualidades son las de erradicar al parasito en un 90 – 96% de los casos, además de tener una relativa buena tolerancia (Fraser 1993).

Se sabe poco acerca de los efectos de estos fármacos sobre la gestación; sin embargo como la giardiasis no amenaza la vida, resulta prudente no tratar a los animales gestantes (Kucik 2004).

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 y nistagmo posicional vertical. Los gatos suelen rechazarlo por su gusto desagradable. El tinidazol a razón de 44 mg/Kgpv/día, durante 3 días, tiene una eficacia del 90%. Ambos productos presentan el inconveniente de reacciones secundarias. 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 a 3 días de finalizar la medicación. En los gatos, dosis más bajas (2,3 mg/kg/día durante 12 días) controlaban los signos, pero sin erradicar la excreción de los quistes. Estaba contraindicada en hembras preñadas (Stephen y Dwigth 1994).

La furazolidona es de considerable eficacia para la giardiasis felina, se administra a una dosis de 4 mg/kg cada 12 horas durante 5-10 días en forma oral; su problema son los posibles efectos colaterales: diarrea y vómito. Esta droga no ha sido evaluada en caninos. Se la presume teratogénica y por ende se contraindica en hembras preñadas. Todos estos productos pueden dar origen a resistencias, por lo que es necesario recurrir a una terapia alterna (Contreras 2004).

Algunos benzimidazolcarbamatos, como el mebendazol 50 mg/Kgpv/tres veces al día y actualmente el albendazol, en dosis de 25 mg/Kgpv, cada 12 horas, durante 2 días, parece ser el producto más idóneo para combatir la giardiasis, Como se lo sospecha teratogénico, se contraindica en animales gestantes (Contreras 2004).

El fenbendazol, usado actualmente para el tratamiento de la giardiasis, a una dosis de 50 mg/kg al día por 3 días consecutivos, en forma oral. Ha demostrado ser 100% eficaz, No presenta efectos colaterales y, la droga no tiene antecedentes de ser teratogénica (Kucik 2004).

Casi todos 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 de tiempo. Por ello, se desconoce si los animales tratados siguen siendo una fuente de infección futura (Belligotti 2005).

2.1.12 Prevención y control.

Al igual que otras enfermedades transmisibles, la educación sanitaria juega un papel de vital importancia. La educación de los propietarios de mascotas en cuanto a hábitos de higiene son imprescindibles (Stephen y Dwigth 1994).

En cuanto a las medidas preventivas para los humanos, conviene mencionar algunas como (Gautier 2000):

- a. Evitar beber aguas no potables
- b. Lavar y desinfectar verduras y vegetales que se consumen crudos.
- c. Mantener unas correctas prácticas de higiene personal.

En la actualidad existe una vacuna para usar en forma preventiva en caninos. El protocolo sería vacunar al cachorro a partir de las 8 semanas. Se debe efectuar revacunación anual. Los criadores pueden vacunar a las madres antes del celo, para proteger a la futura camada (Belligotti 2005).

Un tratamiento adecuado asociado a unas buenas medidas higiénicas y sanitarias, ayudarán a controlar el proceso. La desinfección de locales, el tratamiento de aguas residuales y de consumo, la detección y tratamiento de animales portadores y

enfermos y el manejo adecuado de los animales, son medidas para una buena prevención (Belligotti 2005).

2.1.13 Inactivación parasitaria.

Los quistes de *Giardia* son resistentes a algunos factores ambientales, son capaces de sobrevivir a largos períodos de tiempo en aguas que contienen bajas concentraciones de bacterias y contaminantes orgánicos. Además, el enfriamiento, agua hirviendo, desecación y los rayos ultravioleta los inactivan; mientras que los trofozoítos son altamente susceptibles por lo que no sobreviven al ambiente. (Jiménez et al 2002).

El sistema de clorificación de agua típicamente usado en el control de bacterias patógenas, son inusualmente inefectivos contra los quistes de *Giardia*. Se requieren altas concentraciones de cloro, agua caliente y un contacto prolongado para inactivarlos. Se han utilizado soluciones de yodo, y han demostrado eficacia ante su inactivación (Uberos 2006).

Una gran variedad de desinfectantes químicos (yodo orgánico, tintura de yodo, lejía) son efectivos en la destrucción de los quistes. También varias presentaciones de sales de amonio cuaternario y desinfectantes halógenos demuestran resultados favorables, pero además, se ha comprobado que el uso de estos productos puede fallar en algún momento (Jiménez et al 2002).

2.1.14 Protocolo de control de Giardiasis canina en ambientes y criaderos.

Según Contreras (2004), se deben seguir el siguiente protocolo para disminuir la incidencia de Giardiasis canina:

1. Establecer una zona limpia para movilizar a los animales durante la higiene y tratarlos por cinco días consecutivos.
2. Toda la materia fecal debe ser removida.
3. Realizar limpieza con compuestos de amonio cuaternario.

4. Dado a que los quistes son susceptible a la desecación, las áreas se deben dejar secar por completo después de la limpieza y, de ser posible, mantenerlas vacías por varios días antes de que vuelvan los animales (vacío sanitario).
5. Antes de retornar al área limpia, los animales deben ser bañados para eliminar la materia fecal del pelaje. Luego se debe aplicar amonio cuaternario en la zona perineal, dejando actuar por 3 a 5 minutos. Después se enjuagan y secan completamente. Esto se debe repetir por cinco días.
6. Se debe cumplir higiene de calzado (pediluvio o felpudo con amonio cuaternario).

2.2 INMUNIDAD

El término inmunidad comprende a todas aquellas propiedades del hospedador que le confieren resistencia a un agente infeccioso específico. Esta resistencia puede ser de todos los grados, desde la susceptibilidad casi total hasta la no susceptibilidad completa. Por lo tanto "resistencia" e "inmunidad" son términos relativos que implican únicamente que un hospedador es más o menos susceptible a una infección dada que otro. Nada se puede inferir respecto a los posibles mecanismos de esta resistencia. La inmunidad puede ser natural o adquirida; y esta puede ser pasiva o activa (Peper 2000).

2.2.1 Inmunidad natural

Llamada también inmunidad innata, congénita o hereditaria. La inmunidad innata son las barreras que no permiten la entrada de materiales nocivos al cuerpo, formando así la primera línea de defensa de la respuesta inmune. A diferencia de la inmunidad adquirida, la inmunidad natural se considera comúnmente como una barrera general o inespecífica eficaz contra muchos tipos de agentes infecciosos; por lo tanto, muchas veces se prefiere el término resistencia natural en lugar de inmunidad natural (Barret 1972).

a. Factores externos de defensa.

La primera barrera que detiene la mayoría de microorganismos es la piel, esta constituye gracias a su capa de queratina, una primera barrera difícil de superar siempre y cuando no se produzca ninguna alteración en su estructura. Las mucosas están constituidas por una serie de células que segregan unas sustancias mucilaginosas para actuar de barrera defensiva. En las lágrimas y en la saliva se secreta además una enzima de potente acción inmunológica: la lisozima. Las glándulas sebáceas producen ácido láctico y otros ácidos grasos no saturados con una clara acción antibacteriana. Los pulmones, intestino y vías genitourinarias son

clasificados en el sistema de defensa externa ya que en estos lugares, los microorganismos todavía no han franqueado la más externa de todas las barreras anatómicas del organismo. Los cilios, como las estructuras respiratorias, crean corrientes para eliminar el polvo, el polen u otros agentes. En el estómago se secreta ácido clorhídrico para elevar el pH (Barret 1972).

La segunda barrera que se encuentran los microorganismos después de la piel y las mucosas son una serie de células, como son los macrófagos y los micrófagos de la sangre y la linfa que conducen a la respuesta inflamatoria. La respuesta inflamatoria (inflamación) es parte de la inmunidad innata y se presenta cuando los tejidos son lesionados por bacterias, trauma, toxinas, calor o cualquier otra causa. Las sustancias químicas incluyendo histamina, bradiquinina, serotonina y otras son liberadas por el tejido dañado y hacen que los vasos sanguíneos derramen líquido en los tejidos, lo que deriva en una inflamación localizada. Esto ayuda a aislar la sustancia extraña del contacto con otros tejidos corporales (Hurd 2006).

b. Factores de defensa interna.

El sistema inmunológico incluye ciertos tipos de glóbulos blancos, al igual que sustancias químicas y proteínas en la sangre (como proteínas del complemento e interferón), algunas de las cuales atacan directamente a las sustancias extrañas en el cuerpo y otras trabajan juntas para ayudar a las células del sistema inmunológico. La fagocitosis es probablemente el factor más importante de la defensa interna del animal inmune (Barret 1972). Las sustancias químicas también atraen a los glóbulos blancos que se "comen" a los microorganismos y células muertas o dañadas. El proceso por el cual estos glóbulos blancos rodean, sumergen y destruyen las sustancias extrañas se llama fagocitosis y las células son colectivamente llamadas fagocitos, las cuales finalmente mueren. Dentro de ellos se pueden citar a los neutrófilos (el 60% de los leucocitos circulantes), que una vez localizada la lesión atraviesan las paredes capilares y fagocitan o destruyen a los microorganismos gracias a la liberación de múltiples enzimas hidrolíticas. Otras células fagocíticas son

los leucocitos basófilos y eosinófilos. Los primeros liberan histamina, para aumentar la respuesta inflamatoria y están además relacionados con los procesos alérgicos; de los eosinófilos no se conoce con exactitud su función, pero suelen estar presentes en infecciones ocasionadas por parásitos internos. Los monocitos llegan a la zona infectada después de los neutrófilos y una vez allí se convierten en macrófagos con propiedades ameboides y fagocíticas. Estos monocitos se localizan en el bazo, en los ganglios linfáticos, en el hígado y en los pulmones donde se encargan de la eliminación de los patógenos presentes en estos órganos, que han conseguido superar las primeras barreras (Peper 2000).

2.2.2 Inmunidad adquirida.

Por inmunidad adquirida se entiende la que desarrolla el animal durante su vida. Es llamada también inmunidad adaptativa o específica y permite una respuesta inmunitaria mayor, así como el establecimiento de la denominada memoria inmunológica, donde cada patógeno es recordado por un antígeno característico y propio de ese patógeno en particular (Peper 2000).

Se basa frecuentemente en sustancias humorales circulantes, como el interferón o los anticuerpos, pero también pueden tener origen celular, relacionándose más estrechamente con la respuesta de hipersensibilidad tardía y las actividades de macrófagos (Barret 1972).

La inmunidad adquirida puede dividirse en activa o pasiva. A su vez, la inmunidad activa y pasiva se pueden dividir en dos categorías, según la inmunidad se haya adquirido por medio natural o artificial (Iañez 1999).

a. Inmunidad adquirida activamente.

Es la resistencia inducida después de contacto efectivo con antígenos extraños, es decir, el individuo sintetiza sus propios anticuerpos. Y se ha demostrado que es de larga duración (Leva et al 2006).

Cualquier infección, grave o subclínica, produce después de la curación cierto grado de inmunidad activa adquirida en forma natural. Durante la enfermedad el individuo recibe un estímulo antigénico que inicia la producción de anticuerpos contra el agente patógeno específico. Durante un segundo contacto con este mismo agente o un microbio antigénicamente similar, los anticuerpos están presentes y ayudan a la defensa del organismo (Barret 1972).

La inmunidad debida a inyección se considera adquirida artificialmente, pues corresponde a una maniobra que realiza el hombre. En la actualidad se emplean ampliamente cepas muertas o atenuadas de bacterias y virus para inmunizar contra muchas enfermedades. Las vacunas atenuadas contienen microorganismos vivos, pero debilitados, de manera que produzca una infección muy leve, sin peligro para el huésped, que tiene la ventaja de producir una variedad de inmunidad mucho más duradera que las vacunas muertas (Barret 1972).

Los toxoides, ósea los venenos de algunas bacterias, destoxificados, pero todavía antigénicamente activos, constituyen también excelentes antígenos (Iañez 1999).

b. Inmunidad adquirida pasivamente.

El individuo recibe anticuerpos de otro individuo. Es generalmente de corta duración, desde unos pocos días a algunos meses (Leva et al 2006). La inmunidad pasiva también puede ser adquirida por medios naturales o artificiales. La inmunidad pasiva suele designar, el paso transplacentario de anticuerpos de la madre al feto, durante el embarazo. El fenómeno se debe principalmente a la IgG, pues la IgM y la IgA no atraviesan la placenta. El calostro contiene la IgA secretoria, IgM e inmunoglobulinas pero muy pocas IgG. Puesto que el sistema digestivo del recién nacido todavía no

esta maduro, pueden absorber directamente estas inmunoglobulinas por el intestino. Incluso si no se absorben, estos anticuerpos pueden cubrir pasivamente el tubo digestivo del lactante, protegiéndolo contra infecciones intestinales. Por inmunidad pasiva de tipo artificial, se entiende la producción inicial de anticuerpos en algún otro individuo, y la administración de estos anticuerpos por jeringa o aguja. Corresponden a este tipo de inmunización la inyección de suero hiperinmune, antisuero, antitoxina, globulina gamma o suero inmune (Barret 1972) (Ver cuadro A1).

2.2.3 Inmunidad específica

La inmunidad específica constituye la tercera línea de defensa del organismo y está representada por los linfocitos de los que existen dos clases: los linfocitos B (o células B) y los linfocitos T (o células T). Ambos derivan de la misma célula madre de la médula ósea a través de una serie de intermedios y ambos tienen las mismas características morfológicas. Algunos autores incluyen entre los linfocitos las células asesinas naturales (Natural Killer, NK) que se diferencian de los linfocitos B y T en su tamaño ligeramente mayor. Los linfocitos B son los representantes de la llamada inmunidad humoral caracterizada por la secreción de las proteínas llamadas anticuerpos, mientras que los linfocitos T son los representantes de la inmunidad mediada por células ya que ellos atacan directamente a los agentes patógenos destruyéndolos por fagocitosis y digestión (Instituto Bioquímico Biológico 2000).

Según Hurd (2006), la inmunidad específica presenta 6 características de gran importancia (ver cuadro A3):

- **Especificidad:** Se refiere a que la respuesta es específica para distintos antígenos. Esto se logra mediante el reconocimiento de una porción particular del antígeno (epitopo) por parte de un receptor de membrana específico para dicho epitopo en la superficie de un linfocito.
- **Diversidad:** El número total de linfocitos específicos para cada antígeno, llamado repertorio antigénico, es extremadamente enorme. Se ha estimado que un individuo puede discriminar entre 10⁷ y 10⁹ distintos determinantes

antigénicos. Este gran número depende de la variabilidad en la estructura de los sitios de unión de los receptores de los linfocitos.

- **Memoria:** Respuesta a subsecuentes exposiciones del mismo antígeno (respuesta secundaria). La memoria inmunológica se produce por expansión clonal de linfocitos específicos para un antígeno determinado. Esta respuesta secundaria es más rápida, más eficiente y de mayor magnitud que la respuesta primaria.
- **Especialización:** Se refiere al carácter especial y diferente de la respuesta inmune para cada antígeno. Además, tanto la inmunidad humoral como la celular son inducidas por diferentes clases de microorganismos o por el mismo pero en diferentes etapas de la infección.
- **Autolimitación:** Después de todas las respuestas inmunes normales, el sistema vuelve a su estado de reposo basal, también llamado homeostasis. Esto se logra eliminando el antígeno, que es el principal estímulo para la activación linfocitaria. Por otro lado, se estimulan mecanismos de regulación feedback negativo (o retroalimentación negativa) que inhiben la respuesta al antígeno.
- **Tolerancia:** Una de las propiedades más interesantes del sistema inmune. Corresponde a la capacidad de reconocer lo “propio” de lo “ajeno”, respondiendo contra los antígenos externos y no contra el propio organismo. Así, el organismo no se ataca a sí mismo. Esto resulta gracias a la eliminación o inactivación funcional de linfocitos autorreactivos (linfocitos que expresen receptores para autoantígenos). La pérdida de auto-tolerancia conduce a las llamadas enfermedades autoinmunes.

2.2.3.1 Inmunidad celular.

La inmunidad celular es la respuesta específica en la que intervienen los **linfocitos T** en la destrucción de los agentes patógenos. Los linfocitos T atacan y destruyen células propias, tumorales o infectadas (Iañez 1999).

Estos linfocitos actúan gracias a la presencia en la superficie de las células de los llamados receptores de las células T. Existen tres tipos de linfocitos T (Ver cuadro A2), citotóxicos, cooperadores y inflamatorios (Peper 2000).

Según Hurd (2006), el mecanismo de actuación para cada linfocito T es distinto, pudiéndose describir los siguientes:

- **Los linfocitos TH1 o inflamatorios** son activados por las Células Presentadoras de Antígenos (las CPA son células que fagocitan el microorganismo, procesando el antígeno y luego lo presentan sobre su superficie), que presentan el Complejo Principal de Histocompatibilidad (MCH) de clase II (péptidos en su membrana). Sólo son activados los linfocitos TH1 naïve o vírgenes, que tienen el receptor T, complementario al antígeno presentado por las CPA. Estos linfocitos activados se dividen y originan células de memoria y células efectoras armadas, que producen citocinas, provocando la proliferación de los linfocitos TH1, la actividad fagocítica de los macrófagos y, sobre todo, la actividad citotóxica de los linfocitos TCD8.
- **Los linfocitos TH2 o cooperativos** son activados por las Células Presentadoras de Antígenos (CPA), que, en este caso, son linfocitos B. El linfocito B capta un antígeno, lo fagocita y degrada. Posteriormente, se presenta un péptido (13 aminoácidos) perteneciente al antígeno degradado, unido al Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC) de clase II en la membrana del linfocito B. El CHM clase II unido al péptido interacciona con un linfocito TH2 naïve, activándolo. El linfocito TH2 activado produce linfocinas, que actúan sobre los linfocitos B, estimulando su transformación en células de memoria o células plasmáticas.
- **Los linfocitos TCD8 o citotóxicos (LCT)** son activados por células que han sido infectadas por virus. Como consecuencia de la infección, la célula activadora presenta en su membrana el Complejo Principal (Major) de Histocompatibilidad (MHC) de clase I unido a un péptido (10 aminoácidos), perteneciente al antígeno. La activación de este linfocito provoca la formación

y proliferación de células de memoria y células activas. Las células T citotóxicas activas secretan perforina, que es un tipo de proteína que "agujerea" la membrana de la célula infectada. Las perforinas provocan cambios en el equilibrio osmótico, con lo que se produce la lisis celular. También, las células T citotóxicas liberan enzimas hidrolíticas que provocan la muerte celular programada (apoptosis) de la célula infectada.

2.2.3.2 Inmunidad humoral.

En la respuesta específica humoral, las células no atacan directamente a los antígenos, son las proteínas llamadas anticuerpos, liberadas por las células plasmáticas (un tipo especial de linfocito B) las que actúan contra los antígenos (Iañez, 1999).

En la inmunidad humoral interviene los **Linfocitos B**. Los linfocitos B son células mononucleares que maduran en la médula ósea y son los encargados de la producción de anticuerpos. Los linfocitos B son activados por células TH2 (Hurd, 2006).

Al activarse, los linfocitos B proliferan, apareciendo células de memoria y células plasmáticas. Las células plasmáticas liberarán el anticuerpo específico, que provocará la opsonización del antígeno y la fijación del sistema del complemento (Leva et al 2006).

Linfocitos B.

También llamados células B. Se observan células B en la corteza de los ganglios linfáticos, en la zona marginal del bazo, en la médula ósea y en las placas de Peyer del intestino (Tizard 1998).

Los linfocitos B interactúan con el antígeno a través de moléculas receptoras específicas ubicadas en la membrana plasmática. Las moléculas receptoras para el antígeno son las moléculas de IgG (Benacerraf et al 1986).

Receptores de antígenos en las células B.

Los receptores de células B (B cell receptors, BCR), son mediadores de fagocitosis del antígeno, ocasionando su proteólisis, transformación y expresión de fragmentos peptídicos en las moléculas del complejo de histocompatibilidad mayor (major histocompatibility complex, MHC). Las células B tiene dos funciones: en primer lugar, responden al antígeno creando anticuerpos y actúan simultáneamente como transformadoras (procesadoras) de antígeno. El BCR se divide en dos componentes distintos desde el punto de vista funcional, uno de ellos se une al antígeno y el otro envía señal apropiada a la célula B (Tizard 1998).

Células plasmáticas.

Las células plasmáticas (plasmocitos) se originan por la respuesta de los linfocitos B al antígeno. Las células de morfología intermedia entre linfocito y células plasmáticas (plasmablastos) pueden identificarse en las regiones donde ocurre la cooperación entre las células B y T. Las células plasmáticas sintetizan hasta un millón de moléculas de inmunoglobulina por hora, y son secretadas poco después que se forman. La inmunoglobulina producida por una célula plasmática (plasmocito) es de especificidad idéntica al BCR original de la célula B progenitora (Tizard 1998).

Células de memoria.

La respuesta inmunitaria primaria se ve interrumpida por la eliminación de muchas células B y células plasmáticas a través de apoptosis. Cuando las células B y T son activadas y comienzan a replicarse, algunos de sus descendientes se convertirán en células de memoria con un largo período de vida. A lo largo de la vida de un animal, estas células recordarán cada patógeno específico que se hayan encontrado y pueden desencadenar una fuerte respuesta si detectan de nuevo a ese patógeno concreto. Esto es "adaptativo" porque ocurre durante el tiempo de vida de un individuo como una adaptación a una infección por ese patógeno y prepara al

sistema inmunitario para futuros desafíos. La memoria inmunológica puede ser pasiva y de corta duración o activa y de larga duración (Tizard 1998).

2.2.4 Anticuerpos (inmunoglobulinas)

Son moléculas sintetizadas con la estimulación de un antígeno y dotadas de especificidad para estos (Benacerraf et al 1986).

Los anticuerpos pertenecen a un grupo de glucoproteínas denominadas globulinas y por este motivo también se llaman inmunoglobulinas (Ig). Son moléculas formadas por los linfocitos B maduros. Cada molécula de inmunoglobulina consta de 4 cadenas polipeptídicas: dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras. Cada cadena está plegada de tal forma que el conjunto presenta la forma de una Y. La estructura funcional básica de los anticuerpos incluye una porción Fc (o fragmento Fc) por donde se fijan a receptores especiales en diferentes células o a otras moléculas, y dos porciones Fb que se unen a los antígenos. La porción Fc es constante para un determinado tipo de anticuerpo. Los extremos que se unen a los antígenos, en cambio, son muy variables, lo que permite que existan anticuerpos específicos para innumerables antígenos (Tizard 1998) (Ver figura A14).

Las moléculas de anticuerpos se agrupan de acuerdo con las diferencias estructurales pesadas en cinco clases principales: alfa, gamma, delta, épsilon y mu, que define la clase o isotopo de la inmunoglobulina (Tizard 1998).

A las inmunoglobulinas compuestas por dos cadenas pesadas se les conoce con el nombre de: IgG, IgA, IgE, IgD e IgM (Ver anexo 2). Los anticuerpos, de los que existen muchos billones de moléculas, intervienen en la inmunidad mediada por anticuerpos, también denominada inmunidad humoral por tener lugar en el plasma. Su función primordial es unirse a los antígenos constituyendo los complejos antígeno-anticuerpo (Instituto Bioquímico Biológico 2000).

Las funciones que cumplen los anticuerpos son muy distintas (ver cuadro A4). Incluyen la inhibición de la adhesión de microorganismos a las superficies mucosas (IgA, IgG), facilitación de la fagocitosis u opsonización (IgG), bacteriólisis (destrucción bacteriana), activación del complemento (IgG, IgM), neutralización de toxinas (IgG), neutralización de virus (IgG, IgM, IgA), eliminación y destrucción de parásitos (IgE), entre otros.

2.2.5 Antígenos

Son moléculas que al ser introducidas en un sujeto, estimulan la síntesis de anticuerpos específicos capaces de interactuar con ellos y de inducir una respuesta inmune específica (Benacerraf et al 1986).

Químicamente, los antígenos son grandes moléculas, generalmente proteínas, aunque también pueden ser nucleoproteínas (proteínas + ácidos nucleicos), lipoproteínas, glucoproteínas y polisacáridos. Algunas sustancias de tamaño pequeño que pueden inducir reactividad pero no una respuesta inmune se denominan *haptenos* (por ejemplo la penicilina y otros muchos medicamentos que se pueden unir a algunas proteínas dentro del organismo para formar complejos proteicos que tienen actividad antigénica). Las bacterias enteras, los virus o parte de los mismos pueden actuar como antígenos. Otros antígenos son los pólenes, la clara del huevo, los órganos trasplantados y otras muchas sustancias presentes en el medio ambiente. De estos compuestos una parte muy pequeña es la responsable de desencadenar la respuesta inmune. Esta región se denomina *epitopo* o *determinante antigénico* (Instituto Bioquímico Biológico 2000).

2.2.6 Inmunidad contra los parásitos.

Desde el punto de vista inmunológico, un parásito puede considerarse “triumfante”, si se integra al huésped de una manera que no se le considere exógeno. A diferencia de las infecciones breves y agudas que producen las bacterias y virus, las infecciones por protozoarios o helmintos son prolongadas y crónicas, por lo que los parásitos pueden persistir en el huésped durante periodos largos, por lo que muchos de ellos utilizan las vías metabólicas o de control del huésped para sus propios fines (Tizard 1998).

2.2.6.1 Inmunidad específica contra los protozoarios.

La mayor parte de los parásitos son por completo antigénicos, aunque en su adaptación a una existencia parasitaria han desarrollado mecanismos que les permiten sobrevivir en presencia de una respuesta inmunitaria. Así, al igual que otras partículas antigénicas, los protozoarios pueden estimular tanto la inmunidad humoral como la mediada por células. En general, los anticuerpos sirven para controlar la cantidad de parásitos libres en el torrente sanguíneo y en los líquidos hísticos, en tanto que las respuestas inmunitarias mediadas por células se orientan principalmente contra los parásitos intracelulares (Tizard 1998).

Los anticuerpos séricos contra los antígenos de superficie de los protozoarios pueden opsonizarlos, aglutinarlos o inmovilizarlos. Los anticuerpos junto con el complemento y las células citotóxicas pueden matarlos. Algunos anticuerpos (llamados ablastinas) tienen el poder de inhibir las enzimas de los protozoarios de modo que se evita su reproducción (Tizard 1998).

Durante mucho tiempo se creyó que la característica común a muchas infecciones por protozoarios era la premunición (es mejor llamarla “inmunidad coinfecciosa”). Se llama así a la resistencia que se establece una vez que la infección primaria se ha hecho crónica, y que solo resulta eficaz mientras que el parásito persista en el huésped (Tizard 1998).

2.2.6.2 Evasión de la respuesta inmunitaria por los protozoarios.

Los parásitos más importantes de este grupo han desarrollado mecanismos para evadir las consecuencias de las respuestas inmunitarias de sus huéspedes. La inmunosupresión producida por el parásito, puede promover su propia supervivencia, que también a veces suele provocar la muerte de los animales huéspedes por infecciones secundarias, y por ello, no siempre resulta beneficioso para el parásito. Además de la inmunosupresión, los protozoarios han desarrollado dos técnicas diferentes, ambas extremadamente eficaces para evadir la inmunidad. Una de ellas consiste en volverse hipoantigénico o carecer de antigenicidad desde el punto de vista funcional, enmascarándose con los antígenos del huésped y en consecuencia no se les percibe como exógenos. La otra consiste en adquirir la capacidad de alterar pronto y repetidamente sus antígenos de superficie. (Tizard 1998).

Para sobrevivir dentro del hospedador y evadir la respuesta inmune, *Giardia* manifiesta lo que se conoce como variación antigénica. Los trofozoítos se encuentran recubiertos de una determinada proteína de superficie que forma una verdadera interfaz entre el parásito y el medio, y que pertenece a una familia de proteínas denominadas proteínas variables de superficie (Variant-Specific Surface Protein, VSPs). Las *Giardias*, contienen en su genoma un repertorio de entre 150 a 200 genes que codifican estas proteínas, pero solamente una VSP se expresa en la superficie de los trofozoítos en un momento dado. Estas proteínas, a pesar de ser antigénicamente diferentes entre sí y ser heterogéneas en lo que respecta a su tamaño molecular, poseen un dominio transmembrana altamente conservado y una porción carboxilo-terminal citosólica compuesta por sólo cinco aminoácidos (CRGKA). Su región N-terminal es altamente variable (dándole a cada una de estas proteínas la característica de ser antigénicamente diferente), pero todas son ricas en cisteína (Lujan 2006).

Giardia lamblia puede cambiar espontáneamente la expresión de sus VSPs, ya sea en cultivo o en respuesta al ataque inmunológico que estos antígenos inducen. La variación antigénica se acompaña de la pérdida del ARNm del gen que codifica para una determinada VSP con la concomitante aparición de los transcritos derivados de la expresión de una nueva VSP. El mecanismo por el cual los trofozoítos cambian su cubierta de superficie no se conoce, pero se cree que la variación antigénica le permite a la *Giardia* evadir la respuesta inmune del hospedador y por ello producir infestaciones crónicas y recurrentes (Lujan 2006).

Consecuencia adversas de la inmunidad a los protozoarios.

Las respuestas inmunitarias contra protozoarios pueden causar el desarrollo de reacciones de hipersensibilidad. Estas reacciones pueden contribuir de manera relevante a la patogenia de las enfermedades por protozoarios (Tizard 1998).

2.2.7 Vacunación y vacunas.

A los animales se les puede proteger de los agentes infecciosos en dos formas: al exponerlos a antígenos derivados de un agente infeccioso para estimular una reacción inmunitaria protectora, o bien, se le puede administrar un anticuerpo preformado que se haya obtenido de algún sujeto inmune. Ambos procedimientos son formas de inmunización o vacunación (Tizard 1998).

Antes de optar por la vacunación se deben tomar en cuenta dos criterios principales, en primer lugar, debe demostrarse que, de hecho, una respuesta inmunitaria protegerá contra la enfermedad en cuestión, y, en segundo lugar, se debe tener la certeza de que los riesgos de su utilización no superan a los de contraer la propia enfermedad (Tizard 1998).

Existen dos métodos para lograr la inmunización de un animal contra una enfermedad infecciosa:

- **Inmunización pasiva.**

La inmunización pasiva provee un suero con anticuerpos (antisuero) que previenen o curan enfermedades infecciosas. Puede inducirse mediante productos biológicos de origen heterólogo (sueros, antitoxinas) u homólogo (gammaglobulina normal o de tipo hiperinmune específico). Este tipo de inmunidad es temporal y dura apenas unas semanas o meses. También se puede adquirir de manera congénita cuando los anticuerpos son transmitidos por una madre inmune a su cría. Los anticuerpos transferidos de esta manera confieren una protección inmediata, pero como se catabolizan de manera gradual, esta protección se desvanece y el receptor vuelve a ser susceptible a la reinfección (Arredondo et al 1998).

La inmunización pasiva se emplea en aquellas enfermedades para las que no existen antígenos capaces de producir una inmunidad activa (Tizard 1998).

Según Arredondo et al (1998), las sustancias que producen inmunidad pasiva pueden ser:

- a. Antitoxinas.
- b. Gammaglobulina.
- c. Suero hiperinmune
- d. Suero de convaleciente
- e. Sangre entera
- f. Extracto placentario

La inmunización pasiva es usada actualmente para una gran variedad de indicaciones clínicas (Arredondo et al 1998):

1. Deficiencias primarias y secundarias de inmunoglobulinas.
2. Profilaxis contra infecciones debidas a organismos específicos.
3. Tratamiento de infecciones causadas por organismos específicos o toxinas.
4. Tratamiento de enfermedades de etiología desconocida que involucran deficiencias inmunológicas.

- **Inmunización activa.**

La inmunización activa es el proceso de estimular al organismo a producir anticuerpos y otras respuestas inmunes a través de la administración de anticuerpos preformados, ya sea una vacuna o toxoide. La protección que se obtiene por este método no es inmediata, sin embargo una vez establecida es de larga duración y permite la posibilidad de reanudar y reestimar dicha respuesta mediante inyecciones repetidas del antígeno o mediante la exposición a la infección (Tizard 1998).

VACUNAS.

Una vacuna se define como una suspensión de microorganismos vivos, atenuados, inactivados o fracciones del mismo, administradas para inducir inmunidad y prevenir enfermedades infecciosas o sus secuelas (Arredondo et al 1998).

Según Tizard (1998), una vacuna eficaz tiene cuatro propiedades de gran importancia:

1. Las células presentadoras de antígenos deben ser estimuladas para que la procesen de una manera eficiente y para que liberen las interleucinas apropiadas.
2. Tanto las células B como las T deben ser estimuladas para que generen gran número de células de memoria.
3. Deben generar células T auxiliares y efectoras contra varios epitopos en la vacuna.
4. El antígeno debe persistir en los sitios apropiados de los tejidos linfoides, principalmente para que se generen células productoras de anticuerpos durante algún tiempo, y para que la protección persista durante un periodo lo más largo posible.

Vacunas de organismos vivos (atenuadas).

Se llaman vacunas atenuadas las compuestas por microorganismos vivos que han sido mutados artificialmente para lograr que pierdan su virulencia pero conserven su inmunogenicidad. Los microorganismos vivos, en especial los virus, actúan como antígenos endógenos y tienden a desencadenar una respuesta en que predominan las células T citotóxicas. Esta podría ser la respuesta más eficaz ante los virus, pero tiene a ser peligrosa por la virulencia residual (los propios virus de la vacuna pueden producir la enfermedad). Una de las principales ventajas de las vacunas atenuadas es su alta inmunogenicidad, por lo que habitualmente no precisan añadir adyuvantes. La administración de una única dosis suele ser suficiente y mantienen una inmunidad muy duradera (Tizard 1998).

Vacunas inactivadas o muertas.

Pueden contener microorganismos enteros, toxinas modificadas o partículas moleculares. En general provocan una inmunidad menos intensa y duradera que las vacunas con organismos vivos; con frecuencia se necesita añadir un coadyuvante y administrar varias dosis de primoinfección y luego refuerzos repetidos. La principal ventaja radica en su seguridad y no presentan riesgo de contagio a convivientes, ni toda la problemática que conlleva la circulación de los virus atenuados. Los microorganismos inactivados (o desactivados) actúan como antígenos exógenos, se procesan y estimulan respuestas en que predominan células T (Arredondo et al 1998).

Según Arredondo et al (1998), las vacunas inactivadas pueden consistir de:

1. Organismos completos inactivados por calor, formalina, u otros agentes.
2. Proteína purificada o antígenos polisacáridos de organismos completos.
3. Antígenos purificados producidos por organismos genéticamente alterados.
4. Antígenos modificados químicamente, como polisacáridos conjugados a proteínas acarreadoras

Coadyuvantes.

Para que las vacunas con microorganismos inactivados sean eficaces, casi siempre es necesario intensificar la reacción inmunitaria con la administración de un coadyuvante con el antígeno. Los coadyuvantes son esenciales para establecer memoria duradera de los antígenos solubles y favorecen la inmunogenicidad debido a que atrapan a los antígenos en sitios donde permanecen accesibles a los linfocitos reactivos (Tizard 1998).

Las vacunas con adyuvantes deben administrarse por vía intramuscular profunda; la inyección subcutánea o intradérmica puede producir inflamación local, formación de granuloma o necrosis (Arredondo et al 1998).

Cuando se inyecta al animal, esta mezcla forma un foco o depósito. Entre los coadyuvantes formadores de depósito están las sales de aluminio, como el hidróxido, su fosfato y el sulfato de aluminio y potasio. Cuando el antígeno se mezcla con una de estas sales y se inyecta a un animal, se forma un granuloma rico en macrófagos en los tejidos, por lo que el antígeno dentro de este granuloma se libera con lentitud, de modo que proporciona un estímulo antigénico prolongado (Tizard 1998).

Un método distinto para formar un depósito consiste en incorporar el antígeno en una emulsión de agua- aceite conocida como coadyuvante incompleto de Freund. El aceite estimula una reacción inflamatoria crónica de tipo local y en consecuencia, se forma un granuloma o absceso alrededor del sitio de inoculación. El antígeno es expulsado lentamente de la fase acuosa de la emulsión. Así mismo, es posible transportar gotitas de la emulsión oleosa a otros sitios a través del sistema linfático. Si se incorpora un bacilo tuberculoso muerto (*Mycobacterium tuberculosis*) a la emulsión agua-aceite, la mezcla se denomina coadyuvante completo de Freund (Freund's complete adjuvant, FCA) y este es sumamente potente. El FCA además de formar un depósito, el bacilo tuberculoso contiene un compuesto llamado muramildipéptido (MDP), el cual al actuar en los macrófagos estimula la producción de interleucina 1 (IL-1). La IL-1 estimula la respuesta de las células T auxiliares y de

este modo intensifica la inmunidad. La FCA trabaja mejor cuando se administra por vía subcutánea o intradérmica y cuando la dosis de antígeno es relativamente baja (Tizard 1998).

Vacunación fallida.

Existen muchas razones por las cuales una vacuna no logra conferir inmunidad protectora a un animal, ya sea porque contiene una cepa equivocada de microorganismos, por que los antígenos no son los apropiados, por que el método de fabricación destruyó los epitopos protectores, o simplemente por que la vacuna contenía cantidades insuficientes de antígenos. Una segunda categoría se debe a la supresión de la respuesta inmunitaria normal; así, los animales muy parasitados o desnutridos pueden tener inmunosupresión y no deben vacunarse. Algunas infecciones virales, el estrés en general, incluyendo la gravidez, la temperatura extrema o la fatiga hacen que disminuyan las respuestas inmunitarias. La causa más importante de este tipo de vacunación fallida se debe a la presencia de inmunidad pasiva procedente de la madre en crías de poca edad (Tizard 1998).

Las vacunas contra parásitos plantean extremadas dificultades. Las razones son varias, pero quizás la cuestión principal radique en que las propias parasitosis naturales evocan una pobre reacción inmunitaria. Además, los parásitos son muy polimórficos y presentan ciclos vitales con importantes variaciones antigénicas (Arredondo et al 1998).

2.3 GIARDIA VAX

Existen pocos reportes de estudios con vacunas contra *Giardia spp*, a pesar del gran interés que existe en el uso de un enfoque inmunoprolifático para controlar la enfermedad.

La inmunoprolifaxis ofrece un método para controlar la infección en poblaciones de alto riesgo, ya sea sintomática o asintomática. Una vacuna efectiva debe ayudar a romper la transmisión fecal-oral y la que ocurre a través del agua de bebida reduciendo la contaminación ambiental (Olson 1998).

Giardia Vax es la primera vacuna contra giardiasis canina acreditada en los Estados Unidos (Ver figura A13). Se ha agregado a la línea de vacunas existentes para caninos, para ayudar a los veterinarios en la prevención de esta enfermedad cuya incidencia es relativamente alta. Tiene el potencial de ayudar a una gran parte de los propietarios cuyos perros son expuestos a esta amenaza (Olson et al 1998).

La vacuna está indicada para perros a partir de las 8 semanas de edad, y es una ayuda para prevenir la enfermedad causada por infecciones por *Giardia lamblia*.

Ha sido probada para prevenir los signos clínicos causados por el protozooario y reducir considerablemente la incidencia, severidad y duración de la liberación de quistes. Subsecuentemente a la exposición con *Giardia lamblia*, algunos perros vacunados pueden presentar quistes en las heces, pero estos serán no viables (Olson et al 1998).

No existen reportes del uso de la vacuna contra *Giardia lamblia* como agente inmunoterapéutico (Olson et al 1998).

Giardia Vax, esta compuesta por trofozoítos cuantificados, homogeneizados y químicamente inactivados (Olson et al 1998).

La dosis indicada es 1 ml (dosis única) por vía subcutánea, con refuerzos de 2 a 4 semanas después. Se recomienda la revacunación anual (Olson et al 1998).

En El Salvador, la vacuna se encuentra legalizada desde junio del año 2003^{1/}; pero debido a falta de estudios que demuestren su efectividad, esta no ha sido implementada en la práctica rutinaria en la clínica de menores.

^{1/} Velasco, R. 2006. Registro de vacuna Giardia Vax en El Salvador. Departamento de Registro y Fiscalización. Ministerio de Agricultura y Ganadería. (Entrevista). El Salvador.

2.3.1 Respuesta Inmune contra *Giardia*

Estudios realizados por Olson et al (1998) demuestran que la inmunidad humoral es importante en la eliminación de los trofozoítos de *Giardia* del intestino del huésped. En humanos con la infestación natural y en ratones infestados experimentalmente, se observan anticuerpos IgM específicos contra *Giardia* en el suero y en la mucosa intestinal aproximadamente diez días después de la infestación. Además, los niveles de IgG e IgA se elevan aproximadamente una semana después, indicando que es posible que estos antígenos se reconozcan desde el principio de una infestación. El sistema inmune celular no desempeña un papel directo en la eliminación del parásito.

Los trofozoítos presentes en el intestino delgado durante la fase de eliminación de las infestaciones están recubiertos por IgG e IgA. La presencia de anticuerpos monoméricos sugiere que estos logran entrar al intestino durante el curso de la infestación, ya sea atravesando el intestino dañado o mediante el transporte de inmunoglobulinas (Olson et al 1998).

La muerte de los trofozoítos y quistes de *Giardia* mediada por anticuerpos, es un fenómeno demostrado en animales vacunados, donde estos tienen un efecto citolítico sobre los quistes o la inactivación de los trofozoítos en vías de enquistamiento. La lisis de los trofozoítos se demostró 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 trofozoítos en vías de enquistamiento da como resultado la formación de quistes no viables (Olson 1996).

2.3.2 Antígenos de *Giardia*.

Ciertos antígenos bien caracterizados son la giardina, las proteínas ricas en cistina, las proteínas del citoesqueleto, las lectinas proteicas de superficie y las proteínas solubles de alto peso molecular (Olson et al 1998).

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 (Olson et al 1998).

En estudios realizados por Olson (1996), los huéspedes infectados natural y experimentalmente y los animales inmunizados con preparaciones de células completas, reconocieron a los antígenos comunes de una amplia variedad de aislamientos de *Giardia*, lo cual sugirió 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.

A lo largo de las superficies dorsal y ventral de los trofozoítos se encuentran vacuolas lisosomales, las cuales no se han caracterizado bien todavía pero contienen enzimas hidrolíticas y posiblemente otras moléculas que podrían actuar como toxinas al ser secretadas a la luz intestinal. La *Giardia* puede 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.

2.3.3 Vacuna contra *Giardia*.

En estudios realizados por Olson *et al* (1998), 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.

Se demostró que después de desafiar mediante inoculación intraduodenal de trofozoítos a perros y gatos, después de la aplicación por vía subcutánea de una vacuna compuesta de 150 mg de proteína obtenida del rompimiento de trofozoítos de *Giardia duodenalis* cultivados axénicamente, se disminuyó la proporción de animales que diseminaron quistes. El número de quistes expulsados en las heces, su diseminación y viabilidad se redujo del 99 al 38%; esto podría atribuirse a los efectos citotóxicos directos de los anticuerpos sobre los quistes o a la inactivación de los trofozoítos durante el proceso de enquistamiento. La vacunación produjo respuestas de IgG e IgA específicas en el suero y en la mucosa, que fueron significativamente mayores que las producidas en los animales no vacunados e infectados.

Estos estudios mostraron que la vacunación tiene el potencial de proteger a los perros y a los gatos contra la infección y contra los signos clínicos y generaron el desarrollo de la vacuna comercial *Giardia Vax*.

2.4 TEST SNAP *GIARDIA*.

Utiliza la fiable tecnología ELISA, lo que permite a la clínica obtener un diagnóstico sencillo y exacto en sólo ocho minutos (IDEXX laboratories, Inc. 2003).

Una ventaja que presenta es que se necesita una única muestra en comparación a las tres que son necesarias para la microscopía.

Es el único test para uso en clínica que detecta el antígeno soluble de *Giardia* en las heces de perros y gatos, es decir, el antígeno que no se encuentra asociado ni a la pared del quiste ni al trofozoito (ver anexo 4). Esto es lo que permite que la sensibilidad sea mucho más alta que las técnicas de microscopía, ya que la prueba posee 92% de sensibilidad y 99% de especificidad (IDEXX laboratories, Inc. 2003) (ver imagen A15).

El kit del Test SNAP *Giardia* es un inmunoensayo enzimático rápido diseñado para la detección del antígeno de *Giardia* en las heces de perros y gatos. La presencia de este antígeno en las muestras de heces indica que el animal ha ingerido quistes, y que este presenta una infección activa o está eliminando quistes por las heces (IDEXX Laboratories, Inc. 2003).

Cada kit contiene:

Artículo	Reactivo	Cantidad	
		5 pruebas	15 pruebas
1.	Dispositivos de conjugado / hisopo	5	15
	Reactivos contenidos en cada dispositivo: Anti- <i>Giardia</i> : Solución de conjugado de peroxidasa (contiene gentamicina como conservante)	0.7 ml	0.7 ml
2.	Dispositivos SNAP	5	15
	Reactivos contenidos en cada dispositivo: Solución de sustrato	0.6 ml	0.6 ml
	Solución de lavado	0.4 ml	0.4 ml

2.4.1 ELISA.

La técnica inmunoenzimática ELISA (Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay) forma parte de aquellas reacciones serológicas que utilizan conjugados para poder visualizar la reacción antígeno-anticuerpo (Sánchez-vizcaíno 2004).

Se basa en el uso de anticuerpos marcados con una enzima (generalmente la peroxidasa), de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática. Al estar uno de los componentes (antígeno ó anticuerpo) insolubilizados sobre la placa, la reacción antígeno-anticuerpo quedará inmovilizada y por tanto podrán fácilmente ser revelada mediante la adición del sustrato, que al actuar sobre la enzima producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante un colorímetro (Sánchez-vizcaíno 2004).

Las 4 fases de un ensayo ELISA son las siguientes:

1. Conjugación del anticuerpo con un enzima (peroxidasa, fosfatasa alcalina, entre otras). El anticuerpo conjugado a la enzima se emplea en los ensayos directos, indirectos o sándwich.
2. Unión de los anticuerpos a los pocillos. Se realiza con facilidad en la superficie de plásticos tratados que tienen gran afinidad por proteínas.
3. Formación de una o más capas de inmunocomplejos.
4. Revelado de la reacción enzimática. Después de un lavado para eliminar todas las moléculas marcadas no fijadas en forma de inmunocomplejos se añade el sustrato enzimático en solución. Se deja reaccionar y se lee.

Existen muchos kits comerciales disponibles y por tanto pueden realizarse estudios serológicos sin necesidad de grandes medios.

Según Sánchez-vizcaíno (2004), se han adaptado varios tipos del método ELISA tanto para la determinación de antígenos como de anticuerpos. La modalidad más frecuente para la determinación de antígenos, es el modelo ELISA "Sandwich". En esta forma, la placa suele ya venir con un anticuerpo fijado (monoclonal ó policlonal) frente al antígeno problema, sobre el que se añadirá el macerado del órgano sospechoso, que en caso de reaccionar con el anticuerpo de la placa será puesto en evidencia tras la adición del segundo anticuerpo marcado con la enzima. Por último, se añade el sustrato para revelar la reacción.

Técnica utilizada en Snap *Giardia* (IDEXX laboratorios, Inc. 2003) (ver imagen A16):

1. El antígeno queda fijado cuando el anticuerpo anti - antígeno (anti – *Giardia*) conjugado ligado a la enzima y la muestra fecal se combinan.
2. La matriz ha sido previamente tapizada con anticuerpos específicos frente al antígeno.
3. El conjugado y el antígeno se unen al anticuerpo ligado a la matriz formando un "sándwich".
4. Se activa el dispositivo.
5. El proceso de lavado elimina de la matriz las uniones inespecíficas, el conjugado no ligado y los restos de materia fecal.
6. El sustrato fluye por la matriz limpia; esto da lugar a un color azul que se amplifica cuando el sustrato reacciona con el conjugado, lo que incrementa las posibilidades de detectar a los animales positivos.

2.5 MEDIO DE CULTIVO TYI-S-33.

En el diagnóstico clínico, el cultivo de los protozoarios parásitos no juega un papel importante, ya que la microscopía sigue siendo la técnica de elección para la identificación de la mayoría de ellos. Aunque no es posible el cultivo *in vitro* de todos los protozoarios parásitos, algunos de ellos se pueden aislar y cultivar (Clark y Diamond 2002).

Las técnicas de cultivo de protozoarios son importantes para la investigación de las especies de dichos organismos. Actualmente, son utilizadas para el estudio *in vitro* de los parásitos desde diferentes puntos de vista. El cultivo es un prerrequisito para estudios que requieren un gran número de células, por ejemplo en pruebas de antiparasitarios, estudios antigénicos o de biología molecular, entre otros (Clark y Diamond 2002).

Hay tres tipos básicos de sistemas de cultivo (Clark y Diamond 2002):

- a) xénico, en el cual el parásito es cultivado en presencia de una flora indefinida.
- b) monoxénico, en el cual el parásito es cultivado en presencia de una sola especie adicional
- c) axénico, en el cual el parásito es cultivado en ausencia de cualquier organismo.

El término "polixénico" algunas veces es usado erróneamente como un sinónimo de xénico. El término polixénico debe referirse solamente a cultivos en los cuales es conocida la identidad de todas las especies presentes.

Solo los trofozoítos del grupo de *Giardia lamblia* han podido ser cultivados axénicamente *in vitro*, utilizando el medio de Diamond TYI-S-33 (Ver anexo 5). Este, además de utilizarse para lograr aislamientos con fines diagnósticos, se ha empleado con buenos resultados para realizar ensayos de susceptibilidad a diversas drogas. *Giardia*, ha presentado una temperatura óptima de incubación de 37°C. Se conoce

que el crecimiento y supervivencia del microorganismo en el medio de cultivo dependen del pH y densidad del inóculo, además de ser determinante la disponibilidad de nutrientes, con un límite de supervivencia dentro del medio de aproximadamente 48 horas. Se observa el medio diariamente por una semana, luego cada dos días. Si los primeros días no existe presencia de trofozoitos, se considera un cultivo negativo. Muchas veces los trofozoitos se adhieren a las paredes del frasco de vidrio por lo que se debe mezclar el medio antes de tomar la muestra que será observada (Clark y Diamond 2002).

2.6 EXQUISTACIÓN Y ENQUISTACIÓN IN VITRO DE GIARDIA SPP.

La exquistación *in vitro* de *Giardia lamblia* puede ser inducida utilizando soluciones ácidas que imitan las condiciones del estómago. El pH óptimo para este proceso es de 1,3-4. Sin embargo, la exquistación de *G. lamblia* y *G. muris*, también ocurre a pH 7,5 en tampón fosfato con bicarbonato, indicando que el pH ácido no se requiere obligatoriamente para la exquistación. La citoquinesis de la exquistación es rápida. Se inicia a los 5–10 min de someter los quistes a condiciones de exquistación, completándose en los 30 min siguientes y dando origen a dos trofozoítos binucleados (Cañete et al 2000).

El análisis del estado de diferenciación del parásito indica que la enquistación *in vivo* de los trofozoítos se inicia en el íleon terminal y es casi exclusivo del intestino grueso (Bennett 2006).

Un método para inducir *in vitro* la enquistación a partir de trofozoítos mantenidos en cultivo axénico, para la formación de quistes viables, es la adición al medio TYI-S-33 de sales biliares o bilis a alta concentración (Cañete et al 2000).

Se ha demostrado que el estímulo que induce la enquistación de *Giardia*, tanto *in vitro* como *in vivo* es la ausencia de colesterol, ya que la adición de colesterol al medio bloquea la enquistación. Aunque el mecanismo no es conocido, se piensa que la deficiencia de colesterol altera la permeabilidad de las membranas de los trofozoítos y directa o indirectamente se pueden activar una serie de mecanismos de transducción que culminan en la expresión de los genes específicos de la enquistación. (Cañete et al 2000).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El alto nivel de contaminación por heces en agua y alimentos destinados al consumo, contribuye a la prevalencia de enfermedades parasitarias importantes por su riesgo zoonótico como lo es la giardiasis. Este factor, ha producido el incremento de transmisión de esta parasitosis de animales a humanos o viceversa.

4. JUSTIFICACION.

Debido a la presencia de enfermedades gastrointestinales en cachorros, ocasionadas por *Giardia lamblia*, diagnosticadas clínicamente en veterinarias y confirmadas por laboratorios de diagnóstico clínico, es que se pretende reducir los efectos clínicos patológicos en el huésped y las posibilidades de contagio hacia sus propietarios o viceversa, con el uso de la vacuna contra *Giardia lamblia*.

El mayor riesgo de contraer la infestación por este protozoario, ocurre en los países en vías de desarrollo y en las sociedades en desventaja, debido al aumento en el número de habitantes humanos y animales, donde hay una mayor oportunidad de transmisión directa e indirecta de la enfermedad.

Los caninos que denotan una parasitosis por *Giardia lamblia*, presentan un riesgo zoonótico, por lo que se hace necesario el establecimiento de programas educativos para prevenir la posibilidad de contagio, especialmente a la población infantil.

Uno de los factores más importantes para el desarrollo de esta parasitosis, es la edad; por lo tanto, los animales comprendidos entre 1 y 8 meses de edad son los más receptivos a la infestación por *Giardia lamblia*, independientemente de la raza y el sexo, por que carecen de experiencia inmunológica y son más proclives a la ingestión de materia fecal. En general un buen estado sanitario, nutricional e inmunológico, previene en cierta medida la aparición de la parasitosis. De igual

manera situaciones de estrés, procesos patológicos o carenciales favorecen el asentamiento del parásito y su posterior desarrollo (Belligotti 2005).

En El Salvador, no existen antecedentes de productos que generen inmunidad contra *Giardia*, por lo que se decidió realizar este estudio, para la evaluación y verificación de la eficacia de la vacuna Giardia Vax, y así poder presentar una alternativa al médico veterinario y a los propietarios de los cánidos, para el control de dicha enfermedad.

Si se demuestra la efectividad de la vacuna, esta sería incluida en los planes sanitarios de rutina en las diferentes veterinarias del país, pues se comprobaría que su uso estimula al huésped para resistir o eliminar rápidamente este parásito. Esta sería una solución efectiva a largo plazo para el control de esta enfermedad parasitaria, ya que el fin del médico veterinario es lograr mantener la salud de los seres humanos a través de una buena salud animal.

5. HIPOTESIS CIENTIFICA

“La vacuna contra *Giardia* produce inmunidad adquirida efectiva en cachorros de *Canis domesticus* comprobado bajo la infestación directa experimental de los mismos”

6. OBJETIVOS DE INVESTIGACION

6.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la efectividad de la vacuna Giardia vax a partir del desafío experimental a cachorros de *Canis domesticus* con quistes de *Giardia lamblia*, con el fin de prevenir la giardiasis en esta especie animal.

6.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Comprobar por medio de análisis coproparasitológico, inmunodiagnóstico y síntomas clínicos que al aplicar la vacuna se reduce el riesgo de infestación.
- Elaborar un medio de cultivo específico para *Giardia lamblia*, que pueda ser utilizado en investigaciones posteriores.
- Evaluar la no viabilidad de los quistes expulsados por las heces post vacunación, a través de la siembra de los mismos en medio de cultivo específico para *Giardia lamblia*.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 MATERIALES

Materiales	Cantidad
Jeringas (caja x100)	1
Agua (mensual)	1
Luz(mensual)	1
Deposito para alimento	24
Deposito para agua	24
Escobas	2
Pala	2
Detergente (Kg.)	10
Cal pura (lb.)	50
Lejía(galón)	3
Bolsas plásticas (paquete x 12 bolsas)	4
Microscopio	1
Pipetas automáticas	1
Puntas descartables	1
Incubadora	1
Macrocentrífuga	1
Servicio de desechos biológicos (mensual)	2
Mascarillas (caja x 100)	1
Guantes (caja x 100)	1
Jaulas para cachorros	24
Botas de hule (pares)	1
Materiales y reactivos	Cantidad
Examen de heces	144
Test Snap <i>Giardia</i>	48
<i>Giardia</i> vax	24
Desparasitante (fco)	1
Desparasitante (caja x 4 tabletas.)	3
Vacuna doble	24
Vacuna quintuple	24
Galón de shampoo	1
Concentrado cachorro (35 lb.)	6
Frascos para medio de cultivo	12

Fosfato de potasio dibásico (gr)	1
Fosfato de potasio monobásico (gr)	0.6
Cloruro de sodio (gr)	2
Casein digest peptone (gr)	20
Extracto de levadura (gr)	10
Glucosa (gr)	10
L-cisteine hidroclorehidrico (gr)	1
Acido ascórbico (gr)	0.2
Citrato de amonio férrico (brown form) (mg)	22.8
Niacina (mg)	40
Acido aminobenzoico (mg)	180
Nicotinamida (mg)	40
Pyridoxal hidroclorehidrico (mg)	40
Pyridoxina (mg)	80
Pantotenato de calcio (mg)	25
Cloruro de colina (mg)	830
I-inositol (mg)	125
Thiamina hidroclorehidrica (mg)	25
Vitamina b12 (mg)	12
Riboflavina (mg)	25
Acido fólico (mg)	30
D-biotina (mg)	30
DL-6,8-acido thiotico (mg)	100
Ethanol 95% (ml)	50
Tween 80 (gr)	5
Menadione sodium bisulfite (mg)	30
Acetato de tocoferol (mg)	25
Suero bovino (ml)	100
Agua destilada (ml)	2700
Cloruro de sodio 1N (ml)	1000

7.2 METODOS.

7.2.1 Ubicación, duración y unidades experimentales.

El estudio se realizó en el período comprendido del 16 de Enero al 09 de Abril del presente año. Estuvo ubicado en Cantón San Juan Nahuistepeque, callejón La Sirena, Finca San Lázaro. San Pedro Nonualco, Departamento de La Paz. (Local arrendado y adaptado para la realización del experimento).

Se utilizaron 24 cachorros (*Canis domesticus*) de raza criolla entre 6 - 16 semanas de edad, que se distribuyeron al azar entre perros vacunados y testigos. El grupo vacunado incluyó 12 cachorros al igual que el grupo testigo. Estos fueron alimentados con raciones iguales de alimento concentrado para cachorros. Se comenzó con media taza de alimento distribuido en tres porciones al día, esta medida se fue incrementando conforme fueron aumentando de peso y tamaño los cachorros. Cada espécimen en estudio fue alojado en una jaula que contaba con depósito privado para agua y comida.

7.2.2 Metodología de campo.

- a. Se reunieron los cachorros de diversas camadas (Ver figura A17).
- b. A cada uno se les practicó exámenes coproparasitológicos para asegurar la ausencia de *Giardia lamblia* u otros parásitos. A cada cachorro se le realizaron tres análisis con un intervalo de 72 horas, además de una prueba inmunocromática, Test SNAP® *Giardia* para descartar presencia de antígenos (ver figura A18).
- c. Los sujetos de estudio que no presentaron *Giardias* ni antígenos en heces, fueron seleccionados para la prueba experimental; aquellos que presentaron otros parásitos, fueron tratados utilizando desparasitantes específicos y a los 15 días se repitió el proceso (Ver figura A19).
- d. Los 24 cachorros fueron distribuidos aleatoriamente en dos lotes con 12 animales cada uno separados completamente y con jaulas individuales para cada perro. El lote N° 1 fue el grupo vacunado y el lote N° 2 el no vacunado, ambos grupos fueron infestados con quistes de *Giardia lamblia* vía oral (Ver figura A20).

- e. El lote N^o 1 fue vacunado con Giardia Vax el día primero del ensayo. El día quince se aplicó revacunación. El lote N^o 2 fue utilizado hasta el día 45 del experimento (Ver figura A21).
- f. Se aislaron los trofozoitos de *Giardia lamblia* de un caso clínico confirmado por diagnóstico coproparasitológico (técnica de concentración de quistes) en el laboratorio. Luego se procedió a realizar un cultivo específico para *Giardia lamblia* (TYI-S-33) (Ver figura A22).
- g. El día 45, los cachorros de ambos grupos (vacunados y testigo) se desafiaron con quistes de *Giardia lamblia* obtenidos del cultivo. Para poder ser administrados se diluyó el medio con solución salina fisiológica, tomando 125 ml del cultivo y colocándolo en 200 ml de solución; cada cachorro recibió un total de 5 ml de la solución de desafío administrada por vía oral utilizando jeringas descartables (ver figura A23).
- h. Se llevó registros cada 72 horas post-infestación del estado de los animales por medio de una hoja clínica (Ver anexo 6).
- i. Después de inoculados, se realizó examen coproparasitológicos cada 72 horas por 3 semanas para asegurar la posibilidad de observar en todos los cachorros la eliminación de los quistes (debido a que en la literatura se menciona que los quistes son expulsados 1 ó 2 semanas después de la infestación); y en el último muestreo se corrió Test SNAP® *Giardia* nuevamente para verificar la presencia o no de antígeno de *Giardia* post-infestación en los animales (ver figura A24).
- j. A los individuos vacunados que presentaron quistes de *Giardia lamblia*, se realizó la siembra de las heces en medio TYI-S-33, para comprobar la no viabilidad de los mismos (Ver figura A25).
- k. Todos los casos positivos del grupo no vacunado, fueron tratados inmediatamente vía oral con Albendazol (25 mg/Kgpv, cada 12 horas por 2 días consecutivos), esto se realizó con el objeto de no ocasionar la muerte de los cachorros no vacunados y evitar así la diseminación de quistes infestantes en el ambiente.

7.2.3 Metodología estadística.

Debido a que el estudio que se realizó es una investigación dirigida, no se aplicó un método estadístico específico.

Las variables a considerar fueron la eliminación de Quistes de *Giardia* en heces de los cachorros vacunados y no vacunados y la presencia de diarrea en ambos grupos. Los datos que resultaron de los coproparasitológicos realizados fueron analizados por medio de una estadística descriptiva, la cuál consistió en porcentaje y gráficos ilustrativos de estos.

8. RESULTADOS.

La protección que confirió *Giardia vax* se midió usando la calificación clínica postdesafío. Dicha calificación se basó en la presencia de los signos de enteritis.

Las variables que se consideraron fueron la eliminación de quistes en heces de los cachorros vacunados y no vacunados y la presencia de diarrea en ambos grupos. (Cuadro 2)

Se consideraron positivos a la infestación por *Giardia lamblia*, todos los cachorros que presentaron signos clínicos, los que eliminaron quistes y los que resultaron positivos al Snap Test *Giardia*.

Cuadro 2. Comparación al desafío experimental con *Giardia* en los perros vacunados y los testigos.

Parámetro	Vacunados	Testigos
Número de Animales	12	12
Animales con diarrea (%)	16.66 (2)	75 (9)
Días con diarrea (de 15 días)	3 - 4	12
Cambio medio de peso corporal (kg).	+ 0.5	+ 0.5
Animales diseminando quistes (%)	8.33 (1)	75 (9)
Viabilidad de los quistes eliminados por heces (%)	0 ^{2/}	100
Cachorros positivos utilizando Snap <i>Giardia</i> . (%)	16.66 (2)	75 (9)

^{2/} comprobado por cultivo de quistes post- vacunales en medio TYI-S-33

Los cachorros del grupo vacunado se mostraron sanos y activos a lo largo del estudio. Al final del periodo se observaron dos cachorros positivos a la infestación por *Giardia lamblia*. Uno de los cachorros (1/12), eliminó quistes en heces, a partir del tercer día post- desafío; además, mostró signos clínicos leves y transitorios como heces pastosas o diarreicas de 2 a 4 días durante el periodo de observación posterior al desafío. Mientras que el segundo caso, fue confirmado con el uso de Test Snap *Giardia*, ya que no presentó eliminación de quistes ni síntomas clínicos de la enfermedad (Cuadro 3, gráfico N°1).

Cuadro 3. Respuesta al desafío experimental con *Gardia lamblia* en los perros vacunados (Lote N° 1)

PERROS POSITIVOS VACUNADOS					
	3º día	6º día	9º día	12º día	15º día
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	1
5	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0
10	0	1	0	1	1
11	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0
TOTAL	0	1	0	1	2

Gráfico nº 1. Cantidad de perros positivos a giardiasis, lote vacunado.



Después del desafío con *Giardia lamblia* la mayoría de los cachorros no vacunados (9/12), mostraron diferentes signos clínicos de la infestación como depresión, heces mucosas, acuosas y vómito. Solamente 3 de los 12 testigos no presentaron ningún síntoma de la enfermedad, por lo que se corrió Snap Test *Giardia*, para descartar la presencia de antígenos de *Giardia* en las heces, obteniéndose resultados negativos de estos tres cachorros. (Cuadro 4, gráfico N° 2)

Cuadro 4. Respuesta al desafío experimental con *Giardia lamblia* en los perros no vacunados (Lote N° 2).

PERROS POSITIVOS NO VACUNADOS					
	3º día	6º día	9º día	12º día	15º día
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	1	0	0	1
4	0	0	0	0	0
5	0	0	1	0	1
6	0	0	1	1	1
7	0	0	0	1	1
8	0	0	1	0	1
9	0	0	0	0	1
10	0	0	0	0	1
11	0	0	0	1	1
12	0	0	1	0	1
TOTAL	0	1	4	3	9

Gráfico nº 2. Cantidad de perros positivos a giardiasis, lote no vacunado.



En ambos lotes, se observó un comportamiento similar durante los primeros 6 días post desafío. A partir del 9º día, en el lote No 2 se observó que la cantidad de cachorros en estudio que presentaban síntomas clínicos de la enfermedad fue aumentando a medida iba avanzando el período post desafío, hasta llegar al día 15 donde se presentó el mayor porcentaje de cachorros (75%) eliminando quistes. En contraposición, en el lote No 1, la cantidad de cachorros que eliminaban quistes (8.33%) se mantuvo a lo largo del período post desafío.

Gráfico nº 3. Cantidad de cachorros eliminando quistes en heces durante la fase de observación.



9. CONCLUSIONES.

Las vacunas contra *Giardia* administradas sistémicamente (vía subcutánea) en el presente estudio, demostraron ser eficaces ya que los cachorros vacunados y desafiados posteriormente, no presentaron sintomatología clínica, ni eliminaron quistes en la heces. El desarrollo de la inmunidad humoral es crucial para que la vacuna sea efectiva, y que las IgG y las IgA producidas sean secretadas desde la mucosa del intestino al lumen de este órgano en cantidades suficientes para disminuir la presencia del parásito.

La inmunoprofilaxis con la vacuna Giardia Vax es benéfica para los cánidos ya que disminuye, y en algunos casos logra evitar la aparición de los signos clínicos como diarrea, pérdida de peso, dolor abdominal y reacciones de hipersensibilidad provocados por el parásito.

Debido a que la *Giardia* es un organismo que presenta reproducción asexual y es funcionalmente haploide, se logró cultivarla axénicamente *in vitro*, en cultivo enriquecido conocido como medio de Diamond o TYI-S-33, sin necesidad de utilizar medios celulares, lo que facilitará futuras investigaciones sobre este parásito.

La vacunación de los animales de compañía puede evitar la contaminación del ambiente, del agua, de los alimentos y el contagio inter e intraespecies. Además, previene la diseminación de quistes potencialmente infestantes por parte del hospedador asintomático hacia el medio ambiente, como se logró comprobar al sembrar los quistes de *Giardia lamblia* eliminados post – vacunación, en medio de cultivo TYI-S-33 y no observarse reproducción. Esto es especialmente importante con respecto a las infestaciones en los animales de vida libre, en donde el control de la exposición es difícil o imposible de manipular.

10. RECOMENDACIONES

Para los médicos veterinarios:

- Se recomienda la implementación de la vacuna Giardia Vax dentro del plan profiláctico de las mascotas, debido a la importancia zoonótica que esta enfermedad presenta.
- Realizar diagnóstico diferencial con ayuda de laboratorios clínicos veterinarios cuando se presente un caso de enteritis, para obtener un diagnóstico confirmativo.
- Informar al cliente sobre la importancia zoonótica de la giardiasis con el fin de poner bajo control medicamentoso a todos los miembros del hogar, principalmente a los niños, mientras se da el tratamiento médico a las mascotas.

Para los dueños de las mascotas:

- Cumplir con las fechas de desparasitación y vacunas con el fin de evitar infestaciones parasitarias.
- No automedicar a las mascotas en casos de diarreas.
- Recoger las heces de los perros con recolectores especiales para evitar el contacto directo, ya que estas son el principal medio de transmisión para ciertas zoonosis.
- Lavarse las manos con agua y jabón después de manipular las heces.

En el caso de perreras o criaderos:

- Llevar un estricto control de salud de cada mascota que habite el él, respetando los planes de vacunación anual.
- Vacunar con Giardia Vax a las madres antes de que nazcan los cachorros.
- Realizar una limpieza con productos que puedan eliminar los quistes de *Giardia*, como amonio cuaternario, por lo menos una vez por semana y permitir que las galeras o jaulas se sequen por acción del sol.
- Recoger las heces por lo menos dos veces al día con el fin de evitar que la coprofagia.

11. BIBLIOGRAFIA.

1. Arredondo, JL; Flores, ME; Galán, JF. 1998. Programa de actualización continúa para el infectólogo. (en línea). 1 ed. México. Editorial intersistemas S.A de C.V. Consultado 18 Myo. 2007. Disponible en www.drscope.com.
2. Belligotti, V. 2005. Giardiasis por Giardia lamblia. (En línea). Argentina. s.e. consultado 13 Abr. 2006. Disponible en <http://www.foyel.com>
3. Benacerraf, B.; Unanue, ER. 1986. Inmunología. 2 ed. Argentina. Editorial Médica Panamericana.
4. Bennett, C. 2006. Veterinary Ectoparasites and Endoparasites. (En línea). London. s.e. consultado 01 Mar. 2007. Disponible en <http://www.seimc.org>
5. Cañete, R.; González, M.; Almirall, P.; Figueroa, I. 2000. Móneras y Protoctistas, Giardia. (En línea). Cuba. s.e. Consultado 8 Abr. 2006. disponible en <http://www.fbio.uh.cu>
6. Clark CG y Diamond LS. 2002. Methods for Cultivation of Luminal Parasitic Protists of Clinical Importance. (En línea). México. s. e. consultado 03 Mar. 2007. Disponible en www.uacj.mx.
7. Coffing, DL. 1986. Laboratorio Clínico en Medicina Veterinaria. s.e. México. Ediciones La Prensa Médica Mexicana, S.A.
8. Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. 1999. Giardia en perros y su tratamiento. (En línea). España. Consultado 30 Nov. del 2006. Disponible en <http://www.portalfarma.com>
9. Contreras G. 2004 Giardiasis. (En línea). s.e. consultado 01 de Mar de 2007. Disponible en <http://www.mevepa.cl>.
10. Cordero del Campillo, M.; Rojo Vázquez, FA. 1999. Parasitología Veterinaria, s.e., España. Editorial McGraw Hill.

11. Foreyt, WJ. 2001. *Veterinary Parasitology*. 5 ed. Estados Unidos. Blackwell Publishing
12. Fraser, CM. 1993. *El Manual Merck de Veterinaria*. 4 ed. España. merck & Co. Inc.
13. Gautier, LJ. 2000. *Giardiasis*. (En línea). España. s.e. Consultado 23 Jun. 2006. Disponible en www.diagnosticoveterinario.com
14. Harvey, JW. y Meyer, DJ. 1999. *El Laboratorio Clínico en Medicina Veterinaria. Interpretación y Diagnóstico*. 2 Ed. Argentina. s.e.
15. Hurd, R. 2006. *Inmunología*. (En línea). Estados Unidos. Medline Plus. consultado 16 Abr. 2007. Disponible en www.nlm.nih.gov.
16. Iañez, E. 1999. *Inmunología General*. (En línea). España. s.e. Consultado 16 Abr. 2007. Disponible en www.ugr.es
17. IDEXX Laboratories, Inc. 2003. *Test SNAP® Giardia para perros y gatos*. (En línea). Estados Unidos. s.e. Consultado 15 Abr. 2006. Disponible en http://www.idexx.es/saludanimal/test/giardia_canino
18. IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, CR); CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CR). 2000?. *Redacción de referencias Bibliográficas. Normas Técnicas de IICA y CATIE*. (En línea). 4 ed. Costa Rica. Consultado 23 Jun. 2006. Disponible en <http://orton.catie.ac.cr>
19. Instituto Bioquímico Biológico. 2000. *sistema inmunitario*. (En línea). España. s.e. Consultado 16 Abr. 2007. Disponible en www.iqb.es
20. Jiménez, E.; García LE.; Cortez A. 2002. *Evaluación de la capacidad inmunogénica de la vacuna Giardia-vax utilizando un modelo experimental de giardiasis en Gerbos (Meriones unguiculatus)*. (En línea). México. Universidad

- Nacional de México. Consultado 30 Mzo. 2006. Disponible en <http://scielo-mx.bvs.br>
21. Kucik, C. 2004. Ciclo biológico de Giardia. (En línea). México. s.e. Consultado 26 feb. 2007. Disponible en www.udlap.com.mx
22. Leva, MR.; De Mier, A. 2006 Inmunología. (En línea). España. Ministerio de Educación y Ciencia. Consultado 16 Abr. 2007. Disponible en www.recursos.cnice.mec.es.
23. Lujan, HD. 2006. Giardia y Giardiasis. (En línea). 1 ed. Argentina. s.e. consultado 18 Myo. 2007. Disponible en www.scielo.org.ar.
24. Nuñez, JL. 1987. Fundamentos de Parasitología Veterinaria. 1 ed. Argentina. Editorial Hemisferio Sur.
25. Olson, ME et al. 1998. Preliminary data on the efficacy of Giardia vaccine in puppies. (En línea). s.e. Canadá. Consultado 15 Abr. 2006. Disponible en <http://www.fortdodge.com>
26. Olson, ME.; Ceri, H.; Morck, DW. 1996 The efficacy of Giardia lamblia vaccine in kittens. (En línea). Canadá. s.e. Consultado 15 Abr. 2006. Disponible en <http://www.fortdodge.com>
27. Olson, ME.; Ceri, H.; Morck, DW. 1998. Vacunación contra Giardia. (En línea). Revista N° 20, Fort Dodge Animal Health. Canadá. Universidad de Calgary. Consultado 30 Mzo. 2006. disponible en <http://www.fortdodge.com>
28. Peper, I. 2000. Atlas de Inmunología. (En línea). Chile. s.e. consultado 16 Abr. 2007. Disponible en www.med.uchile.cl
29. Sánchez- Vizcaíno, JM. 2004. Curso de introducción a la inmunología porcina. (En línea). 2º ed. España. Interbionet. Consultado 20 Myo. 2007. Disponible en www.sanidadanimal.info

30. Soulsby, E.J.L. 1988. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7^o ed. México. Nueva editorial interamericana.
31. Stephen, B.C.; Dwight, B.D. 1994. Compendium Continuing Education. (En línea). vol. 16. Nueva York. Colegio de Medicina Veterinaria del Estado de Nueva York, Universidad Cornell, Ithaca, consultado 8 Abr. 2006. Disponible en <http://www.Seleccionesveterinarias.com>
32. Tizard, I.R. 1998. Inmunología Veterinaria. 5 ed. México. Editorial McGraw Hill Interamericana.
33. Uberos, J. 2006. Giardia lamblia: Revisión sobre su patogenia y tratamiento. (En línea). España. s.e. consultado 01 Mar. 2007. Disponible en <http://www.Sepeap.org>

12. Anexos

12.1 Giardiasis a nivel Nacional.

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA Y ASISTENCIA SOCIAL – EL SALVADOR
 UNIDAD DE INFORMACION, MONITOREO Y EVALUACION
 CAUSAS DE MORBILIDAD Y FACTORES QUE INFLUYEN EN EL ESTADO DE SALUD Y
 EN EL CONTACTO CON LOS SERVICIOS DE SALUD- CONSULTA EXTERNA – SEGÚN
 FRECUANCIA, SEXO, CONSULTAS TOTALES, GRUPO DE EDAD, PRIMERA CONSULTA,
 PROCEDENCIA DEL PACIENTE Y CONCENTRACION
 (CIE – 10ª. REVISION)

CONSULTA EXTERNA. GIARDIASIS NIVEL NACIONAL ENERO – DICIEMBRE 2004

EDAD	HOMBRES			MUJERES			TOTALES						
	TOT CONS	1RA CONS	URB	TOT CONS	1RA CONS	URB	CONS	1RA	URB	CONCEN- TRACION	% 1RA	% URB	
1 DIAG < 1 año	A07,1	GIARDIASIS (LAMBLIASIS)											
1 a 4	382	345	191	403	294	220	785	639	411	1,2	81,40%	52,40%	
5 a 14	5644	4817	2741	5003	4212	2388	10647	9029	5129	1,2	84,80%	48,20%	
15 a 44	6612	5935	3325	7028	6269	3200	13640	12204	6525	1,1	89,50%	47,80%	
45 a 59	1939	1772	1194	4519	3817	2099	6458	5589	3293	1,2	86,50%	51,00%	
> de 60	243	222	91	1119	919	463	1362	1141	554	1,2	83,80%	40,70%	
	256	249	89	666	628	246	922	877	335	1,1	95,10%	36,30%	
	total de consultas		33814	total 1ra consulta			29479	concentración 1,1					
	% del total de consultas		100,00%	Acumulado		100,0%	% total de 1ra consulta		100,0%	Acumulado 100,0%			
TOTALES GENERALES													
< 1 año	382	345	191	403	294	220	785	639	411	1,2	81,40%	52,40%	
1 a 4	5644	4817	2741	5003	4212	2388	10647	9029	5129	1,2	84,80%	48,20%	
5 a 14	6612	5935	3325	7028	6269	3200	13640	12204	6525	1,1	89,50%	47,80%	
15 a 44	1939	1772	1194	4519	3817	2099	6458	5589	3293	1,2	86,50%	51,00%	
45 a 59	243	222	91	1119	919	463	1362	1141	554	1,2	83,80%	40,70%	
> de 60	256	249	89	666	628	246	922	877	335	1,1	95,10%	36,30%	
	total de consultas		33814	total 1ra consulta			29479	concentración 1,1					

A.- PRIMERAS CONSULTAS POR CAUSA

CODIGO		No CONSULTAS	%	% ACUMULADO
A07,1	GIARDIASIS (LAMBLIASIS)	29,479	100,00	100,00
	Sub total	29,479	0,00	100,00
	Todas las demás 1ras consultas	0		
	Total general	29,479		

B.- CONCENTRACION POR GRUPO

CODIGO		concentración	%	TOTAL CONSULTAS % ACUMULADO
A07,1	GIARDIASIS (LAMBLIASIS)	1,1	100,00	100,00

C.- TOTAL DE CONSULTAS POR GRUPOS (PRIMERAS + SUBSECUENTES)

CODIGO		No CONSULTAS	%	% ACUMULADO
A07,1	GIARDIASIS (LAMBLIASIS)	33,814	100,00	100,00
	Sub total	33,814	0,00	100,00
	Todas las demás consultas	0		
	Total general	33,814		

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA Y ASISTENCIA SOCIAL – EL SALVADOR
 UNIDAD DE INFORMACION, MONITOREO Y EVALUACION
 CAUSAS DE MORBILIDAD Y FACTORES QUE INFLUYEN EN EL ESTADO DE SALUD Y
 EN EL CONTACTO CON LOS SERVICIOS DE SALUD- CONSULTA EXTERNA – SEGÚN
 FRECUANCIA, SEXO, CONSULTAS TOTALES, GRUPO DE EDAD, PRIMERA CONSULTA,
 PROCEDENCIA DEL PACIENTE Y CONCENTRACION
 (CIE – 10ª. REVISION)
 CONSULTA EXTERNA. GIARDIASIS NIVEL NACIONAL ENERO – DICIEMBRE 2005

EDAD	HOMBRES			MUJERES			TOTALES						
	TOT CONS	1RA CONS	URB	TOT CONS	1RA CONS	URB	CONS	1RA	URB	CONCEN- TRACION	% 1RA	% URB	
1 DIAG	GIARDIASIS (LAMBLIASIS)												
< 1 año	A07,1 295	237	157	116	116	36	411	353	193	1,2	85,90%	47,00%	
1 a 4	4640	4078	2124	4617	3920	2075	9257	7998	4199	1,2	86,40%	45,40%	
5 a 14	6492	5893	2956	5931	5190	2603	12423	11083	5559	1,1	89,20%	44,70%	
15 a 44	1367	1180	731	4175	3702	1956	5542	4882	2687	1,1	88,10%	48,50%	
45 a 59	353	293	204	796	616	290	1149	909	494	1,3	79,10%	43,00%	
> de 60	286	258	137	882	703	476	1168	961	613	1,2	82,30%	52,50%	
	total de consultas		29950	total 1ra consulta			26186	concentración			1,1		
	% del total de consultas		100,00%	Acumulado		100,0%	% total de 1ra consulta		100,0%	Acumulado			100,0%

TOTALES GENERALES

< 1 año	295	237	157	116	116	36	411	353	193	1,2	85,90%	47,00%	
1 a 4	4640	4078	2124	4617	3920	2075	9257	7998	4199	1,2	86,40%	45,40%	
5 a 14	6492	5893	2956	5931	5190	2603	12423	11083	5559	1,1	89,20%	44,70%	
15 a 44	1367	1180	731	4175	3702	1956	5542	4882	2687	1,1	88,10%	48,50%	
45 a 59	353	293	204	796	616	290	1149	909	494	1,3	79,10%	43,00%	
> de 60	286	258	137	882	703	476	1168	961	613	1,2	82,30%	52,50%	
	total de consultas		29950	total 1ra consulta			26186						

A.- PRIMERAS CONSULTAS POR CAUSA

CODIGO		No CONSULTAS	%	% ACUMULADO
A07,1	GIARDIASIS (LAMBLIASIS)	26,186	100,00	100,00
	Sub total	26,186	0,00	100,00
	Todas las demás 1ras consultas	0		
	Total general	26,186		

B.- CONCENTRACION POR GRUPO

CODIGO		concentración	%	total consultas % ACUMULADO
A07,1	GIARDIASIS (LAMBLIASIS)	1,1	100,00	100,00

C.- TOTAL DE CONSULTAS POR GRUPOS (PRIMERAS + SUBSECUENTES)

CODIGO		No CONSULTAS	%	% ACUMULADO
A07,1	GIARDIASIS (LAMBLIASIS)	29,950	100,00	100,00
	Sub total	29,950	0,00	100,00
	Todas las demás consultas	0		
	Total general	29,950		

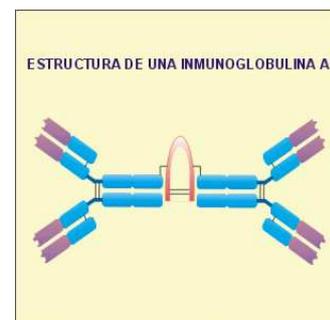
12.2 Antígenos

Los isótopos de inmunoglobulina que se conocen son las inmunoglobulinas **A**, **D**, **E**, **G** y **M**.

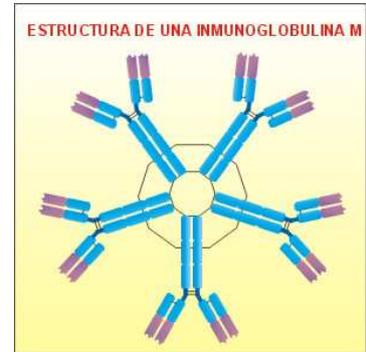
- Inmunoglobulina G: Es la más abundante (80% del total de inmunoglobulinas). Se une rápidamente con macrófagos y neutrófilos, provocando la destrucción del microorganismo. Puede atravesar la barrera placentaria y se secreta en la leche materna. Por ello, es responsable de la inmunidad fetal y la del recién nacido.



- Inmunoglobulina A: corresponde al 13% del total de inmunoglobulinas. Se encuentra específicamente en secreciones serosas y mucosas, como son la leche o las lágrimas. Actúa protegiendo la superficie corporal y los conductos secretores. Genera, junto con la inmunoglobulina G, la inmunidad al recién nacido, al encontrarse en la leche.



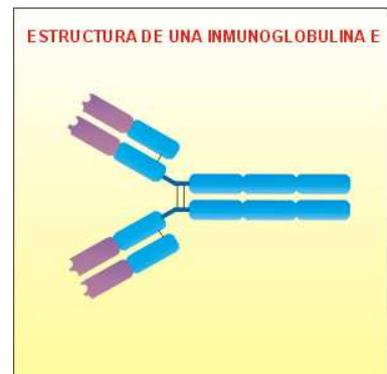
- Immunoglobulina M: representa el 6% del total de inmunoglobulina. Aparece en los linfocitos B unida a su membrana plasmática. Se manifiesta en la respuesta primaria activando el sistema del complemento.



- Immunoglobulina D: aparece en muy baja concentración (1%). Son las primeras inmunoglobulinas sintetizadas por los linfocitos B. Su función puede estar relacionada con la activación de estas células. Su estructura es similar a la estructura de la inmunoglobulina G, aunque varía en la posición de los restos glucosídicos de las cadenas proteicas.



- Immunoglobulina E: se encuentra en concentraciones muy bajas en el suero y secreciones al exterior (0'002%). Sin embargo, su concentración aumenta en los procesos alérgicos.



12.3 Técnica de concentración fecal: Formol / Éter.

Materiales y reactivos:

- Centrifuga
- Tubos de centrifugadora de 15 ml, cónicos.
- Tapones de goma
- Aplicadores de madera (palillos)
- Gasa o colador
- Porta objetos
- Cubreobjetos
- Formol 10%
- Éter
- Solución salina (0.85%)
- Lugol (1%)

Técnica:

1. Añádase con un aplicador 1.0 - 1.5 gr de heces a 10 ml de formol en un tubo y remuévase para obtener una suspensión.
2. Filtrese la suspensión con dos capas de gasa húmedas, pasándolas directamente a otro tubo, deseche la gasa.
3. Añádase 3.0 ml de éter a la suspensión y mezcle bien, tapando luego con un tapón de goma y sacudiéndolo enérgicamente durante 10 segundos.
4. destape el tubo y colóquese en la centrifuga, equilibre los tubos y centrifugue durante 2 a 3 minutos. Hasta lograr la formación de cuatro capas distribuidas así de abajo hacia arriba: un sedimento pequeño que contiene los huevos, quistes, trofozoitos y otros elementos; una capa de formol; un anillo con restos de materiales fecales y el éter en la superficie.
5. Retire el tubo de la centrifuga y descarte su contenido sin miedo.
6. observe el sedimento en el microscopio.

12.4 Test SNAP *Giardia*.

1. Retire el tubo que cubre el dispositivo conjugado/hisopo, y empape toda la punta del hisopo con una fina capa de material fecal. Vuelva a colocar el tubo sobre el hisopo.

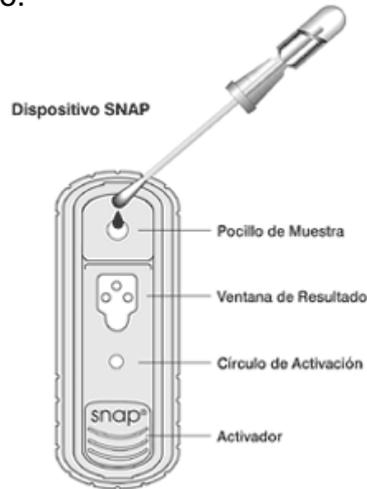


2. Rompa el vástago de plástico situado en el depósito del reactivo, doblando el dispositivo hacia delante y hacia detrás a la altura del cuello. Sujetando el hisopo con la punta hacia abajo, apriete y suelte el depósito tres veces para que la solución del conjugado pase del depósito hasta la punta del hisopo.

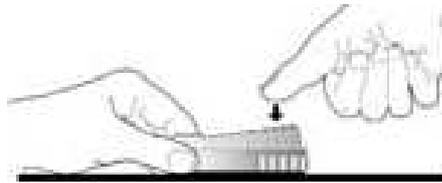


3. Coloque la unidad de SNAP sobre una superficie horizontal. Retire el tubo del dispositivo conjugado/hisopo. Usando el hisopo/depósito como una pipeta, dispense 5 gotas de la mezcla muestra/conjugado en el pocillo de muestra de

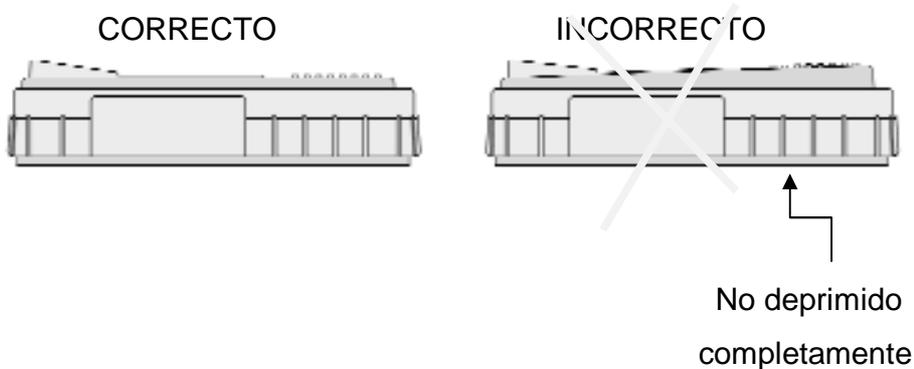
la unidad SNAP. Asegúrese de que el contenido no salpica fuera del pocillo. La muestra fluirá a través de la ventana de resultado, alcanzando el círculo de activación en, aproximadamente, 30-60 segundos. Parte de la muestra se quedará en el pocillo.



En cuanto la muestra empiece a aparecer en el círculo de activación, pulse el botón activador con firmeza hasta que quede alineado con el cuerpo del dispositivo.



NOTA: Puede que alguna muestra no fluya hasta el círculo de activación en esos 60 segundos, con lo que dicho círculo no cambiaría de color. En este caso, pulse el botón activador una vez que la muestra haya fluido a través de la ventana de resultado.



4. Espere 8 minutos y, a continuación, lea el resultado.
NOTA: Puede ocurrir que el punto del control positivo desarrolle antes el color, sin embargo, el test no se habrá completado hasta que no pasen los 8 minutos.

Ejemplos de resultados positivos y negativos

<p>Resultado Negativo</p> <p>El resultado de la muestra es negativo si:</p> <ul style="list-style-type: none">• No se desarrolla color ni en el Punto de la Muestra, ni en el del Control Negativo. - 6 -• El color del Punto de la Muestra es igual al del Control Negativo.	
<p>Resultado Positivo</p> <p>Ag de <i>Giardia</i> El color del Punto de la Muestra de <i>Giardia</i> es más oscuro que el del Control Negativo.</p>	 <p>NOTA: En algunos resultados positivos el color del Punto de la Muestra puede ser de muy baja intensidad.</p>

12.5 Medio TYI – S - 33

a. caldo nutritivo

Para la elaboración del medio de cultivo específico para *Giardia lamblia*, se seguirá la siguiente fórmula:

Disolver en 600 ml de agua destilada o desionizada, en el siguiente orden:

- 1.0 gr. de fosfato de Potasio, bibásico
- 0.6 gr. de fosfato de Potasio, monobásico
- 2.0 gr. de cloruro de sodio
- 20.0 gr. de caseína peptónica digestible
- 10 gr. de extracto de levadura
- 10.0 gr. de glucosa
- 1.0 gr. de L- cysteina hidrociorhidrica
- 0.2 gr. de acido ascórbico
- 1.0 ml citrato de amonioférico, en forma oscura (22.8mg/ml)

Llevar el volumen final a 880 ml y a pH de 6.8 usando 1N de solución de hidróxido de sodio (ca. 7.5 ml).

Repartir 88 ml en frascos de vidrio de 125 ml de capacidad y luego lleve al autoclave por 15 minutos a 121° C con 15 lb. de presión.

La base estéril del TYI puede ser almacenado en congelación a -20°C por varios meses.

b. mezcla de vitaminas.

1. Solución 1a
 - 40 mg de Niacina
 - 180 mg de p- aminobenzoic acid

Disolver en agua destilada y llevar a un volumen de 125 ml.

2. Solución 1b
 - 40 mg Nicotinamide

- 40 mg de Pyrioxal hydrochloride
- 80 mg de pyridoxine
- 25 mg calcium pantothenate
- 830 mg choline choride
- 125 mg de l- inositol
- 25 mg de Thiamine hydrochloride
- 1 mg de Vitamina B12

Disolver en 100 ml de agua destilada, y llevar a un volumen final de 125 ml.

3. Solución 1c

- 25 mg de Riboflavina

Utilizando un agitador magnético, disolver en 100 ml de agua destilada, adicionando gota a gota solución de NaOH 1N, y con agua destilada llevar a un volumen final de 450 ml.

4. Solución 1d

- 30 mg de Folic acid

Utilizando un agitador magnético, disolver en 100 ml de agua destilada, adicionando gota a gota solución de NaOH 1N, y con agua destilada llevar a un volumen final de 450 ml.

5. Solución 1e

- 30 mg de D- biotin

6. Solución 1

Mezclar las 5 soluciones anteriores (a,b,c,d,e). El pH debe ser de 6.5 – 7.0.

7. Solución 2a

- 100 mg de DL-6, 8 – Thiotic acid (oxidized form)
- 50.0 ml de ethanol 95%

8. Solución 2b

- 5.0 gr de Tween 80 (very thick solution, must be weighed)
- 30 mg de menadione sodium bisulfite
- 25 mg de α - tocopherol acetate

Utilizando un agitador magnético, disolver en 100 ml de agua destilada y llevar a un volumen final de 200 ml.

9. Solución 2c

Mezclar la solución 2a y 2b, y con agua destilada llevar a un volumen final de 300 ml.

10. Solución 3.

Mezclar la solución 1 y solución 2c, y con agua destilada llevar a un volumen final de 2,000 ml. Filtrar la solución a través de una membrana filtro con poros de tamaño 0.22 μm .

c. medio terminado

- 870.0 ml. de caldo nutritivo
- 100.0 ml de suero bovino (inactivado a 56°C por 30 minutos)
- 20.0 ml de mezcla de vitaminas.

El medio final debe tener un pH de 6.6.

12.6 Ficha control de cada cachorro.

CACHORRO Nº 1				
SEXO H				
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO	
27-12-06	1 m 15 d	0,5	1º vacuna Quíntuple + 1º desparasitación (disofen)	
10-1-07	1 m 28 d	0,8	2º vacuna Quíntuple + 2º desparasitación (disofen)	
24-1-07	2 m 12 d	1,5	Vacuna Rabia	
31-1-07	2 m 18 d	2	COPROPARASITOLÓGICO Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Negativo
1-2-07	2 m 19 d	2	1º dosis GIARDIA VAX	
8-2-07	2 m 26 d	2,2	DESPARASITACION Disofen 0,5 ml SC.	
14-2-07	3 m 2 d	2,5	2º dosis GIARDIA VAX	
20-3-07	4 m 8 d	2,8	INOCULACION	
23-3-07	4 m 11 d	2,8	1º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
26-3-07	4 m 14 d	2,8	2º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
29-3-07	4 m 17 d	2,8	3º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
2-4-07	4 m 20 d	2,8	4º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
9-4-07	4 m 27 d	3	5º COPROPARASITOLÓGICO Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Negativo

CACHORRO Nº 2			
SEXO H			
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO
27-12-06	1 m 15 d	0,5	1º vacuna Quíntuple + 1º desparasitación (disofen)
10-1-07	1 m 28 d	0,8	2º vacuna Quíntuple + 2º desparasitación (disofen)
24-1-07	2 m 12 d	1,5	Vacuna Rabia
31-1-07	2 m 18d	2	COPROPARASITOLÓGICO Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
			TEST SNAP GIARDIA Negativo
1-2-07	2 m 19 d	2	1º dosis GIARDIA VAX
8-2-07	2 m 26 d	2	DESPARASITACION Disofen 0,5 ml SC.
14-2-07	3 m 2 d	2,5	2º dosis GIARDIA VAX
20-3-07	4 m 8 d	2,5	INOCULACION
23-3-07	4 m 11 d	2,5	1º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
26-3-07	4 m 14 d	2,5	2º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
29-3-07	4 m 17 d	2,8	3º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
2-4-07	4 m 20 d	2,8	4º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
9-4-07	4 m 27 d	2,8	5º COPROPARASITOLÓGICO Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
			TEST SNAP GIARDIA Negativo

CACHORRO Nº 3			
SEXO H			
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO
30-11-06	1 m 5 d	0,5	1º vacuna Quintuple + 1º desparasitación (disofen)
14-12-06	1 m 19 d	1	2º vacuna Quintuple + 2º desparasitación (disofen)
10-1-07	2 m 16 d	1,5	Vacuna Rabia
31-1-07	3 m 6 d	2	COPROPARASITOLÓGICO Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
			TEST SNAP GIARDIA Negativo
8-2-07	3 m 13 d	2	DESPARASITACION Disofen 0,5 ml SC.
20-3-07	4 m 25 d	3	INOCULACION
23-3-07	4 m 28 d	3,2	1º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
26-3-07	5 m	3,5	2º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
29-3-07	5 m 3 d	3,7	3º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
2-4-07	5 m 6 d	3,7	4º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
9-4-07	5 m 13 d	4	5º COPROPARASITOLÓGICO Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
			TEST SNAP GIARDIA Negativo

CACHORRO Nº 4				
SEXO M				
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO	
30-11-06	1 m 5 d	0,8	1º vacuna Quíntuple + 1º desparasitación (disofen)	
14-12-06	1 m 19 d	1	2º vacuna Quíntuple + 2º desparasitación (disofen)	
10-1-07	2 m 16 d	1,8	Vacuna Rabia	
31-1-07	3 m 6 d	2,2	COPROPARASITOLÓGICO Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Negativo
8-2-07	3 m 13 d	2,4	DESPARASITACION Disofen 0,5 ml SC.	
20-3-07	4 m 25 d	3	INOCULACION	
23-3-07	4 m 28 d	3,2	1º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
26-3-07	5 m	3,5	2º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
29-3-07	5 m 3 d	3,7	3º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
2-4-07	5 m 6 d	3,7	4º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
9-4-07	5 m 13 d	4	5º COPROPARASITOLÓGICO Heces diarreicas, restos alimenticios moderados, color café. Isospora canis +	TEST SNAP GIARDIA Negativo

CACHORRO Nº 5				
SEXO M				
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO	
30-11-06	1 m 9 d	1	1º vacuna Quíntuple + 1º desparasitación (disofen)	
14-12-06	1 m 23 d	1,8	2º vacuna Quíntuple + 2º desparasitación (ivermectina)	
10-1-07	2 m 20 d	2,5	Vacuna Rabia	
31-1-07	3 m 11 d	3	COPROPARASITOLÓGICO Heces pastosas, restos alimenticios, moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Negativo
1-2-07	3 m 12 d	3	1º dosis GIARDIA VAX	
8-2-07	3 m 19 d	3,2	DESPARASITACION Ivermectina 0,1ml SC	
14-2-07	3 m 25 d	3,5	2º dosis GIARDIA VAX	
20-3-07	4 m 29 d	4	INOCULACION	
23-3-07	5 m 2 d	4,2	1º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
26-3-07	5 m 5 d	4,5	2º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
29-3-07	5 m 8 d	4,5	3º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
2-4-07	5 m 11 d	4,5	4º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
9-4-07	5 m 18 d	5	5º COPROPARASITOLÓGICO Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Negativo

CACHORRO Nº 6				
SEXO M				
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO	
30-11-06	1 m 9 d	1	1º vacuna Quíntuple + 1º desparasitación (disofen)	
14-12-06	1 m 23 d	1,8	2º vacuna Quíntuple + 2º desparasitación (ivermectina)	
10-1-07	2 m 20 d	2,5	Vacuna Rabia	
31-1-07	3 m 11 d	3	COPROPARASITOLÓGICO Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Negativo
8-2-07	3 m 19d	3,5	DESPARASITACION Ivermectina 0,1 ml SC	
20-3-07	4 m 29 d	4	INOCULACION	
23-3-07	5 m 2 d	4,2	1º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
26-3-07	5 m 5 d	4,5	2º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. Quistes de Giardia lamblia +	
29-3-07	5 m 8 d	4,5	3º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
2-4-07	5 m 11 d	4,5	4º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
9-4-07	5 m 18 d	5	5º COPROPARASITOLÓGICO Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Positivo

CACHORRO Nº 7				
SEXO H				
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO	
30-11-06	1 m 9 d	1	1º vacuna Quíntuple + 1º desparasitación (disofen)	
14-12-06	1 m 23 d	1,5	2º vacuna Quíntuple + 2º desparasitación (disofen)	
10-1-07	2 m 20 d	1,8	Vacuna Rabia	
31-1-07	3 m 11 d	2	COPROPARASITOLÓGICO Heces duras, restos alimenticios, moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Negativo
1-2-07	3 m 12 d	2	1º dosis GIARDIA VAX	
8-2-07	3 m 19 d	2	DESPARASITACION Disofen 0,5 ml SC.	
14-2-07	3 m 25 d	2,5	2º dosis GIARDIA VAX	
20-3-07	4 m 29 d	3	INOCULACION	
23-3-07	5 m 2 d	3,5	1º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
26-3-07	5 m 5 d	32,5	2º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
29-3-07	5 m 8 d	3,5	3º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
2-4-07	5 m 11 d	3,5	4º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
9-4-07	5 m 18 d	4	5º COPROPARASITOLÓGICO Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Positivo

CACHORRO Nº 8			
SEXO M			
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO
30-11-06	1 m 9 d	2	1º vacuna Quintuple + 1º desparasitación (ivermectina)
14-12-06	1 m 23 d	2,5	2º vacuna Quintuple + 2º desparasitación (ivermectina)
10-1-07	2 m 20 d	3,5	Vacuna Rabia
31-1-07	3 m 11 d	4	COPROPARASITOLÓGICO Heces duras, restos alimenticios, moderados, color café. NSOP
			TEST SNAP GIARDIA Negativo
1-2-07	3 m 12 d	4	1º dosis GIARDIA VAX
8-2-07	3 m 19 d	4,2	DESPARASITACION Levamisol 0,2 ml SC
14-2-07	3 m 25 d	4,5	2º dosis GIARDIA VAX
20-3-07	4 m 29 d	5	INOCULACION
23-3-07	5 m 2 d	5,5	1º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
26-3-07	5 m 5 d	5,5	2º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
29-3-07	5 m 8 d	5,5	3º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
2-4-07	5 m 11 d	5,7	4º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
9-4-07	5 m 18 d	6	5º COPROPARASITOLÓGICO Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
			TEST SNAP GIARDIA Negativo

CACHORRO Nº 9				
SEXO M				
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO	
30-11-06	1 m 9 d	2	1º vacuna Quíntuple + 1º desparasitación (ivermectina)	
14-12-06	1 m 23 d	2,5	2º vacuna Quíntuple + 2º desparasitación (ivermectina)	
10-1-07	2 m 20 d	3,5	Vacuna Rabia	
31-1-07	3 m 11 d	4	COPROPARASITOLÓGICO Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Negativo
8-2-07	3 m 19 d	4,2	DESPARASITACION Levamisol 0,2 ml SC	
20-3-07	4 m 29 d	4,7	INOCULACION	
23-3-07	5 m 2 d	4,7	1º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
26-3-07	5 m 5 d	5	2º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
29-3-07	5 m 8 d	5	3º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
2-4-07	5 m 11 d	5	4º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
9-4-07	5 m 18 d	5	5º COPROPARASITOLÓGICO Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Negativo

CACHORRO Nº 10				
SEXO M				
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO	
30-11-06	1 m 9 d	2	1º vacuna Quíntuple + 1º desparasitación (ivermectina)	
14-12-06	1 m 23 d	2,5	2º vacuna Quíntuple + 2º desparasitación (ivermectina)	
10-1-07	2 m 20 d	3,5	Vacuna Rabia	
31-1-07	3 m 11 d	4	COPROPARASITOLÓGICO Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Negativo
8-2-07	3 m 19d	4,2	DESPARASITACION Levamisol 0,2 ml SC	
20-3-07	4 m 29 d	4,7	INOCULACION	
23-3-07	5 m 2 d	4,7	1º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
26-3-07	5 m 5 d	5	2º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
29-3-07	5 m 8 d	5	3º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces diarreicas, restos alimenticios moderados, color café. Quistes de Giardia lamblia +	
2-4-07	5 m 11 d	5	4º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
9-4-07	5 m 18 d	5,5	5º COPROPARASITOLÓGICO Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Positivo
10-4-07	5 m 19 d	5,5	Albendazole V.O 125 mg c/ 12 hrs. X 2 días.	

CACHORRO Nº 11			
SEXO M			
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO
30-11-06	1 m 5 d	1,5	1º vacuna Quíntuple + 1º desparasitación (disofen)
14-12-06	1 m 19 d	2	2º vacuna Quíntuple + 2º desparasitación (disofen)
10-1-07	2 m 16 d	2,8	Vacuna Rabia
31-1-07	3 m 6 d	3	COPROPARASITOLÓGICO Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café, bact abundantes, levaduras moderadas. NSOP
			TEST SNAP GIARDIA Negativo
8-2-07	3 m 13 d	3,5	DESPARASITACION Levamisol 0,2 ml SC
20-3-07	4 m 25 d	4,5	INOCULACION
23-3-07	4 m 28 d	4,5	1º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
26-3-07	5 m	4,5	2º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
29-3-07	5 m 3 d	4,5	3º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. Quistes de Giardia lamblia +
2-4-07	5 m 6 d	4,5	4º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
9-4-07	5 m 13 d	5	5º COPROPARASITOLÓGICO Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. Quistes de Giardia lamblia +
			TEST SNAP GIARDIA Positivo
10-4-07	5 m 19 d	5	Albenzadole V.O 125 mg c/ 12 hrs. X 2 días.

CACHORRO Nº 12			
SEXO H			
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO
30-11-06	1 m 4 d	2	1º vacuna Quintuple + 1º desparasitación (Ivermectina)
14-12-06	1 m 18 d	2,8	2º vacuna Quintuple + 2º desparasitación (ivermectina)
10-1-07	2 m 15 d	4	Vacuna Rabia
31-1-07	3 m 6 d	5	COPROPARASITOLÓGICO Heces diarreicas sanguinolentas, Isospora canis ++- Tx. Trimetropin sulfa + B12 + metroclopramida
			TEST SNAP GIARDIA Negativo
1-2-07	3 m 7 d	5	1º dosis GIARDIA VAX
8-2-07	3 m 13 d	5,5	DESPARASITACION Ivermectina 0,1ml SC
14-2-07	3 m 20 d	6	2º dosis GIARDIA VAX
20-3-07	4 m 25 d	7	INOCULACION
23-3-07	4 m 28 d	7	1º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
26-3-07	5 m	7	2º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
29-3-07	5 m 3 d	7	3º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
2-4-07	5 m 6 d	7,5	4º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces diarreicas, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
9-4-07	5 m 13 d	8	5º COPROPARASITOLÓGICO Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
			TEST SNAP GIARDIA Negativo

CACHORRO N° 13				
SEXO H				
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO	
30-11-06	1 m 4 d	2	1° vacuna Quíntuple + 1° desparasitación (Ivermectina)	
14-12-06	1 m 18 d	2,5	2° vacuna Quíntuple + 2° desparasitación (ivermectina)	
10-1-07	2 m 15 d	3,5	Vacuna Rabia	
31-1-07	3 m 6 d	4	COPROPARASITOLÓGICO Heces diarreicas sanguinolentas, leuc + 100 XC. FB↑ Tx. Trimetropin sulfa + B12 + metroclopramida	TEST SNAP GIARDIA Negativo
1-2-07	3 m 7 d	4	1° dosis GIARDIA VAX	
8-2-07	3 m 13 d	4	DESPARASITACION Ivermectina 0,1ml SC	
14-2-07	3 m 20 d	4,5	2° dosis GIARDIA VAX	
20-3-07	4 m 25 d	5,5	INOCULACION	
23-3-07	4 m 28 d	5,5	1° COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
26-3-07	5 m	5,5	2° COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
29-3-07	5 m 3 d	6	3° COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
2-4-07	5 m 6 d	6,5	4° COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces diarreicas, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
9-4-07	5 m 13 d	7	5° COPROPARASITOLÓGICO Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Negativo

CACHORRO Nº 14				
SEXO M				
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO	
30-11-06	1 m 9 d	2	1º vacuna Quíntuple + 1º desparasitación (disofen)	
14-12-06	1 m 23 d	2,8	2º vacuna Quíntuple + 2º desparasitación (disofen)	
10-1-07	2 m 20 d	3,5	Vacuna Rabia	
31-1-07	3 m 11 d	4	COPROPARASITOLÓGICO Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Negativo
8-2-07	3 m 19d	4,5	DESPARASITACION Ivermectina 0,1 ml SC	
20-3-07	4 m 29 d	5,5	INOCULACION	
23-3-07	5 m 2 d	5,5	1º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
26-3-07	5 m 5 d	5,5	2º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
29-3-07	5 m 8 d	5,5	3º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
2-4-07	5 m 11 d	6	4º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces diarreicas, restos alimenticios moderados, color café. Quistes de Giardia lamblia +	
9-4-07	5 m 18 d	6	5º COPROPARASITOLÓGICO Heces diarreicas, restos alimenticios moderados, color café. Quistes de Giardia lamblia +	TEST SNAP GIARDIA Positivo
10-4-07	5 m 19 d	6	Albenzadole V.O 150 mg c/ 12 hrs. X 2 días.	

CACHORRO Nº 15				
SEXO M				
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO	
30-11-06	1 m 9 d	2	1º vacuna Quintuple + 1º desparasitación (ivermectina)	
14-12-06	1 m 23 d	3	2º vacuna Quintuple + 2º desparasitación (ivermectina)	
10-1-07	2 m 20 d	4,5	Vacuna Rabia	
31-1-07	3 m 11 d	5	COPROPARASITOLÓGICO Heces pastosas, restos alimenticios, moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Negativo
1-2-07	3 m 12 d	5	1º dosis GIARDIA VAX	
8-2-07	3 m 19 d	5,5	DESPARASITACION Ivermectina 0,1ml SC	
14-2-07	3 m 25 d	6	2º dosis GIARDIA VAX	
20-3-07	4 m 29 d	7	INOCULACION	
23-3-07	5 m 2 d	7,5	1º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
26-3-07	5 m 5 d	7,5	2º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. Isospora canis +	
29-3-07	5 m 8 d	8	3º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
2-4-07	5 m 11 d	8,5	4º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
9-4-07	5 m 18 d	9	5º COPROPARASITOLÓGICO Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Negativo

CACHORRO Nº 16			
SEXO H			
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO
30-11-06	1 m 9 d	1	1º vacuna Quíntuple + 1º desparasitación (disofen)
14-12-06	1 m 23 d	1,5	2º vacuna Quíntuple + 2º desparasitación (disofen)
10-1-07	2 m 20 d	1,8	Vacuna Rabia
31-1-07	3 m 11 d	2	COPROPARASITOLÓGICO Heces diarreicas, restos alimenticios, moderados, color café. Endolimax nana
			TEST SNAP GIARDIA Negativo
1-2-07	3 m 12 d	2	1º dosis GIARDIA VAX
8-2-07	3 m 19 d	2,5	DESPARASITACION Levamisol 0,2 ml SC
14-2-07	3 m 25 d	2,5	2º dosis GIARDIA VAX
20-3-07	4 m 29 d	3,5	INOCULACION
23-3-07	5 m 2 d	3,5	1º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
26-3-07	5 m 5 d	3,5	2º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
29-3-07	5 m 8 d	3,7	3º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
2-4-07	5 m 11 d	4	4º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
9-4-07	5 m 18 d	4,5	5º COPROPARASITOLÓGICO Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
			TEST SNAP GIARDIA Negativo

CACHORRO Nº 17				
SEXO H				
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO	
30-11-06	1 m 9 d	1,5	1º vacuna Quíntuple + 1º desparasitación (disofen)	
14-12-06	1 m 23 d	2,5	2º vacuna Quíntuple + 2º desparasitación (disofen)	
10-1-07	2 m 20 d	3,5	Vacuna Rabia	
31-1-07	3 m 11 d	4	COPROPARASITOLÓGICO Heces diarreicas, restos alimenticios, moderados, color café. Endolimax nana	TEST SNAP GIARDIA Negativo
1-2-07	3 m 12 d	4	1º dosis GIARDIA VAX	
8-2-07	3 m 19 d	4,5	DESPARASITACION Levamisol 0,2 ml SC	
14-2-07	3 m 25 d	4,5	2º dosis GIARDIA VAX	
20-3-07	4 m 29 d	5,5	INOCULACION	
23-3-07	5 m 2 d	5,5	1º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
26-3-07	5 m 5 d	6	2º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. Quistes de Giardia lamblia +	
29-3-07	5 m 8 d	6,5	3º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
2-4-07	5 m 11 d	7	4º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. Quistes de Giardia lamblia + Se cultivo heces en TYI-S-33	
3-4-07			CRECIMIENTO -	
9-4-07	5 m 18 d	7,5	5º COPROPARASITOLÓGICO Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. Quistes de Giardia lamblia +	TEST SNAP GIARDIA Positivo
10-4-07			CRECIMIENTO -	
10-4-07	5 m 19 d	7,5	Albenzadole V.O 175 mg c/ 12 hrs. X 2 días.	

CACHORRO Nº 18			
SEXO H			
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO
27-12-06	1 m 15 d	2	1º vacuna Quíntuple + 1º desparasitación (disofen)
10-1-07	1 m 28 d	3	2º vacuna Quíntuple + 2º desparasitación (disofen)
24-1-07	2 m 12 d	3,5	Vacuna Rabia
31-1-07	2 m 19 d	4	COPROPARASITOLÓGICO Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
			TEST SNAP GIARDIA Negativo
1-2-07	2 m 20 d	4	1º dosis GIARDIA VAX
8-2-07	2 m 27 d	4,5	DESPARASITACION Levamisol 0,2 ml SC
14-2-07	3 m 3 d	5	2º dosis GIARDIA VAX
20-3-07	4 m 9 d	6,5	INOCULACION
23-3-07	4 m 12 d	6,5	1º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
26-3-07	4 m 15 d	7	2º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
29-3-07	4 m 18 d	7,5	3º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
2-4-07	4 m 21 d	8	4º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
9-4-07	4 m 28 d	8,5	5º COPROPARASITOLÓGICO Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP
			TEST SNAP GIARDIA Negativo

CACHORRO Nº 19				
SEXO H				
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO	
27-12-06	1 m 15 d	4	1º vacuna Quintuple + 1º desparasitación (disofen)	
10-1-07	1 m 28 d	5	2º vacuna Quintuple + 2º desparasitación (disofen)	
24-1-07	2 m 12 d	5,5	Vacuna Rabia	
31-1-07	2 m 19 d	6	COPROPARASITOLÓGICO Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. Dipylidium caninum	TEST SNAP GIARDIA Negativo
8-2-07	2 m 27 d	6,5	DESPARASITACION Levamisol 0,2 ml SC	
20-3-07	4 m 9 d	7,5	INOCULACION	
23-3-07	4 m 12 d	7,5	1º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
26-3-07	4 m 15 d	8	2º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
29-3-07	4 m 18 d	8	3º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. Quistes de Giardia lamblia +	
2-4-07	4 m 21 d	9	4º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
9-4-07	4 m 28 d	9,5	5º COPROPARASITOLÓGICO Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Positivo

CACHORRO N° 20				
SEXO H				
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO	
27-12-06	1 m 15 d	2	1º vacuna Quíntuple + 1º desparasitación (disofen)	
10-1-07	1 m 28 d	3	2º vacuna Quíntuple + 2º desparasitación (disofen)	
24-1-07	2 m 12 d	3,5	Vacuna Rabia	
31-1-07	2 m 19 d	4	COPROPARASITOLÓGICO Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Negativo
1-2-07	2 m 20 d	4	1º dosis GIARDIA VAX	
8-2-07	2 m 27 d	4,5	DESPARASITACION Levamisol 0,2 ml SC	
14-2-07	3 m 3 d	5	2º dosis GIARDIA VAX	
20-3-07	4 m 9 d	6,5	INOCULACION	
23-3-07	4 m 12 d	6,5	1º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
26-3-07	4 m 15 d	7	2º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
29-3-07	4 m 18 d	7,5	3º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
2-4-07	4 m 21 d	8	4º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
9-4-07	4 m 28 d	8,5	5º COPROPARASITOLÓGICO Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Negativo

CACHORRO Nº 21				
SEXO M				
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO	
30-11-06	1 m 9 d	2	1º vacuna Quíntuple + 1º desparasitación (disofen)	
14-12-06	1 m 23 d	3	2º vacuna Quíntuple + 2º desparasitación (disofen)	
10-1-07	2 m 20 d	3,5	Vacuna Rabia	
31-1-07	3 m 11 d	4	COPROPARASITOLÓGICO Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Negativo
8-2-07	3 m 19d	4,5	DESPARASITACION Levamisol 0,2 ml SC	
20-3-07	4 m 29 d	5,5	INOCULACION	
23-3-07	5 m 2 d	5,5	1º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
26-3-07	5 m 5 d	5,5	2º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
29-3-07	5 m 8 d	5,5	3º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
2-4-07	5 m 11 d	6	4º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
9-4-07	5 m 18 d	6,5	5º COPROPARASITOLÓGICO Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Positivo
10-4-07	5 m 19 d	6,5	Albenzadole V.O 175 mg c/ 12 hrs. X 2 días.	

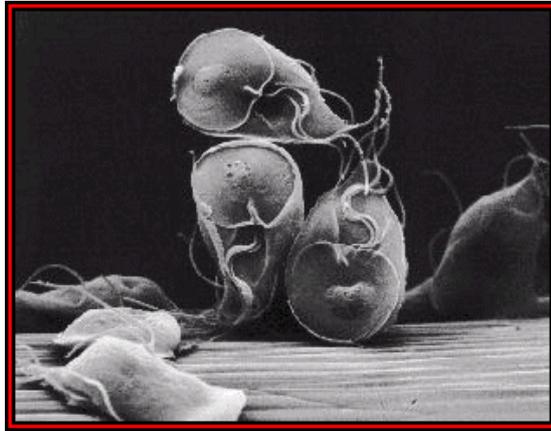
CACHORRO Nº 22				
SEXO M				
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO	
30-11-06	1 m 9 d	2,5	1º vacuna Quíntuple + 1º desparasitación (disofen)	
14-12-06	1 m 23 d	3,5	2º vacuna Quíntuple + 2º desparasitación (disofen)	
10-1-07	2 m 20 d	4	Vacuna Rabia	
31-1-07	3 m 11 d	5	COPROPARASITOLÓGICO Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Negativo
8-2-07	3 m 19 d	5,5	DESPARASITACION Levamisol 0,2 ml SC	
20-3-07	4 m 29 d	6,5	INOCULACION	
23-3-07	5 m 2 d	6,5	1º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
26-3-07	5 m 5 d	6,5	2º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
29-3-07	5 m 8 d	6,5	3º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
2-4-07	5 m 11 d	7	4º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
9-4-07	5 m 18 d	7	5º COPROPARASITOLÓGICO Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. Quistes de Giardia lamblia +	TEST SNAP GIARDIA Positivo
10-4-07	5 m 19 d	7	Albenzadole V.O 175 mg c/ 12 hrs. X 2 días.	

CACHORRO Nº 23				
SEXO H				
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO	
30-11-06	1 m 9 d	1,5	1º vacuna Quíntuple + 1º desparasitación (disofen)	
14-12-06	1 m 23 d	2	2º vacuna Quíntuple + 2º desparasitación (disofen)	
10-1-07	2 m 20 d	2,5	Vacuna Rabia	
31-1-07	3 m 11 d	3	COPROPARASITOLÓGICO Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Negativo
8-2-07	3 m 19d	3,5	DESPARASITACION Levamisol 0,2 ml SC	
20-3-07	4 m 29 d	4	INOCULACION	
23-3-07	5 m 2 d	4	1º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
26-3-07	5 m 5 d	4,5	2º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
29-3-07	5 m 8 d	4,5	3º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
2-4-07	5 m 11 d	4,5	4º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. Quistes de Giardia lamblia +	
9-4-07	5 m 18 d	5	5º COPROPARASITOLÓGICO Heces pasosas, restos alimenticios moderados, color café. Quistes de Giardia lamblia +	TEST SNAP GIARDIA Positivo
10-4-07	5 m 19 d	5	Albenzadole V.O 125 mg c/ 12 hrs. X 2 días.	

CACHORRO Nº 24				
SEXO M				
FECHA	EDAD	PESO (Kg)	PROCEDIMIENTO	
30-11-06	1 m 9 d	2	1º vacuna Quíntuple + 1º desparasitación (disofen)	
14-12-06	1 m 23 d	3	2º vacuna Quíntuple + 2º desparasitación (disofen)	
10-1-07	2 m 20 d	3,5	Vacuna Rabia	
31-1-07	3 m 11 d	4	COPROPARASITOLÓGICO Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Negativo
8-2-07	3 m 19d	4,5	DESPARASITACION Levamisol 0,2 ml SC	
20-3-07	4 m 29 d	5,5	INOCULACION	
23-3-07	5 m 2 d	5,5	1º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
26-3-07	5 m 5 d	6	2º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
29-3-07	5 m 8 d	6,5	3º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. Quistes de Giardia lamblia +	
2-4-07	5 m 11 d	7	4º COPROPARASITOLÓGICO POST-INFESTACION Heces dura, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	
9-4-07	5 m 18 d	7,5	5º COPROPARASITOLÓGICO Heces pastosas, restos alimenticios moderados, color café. NSOP	TEST SNAP GIARDIA Positivo
10-4-07	5 m 19 d	7,5	Albenzadole V.O 200 mg c/ 12 hrs. X 2 días.	

12.7 Imágenes.

Imagen A1. Estructura tridimensional de trofozoítos de *Giardia spp* vista por microscopio electrónico



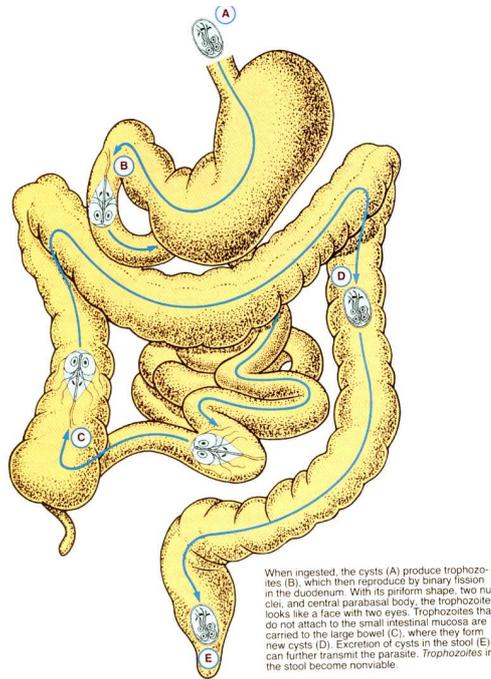
Fuente: Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Doctor Peset Aleixandre.
Valencia

Imagen A2. Forma enquistada de *Giardia spp.*



Fuente: Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Doctor Peset Aleixandre.
Valencia

Imagen A3. Ciclo biológico de *Giardia spp.*



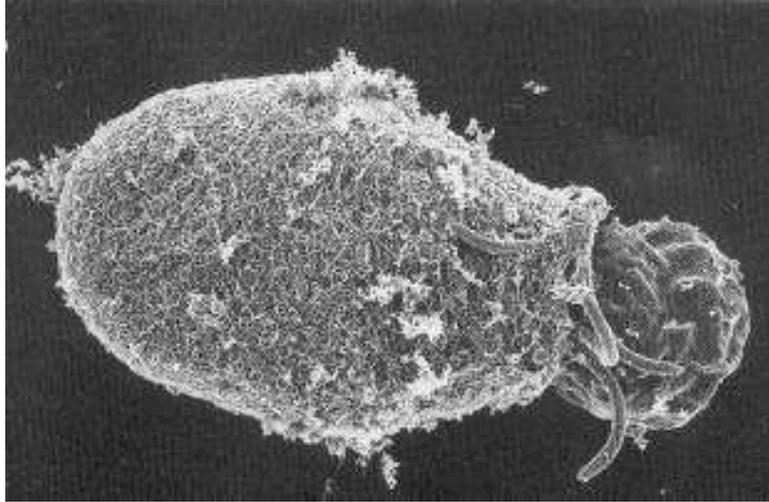
Fuente: Rick Davidson's Parasitology. Estados Unidos.

Imagen A4. Fisión binaria de trofozoito de *Giardia spp.*



Fuente: Schweizerische Vereinigung für kleintiermedizin. Alemania

Imagen A5. Trofozoíto emergiendo de un quiste.



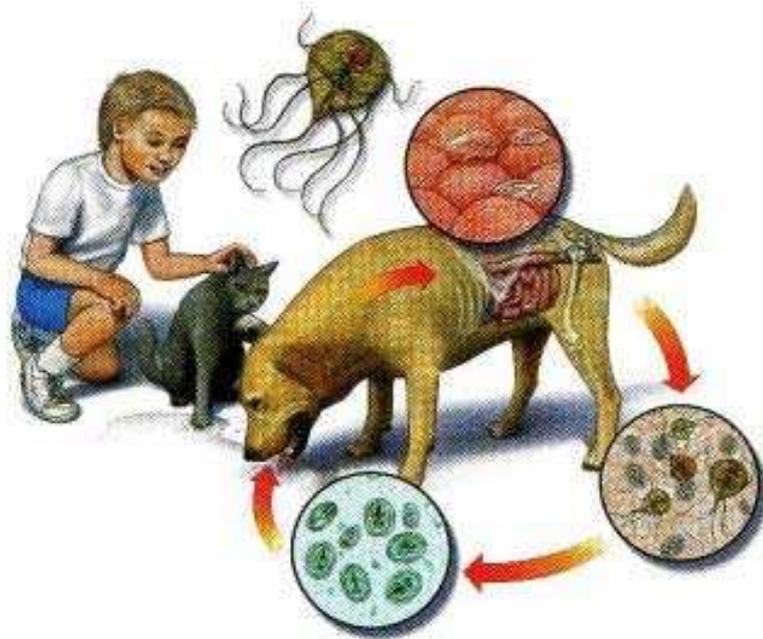
Fuente: MEVEPA www.mevepa.cl

Imagen A6. Trofozoítos de *Giardia*, adheridos a la superficie intestinal.



Fuente: Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Doctor Peset Alexandre.
Valencia

Imagen A7. Transmisión de *Giardia intestinalis*.



Fuente: Centers for disease control and prevention (CDC). Estados Unidos.

Imagen A8. Trofozoíto de *Giardia spp* diagnosticado por frotis directo



Fuente: MEVEPA www.mevepa.cl

Imagen A9. Flotación en sulfato de zinc que revela quistes de *Giardia*.



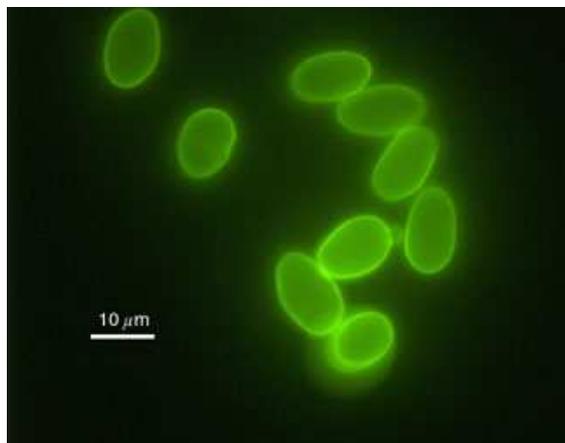
Fuente: MEVEPA www.mevepa.cl

Imagen A10. Kit inmunocromático para la detección de antígeno parasitario en muestras fecales. La muestra positiva genera un cambio de color definido.



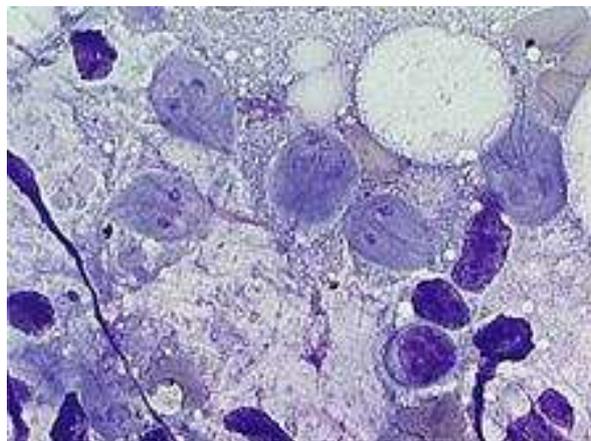
Fuente: Laboratorios Idexx.

Imagen A11. Quistes de *Giardia spp*, demostrados por medio de prueba de inmunofluorescencia directa.



Fuente: MEVEPA www.mevepa.cl

Imagen A12. Diagnóstico de giardiasis mediante examen de un aspirado duodenal



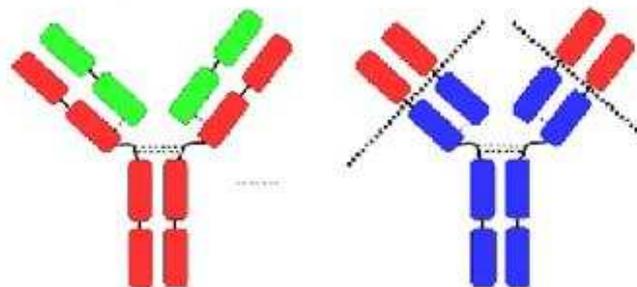
Fuente: MEVEPA www.mevepa.cl

Imagen A13. Presentación de vacuna contra *Giardia*, Giardia Vax.



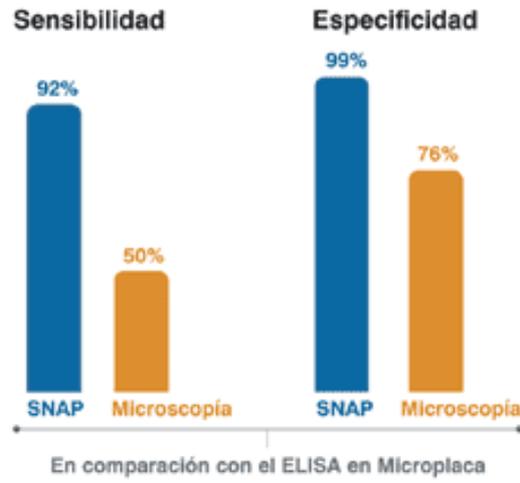
Fuente: Fort Dodge animal health. www.fortdodge.com.mx

Imagen A14. Estructura básica de los anticuerpos. En el diagrama de la izquierda se muestran en rojo las cadenas pesadas y en verde las livianas. El punteado en negro indica el enlace disulfuro. El dibujo de la derecha muestra en azul la región constante y en rojo la región variable.



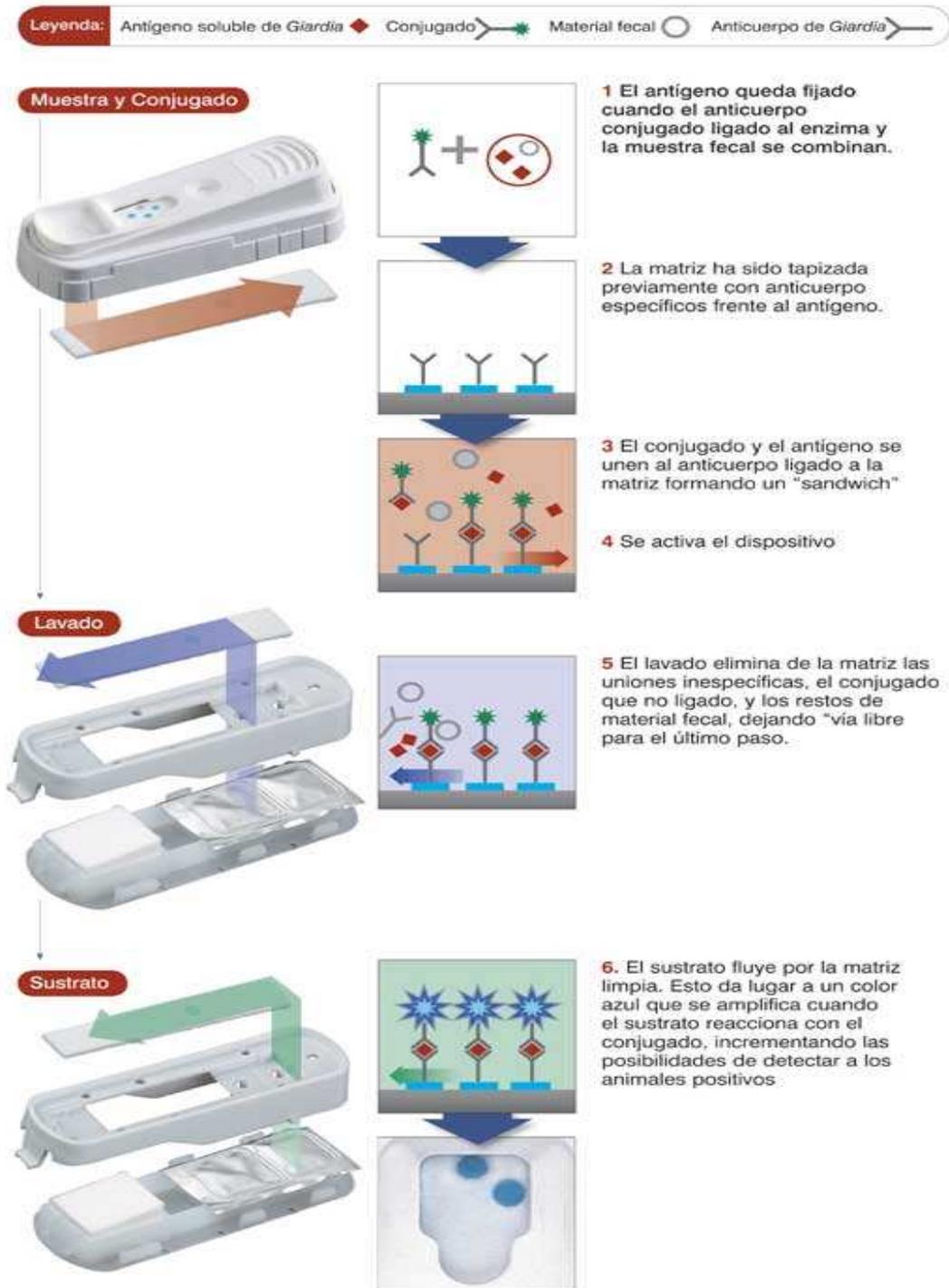
Fuente: Instituto Bioquímico Biológico 2000

Imagen A15. Comparación de especificidad y sensibilidad del Snap test y microscopía



Fuente: IDEXX laboratories, Inc. www.idexx.es

Imagen A16. La mayor sensibilidad del ELISA



Fuente: IDEXX laboratorios, Inc. www.idexx.es

Imagen A17. Recolección de cachorros.



Figura A18. Resultados de primera prueba inmunocromática.



Figura A19. Primera desparasitación de los cachorros



Figura A20. Cachorros en jaulas individuales.



Figura A21. Giardia Vax.



Figura A22. Elaboración de medio de cultivo TYI-S-33



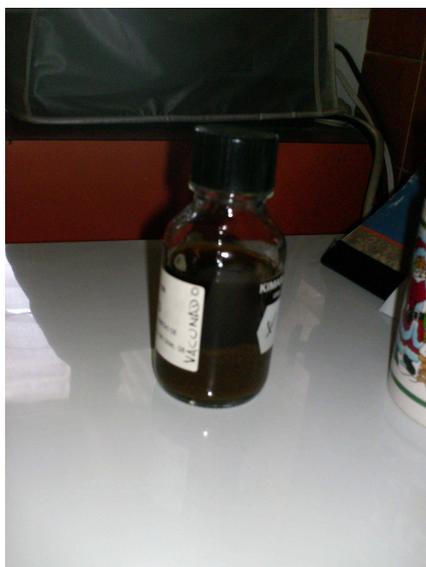
Figura A23. Desafío vía oral con quistes de *Giardia lamblia* provenientes de TYI-S-33



Figura A24. Resultado de último Snap test y coproparasitológico.



Figura A25. TYI-S-33 cultivado con heces positivas de cachorros vacunados.



12.8 Cuadros.

Cuadro A1. Comparación de inmunidad activa y pasiva.

	Inmunidad activa	Inmunidad pasiva
Origen	propia	Algún otro organismo (hombre o animal)
Eficacia	Grande	Moderada o baja
Métodos	la propia enfermedad, clínica o subclínica inmunización vacunas muertas atenuadas toxoides	Administración de anticuerpos por: paso a través de placenta inyección
Tiempo de aparición	De 5 a 14 días	Inmediatamente después de la inyección
Duración	Relativamente larga, a veces años	Relativamente breve, de algunos días a unas cuantas semanas
Reactivación	Fácil (por reforzamiento)	Peligrosa, con posible anafilaxia
Empleo	profiláctico	Profiláctico y terapéutico

Fuente: Barret 1972

Cuadro A2. Tipos de linfocitos T.

Tipo	Subtipo	Función
TCD4	TH1 o inflamatorios	Activan o destruyen células infectadas.
	TH2 o cooperadores	Estimulan a los linfocitos B para producir la liberación de anticuerpos.
TCD8 o citotóxicos		Matan células cancerosas o que contienen patógenos intracelulares. Inducen a la apoptosis.

Fuente: Hurd 2006.

Cuadro A3. Características de la Inmunidad específica.

Característica	Significado funcional
Especificidad	Respuestas específicas para cada antígeno específico
Diversidad	Permite al sistema inmune responder a una larga variedad de antígenos.
Memoria	Permite respuestas más eficientes y amplificadas ante la exposición de antígenos ya conocidos.
Especialización	Genera respuestas óptimas para la defensa contra diferentes tipos de microorganismos.
Autolimitación	Regula la respuesta inmune para que el sistema pueda responder a nuevos antígenos
Tolerancia	Previene lesiones al anfitrión durante la respuestas a los antígenos extraños

Fuente: Hurd 2006.

Cuadro A4. Anticuerpos. Estructura, localización y función.

Clase	Estructura	Porcentaje del total de anticuerpos	Localización	Función principal	Funciones adicionales
IgG	Monómero	75	Sangre y líquidos extracelulares	Predomina en la respuesta inmunitaria secundaria	Todas las antitoxinas pertenecen a esta clase
IgA	Monómero/dímero	15-20	El monómero en la sangre, el dímero con un componente secretor en las secreciones corporales	Protege las superficies de las mucosas, especialmente al evitar la fijación de los virus	-
IgM	Pentámero	5-10	Principalmente en la superficie de las células B	Son los anticuerpos "tempranos" que se	Causa la precipitación de los antígenos

				producen durante una respuesta inmunitaria primaria; fija el complemento	
IgD	Monómero	menos de 1	Principalmente en la superficie de las células B	Poco conocida; puede ayudar a estimular la proliferación de linfocitos en respuesta a los antígenos	-
IgE	Monómero	menos del 0,01	En la superficie de los mastocitos y los basófilos	Estimula la desgranulación de la célula, cuando ésta se une al antígeno	Defiende frente a los protozoos y los gusano parásito; puede provocar reacciones alérgicas dañinas

Fuente: Instituto Bioquímico Biológico 2000

13. Glosario.

- **Aftas:** Pequeñas vesículas que se transforman en úlceras blanquecinas, que se forman durante el curso de ciertas enfermedades en la mucosa de la boca o de otras partes del tubo digestivo.
- **Anticuerpo:** moléculas de bajo peso molecular (aproximadamente 150 KDa), capaces de reconocer a los antígenos.
- **Anticuerpos monoclonales:** son producidos in vitro y son la consecuencia de la actividad de síntesis de un único clon celular de linfocitos B que se ha aislado y se mantiene en cultivo en laboratorio.
- **Anticuerpos policlonales:** Suero producido por la acción de síntesis de numerosos clones de linfocitos B.
- **Antígeno:** toda molécula ajena a un determinado organismo.
- **Apoptosis:** muerte celular programada.
- **Bacteriolisis:** destrucción de una bacteria por ruptura de su pared celular.
- **Citocinas:** pequeñas hormonas proteicas que regulan numerosos procesos celulares. Pueden ser autocrinas o exocrinas.
- **Citosol:** El citosol o citoplasma es la región no particulada que se extiende entre la membrana celular y el núcleo. La porción semifluida del citoplasma o líquido intracelular contiene en suspensión varios orgánulos y numerosas sustancias disueltas. Físicamente es un líquido viscoso, transparente, con aspecto gelatinoso que contiene partículas suspendidas y una serie de filamentos y túbulos que forman el citoesqueleto.
- **Citosoma:** cuerpo de microorganismos unicelulares.
- **Clon:** conjunto de individuos genéticamente idénticos que descienden de un mismo individuo por mecanismos de reproducción asexual.
- **Colangitis:** inflamación de las vías o conductos biliares.
- **ELISA:** un término creado a partir de las iniciales de la técnica ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). Esta técnica se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida mediante anticuerpos que

directa o indirectamente producen una reacción cuyo producto, por ejemplo un colorante, puede ser medido espectrofotométricamente.

- **Endocitosis:** proceso de transporte activo de grandes moléculas o partículas a través de la membrana celular.
- **Enteritis:** inflamación de la membrana mucosa del intestino principalmente el delgado.
- **Enterocitos:** células absorbentes. Aparecen en el epitelio de las vellosidades y glándulas intestinales, cuya función es absorber los nutrientes.
- **Epigástrico:** relativo a la porción superior del vientre
- **Epitopo:** región del antígeno reconocido por el anticuerpo.
- **Erupción maculopapular:** decoloración en la piel con protuberancias pequeñas y elevadas. Puede haber picazón.
- **Exógeno:** que se origina en el exterior del cuerpo. Por extensión, debido o producido a una causa externa.
- **Interleuquinas:** nombre con el que se designan las citocinas producidas por los linfocitos. Se conocen la IL-1, IL-2, IL-4, IL-5.
- **Iridociclitis:** inflamación del iris y cuerpo ciliar.
- **Lizosima:** enzima lítica existente en las secreciones lagrimales, moco y saliva. Es un antibiótico natural que hidroliza la mureína de la pared bacteriana atacando la unión entre el ácido N-acetil-murámico y la N-acetilglucosamina.
- **Opsonización:** proceso de aglutinación de agentes patógenos, provocado por proteínas plasmáticas, inmunoglobulinas, interleuquinas, proteínas del sistema de complemento, que culmina con la destrucción por fagocitosis de los agentes patógenos.
- **Placas de Peyer:** folículos linfáticos agrupados que forman placas alargadas en las paredes del intestino delgado. Contienen linfocitos B y T y constituye uno de los mecanismos de defensa inmunológico del organismo. Forman parte del tejido mucoso linfoide asociado al intestino
- **Poliartritis:** inflamación de varias articulaciones a la vez. Puede ocasionar daños en las articulaciones o tejido conectivo.

- **Retinitis:** inflamación aguda o crónica de la retina.
- **Urticaria:** afección caracterizada por la aparición de habones rojizos inestables, pápulas ligeramente elevadas o manchas rodeados generalmente de un halo, asociados a prurito y sensaciones de picadura.