



**UNIVERSIDAD MICHOACANA
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

FACULTAD DE QUÍMICOFARMACOBIOLOGÍA

TESINA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

“ASPECTOS ZONÓTICOS DE *Giardia lamblia*”

AUTOR

p.Q.F.B. HUGO TRINIDAD SALES

ASESOR

QFB. RICARDO GIOVANNI SORIA HERRERA

Morelia, Michoacán de Ocampo Junio 2014



LA PRESENTE INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA SE REALIZÓ DURANTE EL DIPLOMADO TEÓRICO PRÁCTICO DE PARASITOLOGÍA CLÍNICA, ORGANIZADO POR LA ASOCIACIÓN PROFESIONAL PARA LA CAPACITACIÓN CONTÍNUA (APCC) Y AVALADO POR LA UNIVERSIDAD MICHOCANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO A TRAVÉS DE LA FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOLOGÍA, A QUIÉN LE AGRADECEMOS INFINITAMENTE EL APOYO ACADÉMICO Y LOGÍSTICO BRINDADO.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente le doy gracias a dios por haberme dado la vida en este mundo y haberme guiado por este camino, en el estudio.

A la UMSNH. especialmente a la facultad de QFB. por haberme permitido concluir la licenciatura de QFB.

A LA ASOCIACIÓN PROFESIONAL PARA LA CAPACITACIÓN CONTÍNUA (APCC) por su constante buena disposición y su ayuda en la documentación, de la investigación bibliográfica.

A mi asesor QFB. Ricardo Jiovanni Soria Herrera por aceptar a dirigir esta tesina y por su apoyo incondicional en la elaboración de este trabajo en cuestiones de bibliografías y redacción.

A mis revisores a QFB. Karla Gabriela Domínguez G., a la QFB. Yazmin Cuevas M., a la Ma. C. Blanca Nateras M., a QFB. Juan Manuel Barajas M, y a QFB. Ricardo Vega T. que sin ellos no hubiera sido posible concluir y terminar este trabajo de investigación bibliográfica.

Reconozco con profundo sentido el apoyo incondicional de mis padres (Miguel Trinidad Aparicio, Ma. Isabel Sales Morales), económicamente en el salud y en la escuela.

Muchas Gracias

Hugo Trinidad Sales

ÍNDICE

Núm.		Pag.
I	Objetivos.....	13
	I.I Objetivo general.....	13
	I.II Objetivos específicos.....	13
II	Historia de Parasitología.....	14
III	Enfermedades parasitarias y su importancia socioeconómica.....	15
1	Introducción.....	18
	1.1 Antecedentes.....	21
	1.2 Historia de <i>Giardia lamblia</i>	24
2	Enfermedad Giardiasis.....	25
	2.1 <i>Giardia lamblia</i> ¿una especie o un complejo de ella?.....	27
3	Taxonomía del protozooario <i>Giardia lamblia</i>	28
	3.1 Morfología de <i>Giardia lamblia</i>	30
	3.2 Estructura del trofozoito de <i>Giardia lamblia</i>	31
	3.3 Estructura quística de <i>Giardia lamblia</i>	32
4	Evolución de las eucariotas-biología celular de <i>Giardia lamblia</i>	33
	4.1 Reproducción.....	34
	4.2 Aspectos genómicos de <i>Giardia lamblia</i>	34
	4.3 Metabolismo de <i>Giardia lamblia</i>	36
5	Caracterización Molecular de <i>Giardia lamblia</i> obtenida de humanos.....	37
	5.1 Caracterización Molecular de <i>Giardia lamblia</i> obtenida de animales....	38
6	Mecanismos de transmisión de <i>Giardia lamblia</i>	40
	6.1 Transmisión zoonótica de <i>Giardia lamblia</i>	41

6.2	Transmisión hídrica de <i>Giardia lamblia</i>	42
6.3	Transmisión directa de <i>Giardia lamblia</i>	42
7	Ciclo biológico de <i>Giardia lamblia</i>	44
8	Mecanismo patogénico de <i>Giardia lamblia</i>	46
8.1	Factores implicados en invasión del intestino delgado por <i>Giardia lamblia</i>	48
8.2	Factores predisponentes del hospedero para la invasión del intestino delgado.....	50
8.3	Patologías provocadas por <i>Giardia lamblia</i>	50
9	Inmunología de la enfermedad Giardiasis.....	52
9.1	Evasión de la Inmunidad (Giardiasis frente a la inmunidad del huésped).....	53
10	Respuesta inmune intestinal contra <i>Giardia lamblia</i>	53
10.1	Respuesta inmune intestinal celular.....	54
10.2	Placas de Peyers.....	55
10.3	Mastocitos.....	55
10.4	Respuesta inmune intestinal humoral.....	56
11	Producción de proteínas y péptidos con actividad antimicrobiana.....	57
11.1	Dfensinas.....	57
11.2	Lactoferrina (Lf).....	57
11.3	Producción de Óxido nítrico (NO ⁻).....	58
12	Manifestaciones – Casos clínicos de Giardiasis.....	58
12.1	Diarrea aguda.....	59
12.2	Diarrea grave-crónica.....	59
12.3	Casos clínicos de Giardiasis.....	61
13	Epidemiología.....	62

14	Tratamiento de la Giardiasis.....	67
15	Medidas preventivas.....	69
	15.1 Profilaxis por vacunas.....	70
16	Discusiones y Conclusiones.....	71
17	Referencias Bibliográficas.....	76
18	Anexos.....	90

INDICE DE FIGURAS

Fig. 1:	Microscopio de Anton Leeuwenhoek.....	15
Fig. 2:	Enfermedad zoonosis.....	18
Fig. 3:	Trofozoito teñido con tinción de May Grunwald-Giemsa.....	20
Fig. 4:	Datos epidemiológicos de Giardiasis de 2003.....	23
Fig. 5:	Anton Van Leeuwenhoek.....	24
Fig. 6:	Aguas negras contaminadas con los quistes de <i>Giardia lamblia</i>	26
Fig. 7:	<i>Giardiasis</i> en animales domésticos.....	26
Fig. 8:	Trofozoito y Quiste de <i>Giardia lamblia</i>	30
Fig. 9 :	Ploidia y numero de cromosomas de <i>Giardia lamblia</i>	35
Fig. 10:	Mecanismo de transmisión por vía fecal-oral por alimentos contaminados.....	40
Fig. 11:	Transmisión zoonótico.....	41
Fig. 12:	Transmisión hídrica.....	42
Fig. 13:	Vías de transmisión (directa).....	43
Fig. 14:	Ciclo de vida de <i>Giardia lamblia</i>	45
Fig. 15:	Estructura del intestino delgado (A – B).....	47

Fig. 16:	Trofozoitos sobre la superficie intestinal (A-B).....	48
Fig. 17:	Válvulas conniventes.....	51
Fig. 18:	Examen radiológico con sustancia de contraste.....	52
Fig. 19:	Distribución de las células presentes en la producción de respuesta inmune intestinal.....	54
Fig. 20:	Inmunidad humoral y celular contra <i>Giardia lamblia</i>	56
Fig. 21:	Molécula de Lactoferrina (Lf).....	58
Fig. 22:	Dolor abdominal por Giardiasis.....	59
Fig. 23:	Diarrea crónica.....	60
Fig. 24:	Déficit de condiciones higiénicas en zonas tropicales.....	63
Fig. 25:	Mapa de distribución de los estudios sobre de los genotipos de <i>Giardia intestinalis</i> en humanos y caninos.....	64
Fig. 26:	Diagnóstico de los parásitos intestinales más frecuentes en la edad temprana (1 a 8 años de edad).....	66
Fig. 27:	Planta la <i>Petiveria alliacea</i>	68
Fig. 28:	Medidas preventivas que evitan la transmisión de la Giardiasis.....	70
Fig. 29:	Quiste de <i>Giardia lamblia</i> con solución yodo lugol.....	92
Fig. 30:	Material para la coloración tricómica.....	94
Fig. 31:	Quiste de <i>G. lamblia</i> por la técnica de inmunofluorescencia.....	98

INDICE DE TABLAS

Tab.1	México: frecuencia de las helmintosis intestinales.....	16
Tab.2	México: frecuencia de protozoos intestinales.....	17
Tab.3	Prevalencia de giardiasis en animales domésticos.....	19
Tab.4	Especies reconocidas dentro del género <i>Giardia</i>	29
Tab.5	Taxonomía de <i>Giardia lamblia</i>	29
Tab.6	Genotipos de <i>Giardia lamblia</i> y sus hospedadores.....	39
Tab.7	Prevalencia de manifestaciones clínicas de Giardiasis.....	60
Tab.8	Etiologías de gastroenteritis en diversos grupos de población.....	67

RESUMEN

G. lamblia (*G. intestinalis*, *G. duodenalis*), es un protozoario flagelado encontrado a nivel mundial en zonas rurales principalmente en infantes. En la actualidad varios estudios han reportado que la epidemiología de *Giardia lamblia*, es más frecuente en los países subdesarrollados. Se encuentra parasitando principalmente en el intestino delgado (duodeno y yeyuno) de los seres humanos y en muchos animales vertebrados. *Giardia lamblia* es una especie compleja, actualmente se le han descrito siete genotipos (A, B, C, D, E, F, G) utilizando métodos moleculares, morfológicamente similares, pero fenotípicamente iguales y genéticamente distintos. Varios estudios han reportado que la enfermedad Giardiasis en humanos es producida únicamente por los genotipos A y B de ese parásito. Ambos genotipos han sido detectados también en un amplio rango de mamíferos, lo que indicaría el potencial zoonótico de *G. lamblia*. Los mecanismos de transmisión zoonótica es mediante agua y alimentos contaminados, malos hábitos higiénicos de la población, contacto directo con animales domésticos y animales vertebrados infectados o a través del excremento de estos animales. La infección en el huésped se da cuando el quiste es ingerido a través de agua y alimentos contaminados o por contacto a través de la vía fecal-oral con los animales portadores. El quiste es relativamente inerte, lo que permite una supervivencia prolongada en una variedad de condiciones ambientales. Desde 2010 a 2012 la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado aproximadamente que 1000 millones de personas de las naciones económicamente subdesarrollados, se encuentran infectados por el citado protozoo.

PALABRAS CLAVES: zoonosis, animales reservorios, huésped humanos, alimentos, infección cosmopolita.

ABSTRACT

G. lamblia (*G. intestinalis*, *G. duodenalis*), is a flagellate protozoan found at the global level in rural areas mainly in infants. Currently several studies have reported that the epidemiology of *Giardia lamblia*, It is more frequent in the underdeveloped countries. Parasiting is mainly in the small intestine (duodenum and jejunum) of human beings and in many vertebrate animals. *Giardia lamblia* is a species complex, he is currently seven genotypes have been described (A, B, C, D, E, F, G) using molecular methods, morphologically similar, equal but phenotypically and genetically different. Several studies have reported that the disease Giardiasis in humans is produced only by genotypes A and B of the parasite. Both genotypes have been also detected in a wide range of mammals, which would indicate the zoonotic potential of *G. lamblia*. Mechanisms of zoonotic transmission is through contaminated food and water, poor hygiene of the population, direct contact with pets and animals vertebrates infected or through the feces of these animals. The infection in the host occurs when the cyst is ingested through contaminated food and water or by contact through the faecal-oral route with the animal carriers. The cyst is relatively inert, what allows a prolonged survival in a variety of environmental conditions. From 2010 to 2012 the World Health Organization (WHO) has been estimated that approximately 1000 million people of the nations economically underdeveloped, are infected by the aforementioned protozoan.

KEY WORDS: Zoonoses, animal reservoirs, human host, food, infection cosmopolitan.

ABREVIATURAS

Ac	Anticuerpo
Ag	Antígeno
AG	Aparato de Golgi
ATP	Adenosina trifosfato
CPS	Coproparasitoscópico
E.U.A	Estados Unidos América
FITC	Isotiocianato de fluoresceína
GalNAc	N-acetilgalactosamina
IgA	Inmunoglobulina A
IgG	Inmunoglobulina G
IgM	Inmunoglobulina M
CVID	Inmunodeficiencia variable común
KDa	Kilo Dalton
Lf	Lactoferrina
OMS	Organización Mundial de la Salud
PM	Peso molecular
PVA	Alcohol polivinílico
R.I	Respuesta inmunitaria
RFLP	Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción
SSA	Secretaría de Salud y Asistencia
SSu-rRNA (18)	Subunidad pequeña de RNA ribosomal del gen 18
TRITC	Isotiocianato de tetrametilrodamina
UNMSM	Universidad Nacional Mayor de San Marcos
VSP	Proteínas variantes de superficie.
Pb	Par de bases

GLOSARIO

Anticuerpo: inmunoglobulina que es capaz de reaccionar con antígenos (del agente patógeno) y provocar su neutralización o modificación.

Antígeno: sustancia generalmente de naturaleza proteica, capaz de provocar una respuesta del sistema inmune del huésped.

Fenotipo: se refiere a la expresión del genotipo en una función de un determinado ambiente. Un fenotipo es cualquier característica o rasgo observable de un organismo, como su desarrollo, morfología, propiedades bioquímicas, fisiología y comportamiento.

Genotipo: está basada a la información genética que posee un organismo en particular, en forma de ADN, y por lo tanto el genotipo resulta ser el conjunto de genes característicos de una especie.

Giardiasis: es una infección parasitaria provocado por *G. lamblia*, es un parásito que altera el funcionamiento del intestino generando mala absorción de los nutrientes en personas y animales. Se transmite por ingerir quistes o trofozoitos eliminado por animal infectado.

Glicoproteínas: son moléculas compuestas por una proteína unida o varios glúcidos, simples o compuestas. Una de las principales funciones de estas moléculas es el reconocimiento celular cuando se encuentran en la superficie de la membrana celular.

Inmunidad: es un término médico que describe el estado de tener suficientes defensas biológicas para prevenir la infección, enfermedad u otra invasión biológica inesperada.

Patogenia: es la secuencia de los sucesos celulares que tienen lugar desde el momento del contacto inicial con un agente etiológico hasta la expresión final de la enfermedad.

Patogenicidad (de los microorganismos): se define como su capacidad para producir enfermedad en el huésped susceptible.

Ploidia: es el número de juegos completos de cromosomas en una célula biológica. En el ser humano, las células somáticas que componen el cuerpo son diploides, con dos juegos complementos de cromosomas (una serie derivada de cada uno de los padres).

Zoonosis: se considera toda enfermedad transmitida por insectos y animales (vectores) al ser humano o también puede ser viceversa.

I-OBJETIVOS

I.I Objetivo General

Investigar los avances más recientes de los aspectos zoonóticos de *Giardia lamblia* en biología molecular (genotipos responsables de la enfermedad zoonosis) que sean útiles para el diagnóstico clínico y de las patologías que causan en humanos y animales

I.II Objetivos específicos

- ✓ Determinar los genotipos responsables de la enfermedad zoonótica por *Giardia lamblia*.
- ✓ Investigar cómo se transmite la enfermedad y las vías principales de transmisión
- ✓ Conocer la prevención de la enfermedad zoonótica causado por los genotipos de *Giardia lamblia*.
- ✓ Establecer los fármacos de elección en el tratamiento de la enfermedad zoonótica de *Giardia lamblia*

II- HISTORIA DE LA PARÁSITOLOGIA

La parasitología es una ciencia que estudia a todos los seres vivos, microscópicos o no, cuya supervivencia depende de una estrecha relación con otros seres vivos (huésped), la parasitología es la rama de la ecología que investiga el fenómeno del parasitismo y los parásitos, independientemente de su tamaño y complejidad estructural. Por ser invisible la mayoría de los parásitos, se empezaron a descubrirse cuando se desarrolló la ciencia óptica, fue cuando se pudieron obtener lentes de un poder de resolución elevado (Jawetz et al., 2005).

El estudio de la parasitología ha ganado renovada importancia en un mundo cada vez más pequeño debido al rápido desplazamiento de la gente, especialmente viajeros y emigrantes de áreas endémicas para enfermedades parasitarias, y por la aparición de patógenos que surgen y resurgen en individuos inmunodeprimidos por diferentes razones. Las enfermedades parasitarias en los humanos y animales domésticos tienen un gran peso en las áreas de recursos de salud limitados y afectan de un modo adverso al desarrollo social y económico de muchos países en todo el mundo. Mientras que los organismos clasificados como parásitos constituyen un gran grupo, los que infectan a los humanos y están compuestos mayoritariamente por protozoos, helmintos y artrópodos (Henry, 2005).

En el año 1559, Kircher señala la presencia de los pequeños gusanos en la sangre de los enfermos de peste tubonica, las primeras observaciones fueron realizadas por un comerciante holandés, por Antón van Leeuwenhoek a fines de siglo XVII y comienzos del XVIII. Antón construyó las lentes (figura 1) más perfeccionadas de la época, con ellas pudo observar una gran variedad de microorganismos en las muestras de aguas estancadas, infusiones y sarro dentario (Pumarola, 2004).

La denominación de los parásitos se ajusta a la nomenclatura binominal de Linneo (1785), en la que el primer vocablo corresponde al género y segundo a la especie (Tay et al., 2005, García, 2006).

Entre los parasitólogos latinoamericanos, el Dr. Carlos Chagas, médico brasileño, en 1909 descubrió al parásito *Tripanosoma cruzi*, agente etiológico de la enfermedad de Chaga, así como todo lo relacionado a dicha infección (Vector, cuadro clínico, etc.), (Tay et. al., 2003).

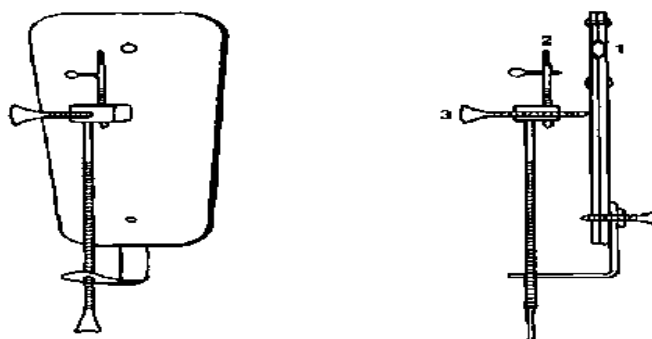


Figura 1. Microscopio de Leeuwenhoek: 1) lente, 2) lugar de colocación del objeto que se debe observar y 3) tornillo de enfoque.

III-ENFERMEDADES PARASITARIAS Y SU IMPORTANCIA SOCIOECONÓMICA

Se sabe que las enfermedades parasitarias han producido a través de los tiempos más muertes y daño económico a la humanidad que todas las guerras en total. Generalmente en los países con poco o nulo desarrollo socioeconómico es en el lugar donde las enfermedades parasitarias y parasitosis se presenta con mayor frecuencia, viéndose esto favorecido por las condiciones climáticas cálidas o templadas y por la falta de cultura médica de los habitantes. Las enfermedades zoonóticas que tienen como reservorios a animales domésticos, generan un impacto importante en la salud de gran número de personas que se dedican a la ganadería y a la agricultura. El contacto directo con los animales se da en grandes extensiones territoriales y con frecuencia bajo malas condiciones sanitarias. En la república mexicana se tienen datos de frecuencia de las enfermedades parasitarias, proporcionados por la Comisión Nacional, ejemplo de esto la Erradicación del Paludismo, la Secretaría de Salud y Asistencia (SSA), la cual señala que la zona palúdica ocupa el 58% del territorio nacional y que al iniciarse la campaña de erradicación del paludismo había 2, 500,000 de palúdicos, presentándose unas 25,000 muertes al año. Con la mencionada

campana y 14 años después se reportaron sólo 48,843 enfermos y ya no se presentaron muertos por este padecimiento. Desafortunadamente la suspensión de la campana, la emigración de personas centroamericanas y algunos otros factores, permitieron que aumentara de nuevo el número de casos de paludismo en México (Tay et. al., 2003, Botero et. al., 2012). La República mexicana tiene un territorio de 1.967.183 Km², debido a su gran diversidad geográfica y a diferencias socioeconómicas marcadas en diferentes regiones, presenta frecuencias variables de enfermedades parasitarias. La información al respecto se ha obtenido por las encuestas epidemiológicas realizadas por la Organización Panamericana de la Salud, la Secretaria de Salud e investigadores interesados, las siguientes frecuencias de enfermedades parasitarias constituyen uno de los trabajos de campo y revisión más completo (tabla 1-2) (Tay et al., 2003)

Tabla1. México: Frecuencia de las helmintiosis intestinales

Parasitosis	No. de Personas Infectadas
Ascariosis	24 136 172
Trichurosis	16 883 657
Enterobiosis	15 259 087
Uncinariosis	10 016 583
Hymenolepiosis	11 797 886
Strongyloidosis	5 272 910
Taeniosis	1 197 842

Fuente: Tay, J., et al. Depto. de Microbiología y Parasitología, UNAM (2003).

En México la población indígena constituye aproximadamente la décima parte de la población nacional. La mortalidad infantil casi duplicaba a la del resto de los habitantes. Cabe señalar que habitan principalmente en zonas rurales, aisladas con

gran frecuencia (a pesar del fenómeno de migración hacia las ciudades) y por otra parte, son más frecuentes: la pobreza extrema, el hacinamiento, el fecalismo al ras del suelo y la convivencia con animales domésticos. La mortalidad por enfermedades parasitarias es un problema común a los diferentes grupos de población, pero su magnitud destaca en la niñez, evaluándose en términos de muerte prematura (Tay, et al., 2003, Hernández, Aguilera, et al., 2011

Tabla 2. México: Frecuencia de protozoos intestinales

Protozoos	No. de Personas Infectadas
<i>Entamoeba coli</i>	30 157 250
<i>Giardia lamblia</i>	19 385 960
<i>Endolimax nana</i>	16 666 746
<i>Entamoeba histolytica</i>	14 978 610
<i>Iodamoeba butschlii</i>	7 950 099
<i>Chilomastix mesnili</i>	3 119 867

Fuente: Tay, J., et al. Depto. de Microbiología y Parasitología, UNAM (2003).

1- INTRODUCCION

Las enfermedades zoonóticas parasitarias son un problema de salud de magnitud considerable en cualquier país, es debido a alimentos contaminados por parásitos, y a la convivencia del humano con animales domésticos que son los principales reservorios de infecciones para ellos (Figura 2). Hasta hace algún tiempo se pensaba que la zoonosis no tenía importancia en la salud pública y que esto sólo sucedía en las zonas rurales (Tay et. al., 2003).

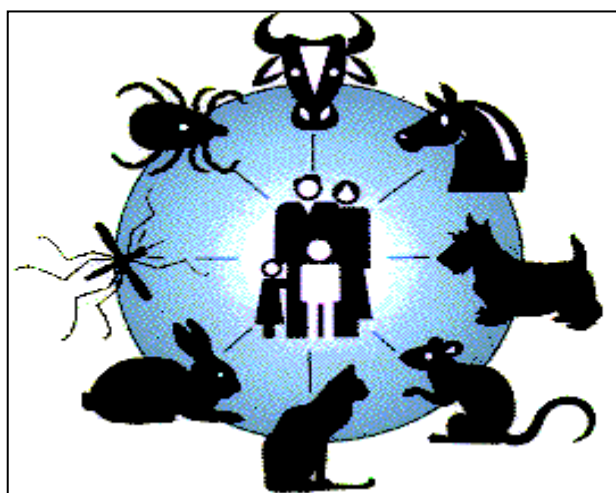


Figura 2: Enfermedad zoonosis. Muchas infecciones corresponden a enfermedades zoonóticas, debido a que el hombre tiene una estrecha relación en los lugares de hábitats de diferentes animales normalmente a los portadores de la enfermedad (Monsalve, Salim et. al., 2009).

En el año 1959 un grupo de expertos de la OMS se reunieron, y definieron la zoonosis como infecciones y enfermedades, cuyos agentes etiológicos son naturalmente transmitidos entre los animales vertebrados y el hombre (Tay et. al., 2008). Sin embargo se habían encontrado casos de zoonosis adquiridas por comer alimentos crudos o mal cocidos como es el ceviche estilo mexicano (carne cruda de pescado marino o de agua dulce).

Del mismo modo, la ingestión de hamburguesas preparada con carne semicruda representa otro vehículo de infección para los seres humanos (Tay et. al., 2003).

Esta infección se ha encontrado en una gran variedad de especies de mamíferos domésticos y silvestres. Encuestas realizadas en todo el mundo publican prevalencias en perros jóvenes, gatos jóvenes, en terneros, en potrillos, en cerdos jóvenes y en corderos (tabla 3). Las manifestaciones de la enfermedad en perros y gatos también son similares a las del hombre. Sin embargo, se ha reportado que las infecciones experimentales en rumiantes presentaron sólo diarrea leve en terneros y pérdida de peso en corderos. También documentan que la enfermedad es más frecuente en animales jóvenes (Barriga, 2003).

Una característica particular de los organismos parásitos es su gran capacidad de adaptación a cambios del medio ambiente. La mayoría de los parásitos, ya sean unicelulares como los protozoarios o multicelulares como los helmintos, ocupan diferentes nichos durante su travesía por vectores y hospedadores, por lo que han desarrollado extraordinarios mecanismos de adaptación que les permiten sobrevivir en condiciones ambientales que de otro modo los destruirían (Lujan, 2006).

Tabla3.Prevalencia de Giardiasis en animales domésticos y silvestres a nivel mundial.

Animales	% de prevalencia de Giardiasis	Promedio en %
Perros	20-35	27.5
Gatos	10-15	12.5
Terneros	5 - 90	47.5
Potrillos	17- 32	24.5
Cerdos	7- 44	25.5
Corderos	6- 80	43

En esta tabla se demuestra que la infección Giardiasis es endémica a nivel mundial. La infección y la enfermedad son más comunes en animales o humanos jóvenes, que en adultos. También indica que en diferentes partes del mundo la prevalencia es muy variable. (Barriga, 2003).

Giardia lamblia también conocido como *Giardia intestinalis* es un parásito protozoario flagelado presente en el medio ambiente en forma de quiste. Cuando los quistes son ingeridos por el reservorio se liberan en forma adulta o trofozoito, (figura 3) estos ampliamente distribuidos en el mundo, especialmente en las poblaciones semidesarrolladas o desprotegidas que no cuentan con servicios sanitarios. (Hernández, Leonor et. al., 2002).



Figura 3: Trofozoito teñido con tinción de May Grunwald-Giemsa. Colorea los protozoarios principalmente a los flagelados. El trofozoito se observa con su citoplasma de color azul claro y los núcleos de color purpura (Botero 2012).

Giardia intestinalis genera una patología intestinal en el huésped llamada *Giardiasis*. La infección puede ser asintomática o presentar diversos síntomas como la pérdida del apetito, diarreas agudas o crónicas y síndrome de mala absorción (de hierro y vitamina A) a pacientes con procesos anémicos, también se asocia con en el crecimiento y en consecuencia con cuadros de desnutrición especialmente en niños menores de 6 años. (Bazán, Arguello et. al., 2008).

El interés por este parásito flagelado se ha incrementado a partir de la segunda mitad del siglo XX por su potencial patógeno en la edad infantil en el año 1962. Asimismo, los estudios de secuenciación del gen que codifica la Subunidad pequeña de RNA ribosomal del gen 18 menor (SSu- rRNA 18m), utilizados en los actuales sistemas de clasificación molecular de los microorganismos eucariotas, señalan a

Giardia intestinales como el organismo eucariota más primitivo conocido en la escala evolutiva entre los procariotas y eucariotas (ADAM, 2001).

Se realizó un estudio en la UNAM, sobre la prevalencia de *Giardiasis*, basándose en la morfología de *G. lamblia*, encontrándose en las muestras que se habían obtenido en animales de granja, todas altamente relacionados con el humano, empleando técnicas moleculares para genotificarlas. De tal manera que se han descrito siete genotipos: el genotipo A se encuentra en humanos, animales de granja (bovinos, ovinos, caprinos, porcinos y equinos), animales de compañía (caninos y felinos); el genotipo B en el hombre, caninos y ratas; genotipo C y D en caninos; el genotipo E en animales de granja; en felinos, y el genotipo G en ratas (Otero, Ibarra et. al., 2011).

Específicamente en el estado de Sonora México, diversos estudios han informado de la presencia de infecciones por *Giardia*, tanto en población urbana como rural. Uno de los vectores evaluados en esta región ha sido el agua para consumo humano, encontrándose concentraciones de 5 quistes/mL en la ciudad de Hermosillo y de 17 quistes/mL en la Ciudad de Obregón. Este estudio nos revela que no sólo puede encontrarse en las poblaciones subdesarrollados si no también en lugares desarrollados, lo que significa que la infección depende de la higiene personal. (Díaz, Ballesteros et. al., 2002). *Giardia lamblia* provoca gran ausentismo en los centros de trabajo y baja productividad laboral; además afecta el estado nutricional de los niños, su crecimiento y desarrollo, lo que justifica que se intente difundir la patogenia de la enfermedad, las medidas profilácticas para prevenirla y el tratamiento más eficaz para combatirla (Rivera, Hurtado et. al., 2002).

1.1 - ANTECEDENTES

Es posible afirmar que la historia de la Protozoología nació a mediados del siglo XVII, cuando Anthony Van Leeuwenhoek de Delghis; comerciante holandés de telas y tallador aficionado de lentes observó por primera vez (en muestra de la materia fecal)

a través de los rudimentarios microscopios fabricados por el mismo, un organismo que por su descripción, muy probablemente correspondía a *Giardia lamblia*. (Vázquez, Campos, 2009).

En 1979, los reportes de posible contaminación de fuentes de agua por animales parasitados por este protozooario flagelado, condujeron a la OMS, posiblemente con cierta prematuridad, a categorizar a esta especie como un parásito zoonótico. Desde aquel año, los resultados han logrado la búsqueda de información que nos permitirá confirmar la posible transmisión zoonótica de esta parasitosis (Fonte, Almannoni, 2010).

Giardia lamblia, es un parásito del intestino delgado que puede causar importante morbilidad tanto en países desarrollados como en los subdesarrollados, y que afecta principalmente a niños, sobre todo en las edades de 1 a 6 años (Núñez, Sanrracent et. al., 2004).

En 2012 la O.M.S reporta que en Chile, los parásitos responsables de la diarrea más significativo en este país son: *Giardia lamblia*, también conocida como *Giardia intestinales*, de gran importancia en la edad infantil con frecuencias de 20 a 30% (Boletín, 2012)

Giardia lamblia es el responsable de la enfermedad en humanos y animales vertebrados conocida como *Giardiasis*. En México en el año 2003 se reportaron 53193 casos de esta enfermedad principalmente en la población infantil (figura 4) (Rojas, Aguirre, 2003).

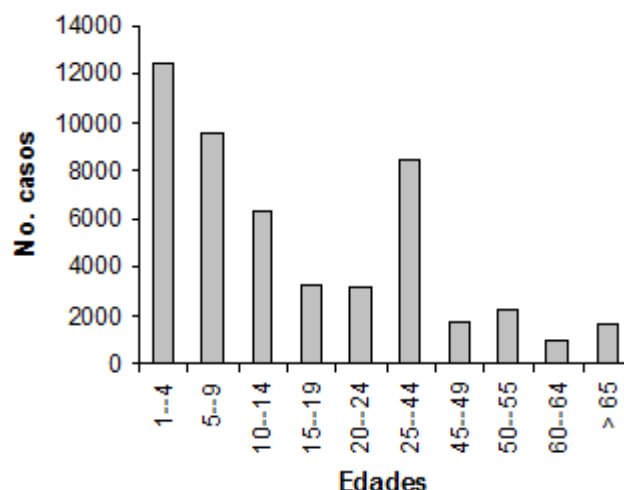


Figura 4: Datos epidemiológicos de la Giardiasis en año 2003. En el año 2003 la prevalencia de *Giardia intestinalis* es elevada en la edad de 1-4 años por bajas condiciones higiénicas en México (Rojas, Aguirre, 2003).

Su distribución geográfica es de amplia dispersión mundial y de elevada prevalencia. *G. lamblia* es el protozoo que con mayor frecuencia se encuentra en el examen (CPS) coproparasitoscópico. En 2012 a nivel mundial se estimó una frecuencia de 200,000,000 de individuos infectados, de los cuales 500,000 sufren esta enfermedad. Existe un 20% de los casos en países en vías de desarrollo, pero sólo de un 3-7% en países desarrollados. También los viajes a países de menor desarrollo son una causa fundamental de los casos de *Giardia intestinalis*. De 1996 a 2005 el 31.1% de los viajes retomados que necesitaron asistencia médica en clínicas de la red GeoSentinel fueron diagnosticados de *Giardiasis* (Mínguez, Dávila et. al., 2008).

El trofozoito tiene una característica específica llamada el disco succionador o disco ventral, constituida por microtúbulos (son cilindros formados por heterodímeros de α y β -tubulina) el cual le ayuda para fijarse en el intestino delgado. Cuando la materia fecal es eliminada con el quiste, permite la continuidad de la infección cuando es ingerido a través del agua y los alimentos contaminados. El metronidazol, es el fármaco de elección contra esta infección, sin embargo durante el tratamiento, se presentan efectos secundarios desagradables. Dada esta situación es muy interesante la búsqueda de nuevos fármacos contra *Giardiasis* (Rojas, Hernández, 2003).

1.2 HISTORIA DE *Giardia lamblia*

En el año 1888 Planchar había sugerido que el parásito fuera denominado lamblia para honrar a Lambli, investigador checo que lo redescubrió 200 años después de Antón Leewenhoek (figura 5), nombre utilizado todavía en la mayor parte de los países de Europa Oriental (Tay, Lara et. al., 2002).



Figura 5: Antón Van Leeuwenhoek. Fue el primero en observar en el año 1681 los trofozoitos de *Giardia lamblia*, realizó un análisis al microscopio con su propia muestra de heces diarreicas Fuente. recuerdosdepandora.com/ciencia/biologia/las-lentes-que-mostraron-a-leeuwenhoek-un-nuevo-mundo.

Los organismos que pertenecen al género *Giardia lamblia*, son protozoos flagelados que se han incorporado en el sub-reino Protozoa, Phylum Sarcomastigophora, Subphylum Mastigophora, Clase Zoomastigophorea, Orden Diplomonadida y familia hexaminitidae (Díaz, 2006).

Giardia lamblia fue nombrado inicialmente como *Cercomonas intestinalis* por Lambli en 1859; sin embargo, el parásito recibió poca atención hasta 1902, cuando el parasitólogo norteamericano Charles Wardell Stiles empezó a darse cuenta de una relación parecida entre la infección por este flagelado y las diarreas. Durante la Primera Guerra Mundial entre 1914 y 1918, observó que los quistes eliminados de la

materia fecal de soldados con diarrea, provocaban similares síntomas cuando se les suministraban a animales de laboratorio (Núñez, Sarracent 2004).

En la actualidad la controversia continúa y en la literatura se le ha citado como *Giardia lamblia* por los científicos latinoamericanos y norteamericanos, *Lamblia intestinalis* por los europeos orientales y *Giardia intestinalis* o *G. duodenalis* por los europeos occidentales (Vázquez, Campos 2009). Esta propuesta persistió hasta en el año 1952 cuando Folice propuso los nombres de *Giardia intestinalis* y *Giardia duodenalis*, actualmente lo más aceptado y conocido como *Giardia lamblia* (Botero, 2003).

2 - ENFERMEDAD GIARDIASIS

La Giardiasis es la enfermedad entérica más frecuente en todo el mundo especialmente en los países de muy bajos recursos económicos y semidesarrolladas. Es una enfermedad común de diarrea en humanos y cuando la infección llega a la fase crónica, afecta el crecimiento, aprendizaje y estado nutricional, principalmente en niños (Uribarren, 2012, Pablo J. et. al., 2012).

Es una enfermedad dada por el contacto directo con materia fecal de sus reservorios el cual pertenece a la clase de zoomastigophorea y afecta al tubo digestivo, particularmente duodeno y yeyuno proximal (Rivera, Hurtado et al., 2002, Tay et al., 2003).

En las aguas como; (lagos de agua dulce, y aguas negras) contaminadas de quistes de *Giardia intestinalis* (figura 6), sobreviven por mucho tiempo. Personas que consumen o utilizan este tipo de agua pueden ser causante de generar Giardiasis, esta infección es la más común en la vía acuática en E.U.A. También esta enfermedad *Giardiasis* es causada por animales domésticos (perros, gatos, terneros) y mamíferos salvajes, los castores pueden infectarse con *Giardia intestinalis* (López, Encinas et. al., 2001).



Figura 6: Aguas negras contaminadas con los quistes de *Giardia lamblia*, un problema para salud humana a nivel mundial (Cermeño, Hernández, 2008).

Giardia lamblia provoca una parasitosis de gran importancia epidemiológica y clínica por su alta tasa de infecciones y patogenicidad, fundamentalmente en la población infantil que comúnmente presenta enfermedades diarreicas agudas, crónicas o intermitentes en todo el mundo (Adam, 2001). La enfermedad más actual, designa la infección del hombre y de otros animales (figura 7) por *Giardia lamblia*, con independencia de que esta da lugar o no a manifestaciones clínicas. Se estiman las infecciones alrededor de 280 millones de personas en todo el mundo, en países de clima tropical y lugares semidesarrolladas, padecen de esta parasitosis zoonótica (Núñez, Sarracent, 2004).

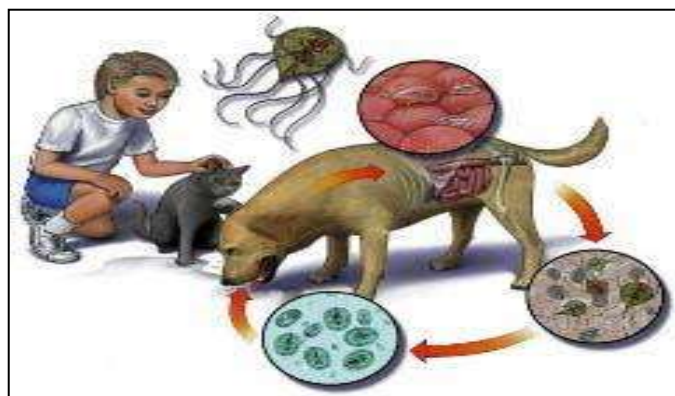


Figura 7: Giardiasis en animales domésticos; los perros y otros animales mamíferos son principales reservorios y portadores de la enfermedad atacando principalmente al intestino delgado (duodeno, yeyuno) Fuente; gnatostomabinucleatum.blogspot.mx/2010/04/giardiasis.

La estructura más importante del trofozoito es el disco adhesivo que se encuentra en la superficie ventral, el cual le ayuda a adherirse a la mucosa del intestino delgado colonizando y provocando la enfermedad *Giardiasis*. La forma infectante es el quiste, que a diferencia de trofozoito, resiste al medio ambiente y puede sobrevivir con el agua varios meses. La transmisión puede ser directa de persona a persona o a través de agua y de alimentos contaminados de quistes (Botero, 2012).

El periodo de incubación puede durar de 12 a 19 días y la duración de la infección puede ser de pocas semanas e incluso puede durar meses. Esta enfermedad puede ser asintomática, aguda o crónica. En el Instituto Nacional de Pediatría (INP), 10 de 18 pacientes fueron sintomáticos y 8 de 18 asintomáticos (Flores, Cabello, 2004).

La infección va seguida de los quistes, cuando se encuentran en el intestino delgado, dando libertad a los trofozoitos que se multiplican por fisión binaria, ocasionalmente en enormes números. *G. intestinalis* es un patógeno del intestino delgado proximal y no se disemina por vía hematógena. Al ingerir 10 cistos es suficiente para generar infección en humanos. Debido a que los cistos son infecciosos al ser excretados poco tiempo después de la ingesta la transmisión de la *Giardiasis*, de persona a persona ocurre en los lugares en donde la higiene fecal es deficiente o pobre (Quesada, Fernández et. al., 2002)

2.1 - *Giardia lamblia* ¿UNA ESPECIE O UN COMPLEJO DE ELLAS?

Durante las últimas dos décadas, estudios realizados utilizando una amplia variedad de criterios genéticos, fenotípicos, clínicos y epidemiológicos han demostrado que *G. lamblia* no es una especie uniforme (Adam, 2001).

A través de varias herramientas moleculares donde incluye análisis de isoenzimas, Reacción en Cadena de la polimerasa con análisis de polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción (PCR-RFLP), tipificación de cromosomas por electroforesis de campo pulsado y secuenciación de genes constitutivos que codifican para las

moléculas como la glutamato deshidrogenasa, β -giardina y el ARN de la subunidad ribosomal menor, se ha mostrado que *G.intestinalis* es un complejo de especie que comprende al menos siete genotipos distintos (Torres, Zapata et. al., 2011).

Como se comentó anteriormente que el trofozoito tiene una característica específica llamada el disco suctor, esta estructura se encuentra constituida por microtúbulos (cilindros formados por heterodímeros de α y β -túbulina), el cual tiene una alta afinidad para fijarse en el intestino delgado (Rojas, Hernández, 2003).

3- TAXONOMÍA DEL PROTOZOO *Giardia lamblia*

La clasificación taxonómica del protozoo *Giardia lamblia* es un tema muy polémico en últimos años debido a las siguientes razones. Muchas de las primeras descripciones taxonómicas de *Giardia* asumieron una diferente especie, para cada huésped infectado y consecuentemente se estimó el número de especies (Núñez, Sarracent, 2004).

Giardia intestinalis también es común en los animales domésticos como perros, gatos, bovinos, ovejas y caballos. En la actualidad la clasificación taxonómica ha identificado cinco especies diferentes dentro de este género basado en la morfología y sus huéspedes de los trofozoitos (Tabla 4). En esta clasificación, *G. duodenalis* y *G. intestinalis* son los nombres aceptados para el especies que infectan a los humanos y gran variedad de animales (Flores, Cabello, 2004, Hernández, Chaparro et. al., 2012).

Tabla 4. Especies reconocidas dentro del género *Giardia*.

Especies	Hospederos	Características morfológicas
<i>G. intestinalis</i>	Se ha encontrado en una variedad de mamíferos domésticos y silvestres, incluyendo a los humanos	Trofozoitos con forma de pera con cuerpos medianos con forma de grafio.
<i>Giardia agilis</i>	Anfibios	Los trofozoitos son largos y delgados con cuerpos medianos, tienen una forma de garrote
<i>Giardia muris</i>	Roedores	Trofozoitos esféricos con cuerpos medianos y pequeños
<i>Giardia ardeae</i>	Aves	Trofozoitos esféricos, con muesca prominente en el disco ventral. Los cuerpos son medianos pueden ser redondos o ovalados
<i>Giardia psittaci</i>	Aves	Trofozoitos con formas de pera, cuerpos medianos con formas de garfio.

Cantidad de especies de este género encontrados en diferentes hospederos basado en las características morfológicas. Extraído de: (Wisnivesky, 2003).

Según la clasificación de los protozoos de Levine en 1980, el género *Giardia* está incluido en (Tabla 5).

Tabla 5: Taxonomía de *Giardia lamblia*

Reino:	Protista
Subreino:	Protozoa
Phylum:	Sarcomastogophora
Subphylum:	Mastigophora
Clase:	Zoomastigophorea
Orden:	Diplomonadida
Familia:	Hexamitidae
Género:	Giardia
Especie:	lamblia

Extraído: (Thomson 2008).

Los parásitos que presentan en su morfología de 6 a 8 flagelos, dos núcleos y cuerpos medianos o parabasales, están dentro de las familias de; *Hexamitidae*. Que incluyen a un único Género como el presente microorganismo de la tabla 5 (Cadena, 2008).

3.1 - MORFOLOGIA de *Giardia lamblia*

Morfológicamente adopta dos fases, una denominada vegetativa, que corresponde al trofozoito, y una forma más pequeña llamado quiste, es resistente a diversas condiciones ambientales, (figura 8) (Jarabo, 1996).

El trofozoito es piriforme cuando se observa de frente y lateralmente se semeja como una coma o pera, mide 12 a 15 μm de largo, 5 a 9 μm de ancho y 1 a 2 μm de espesor; es aplanado en el dorso ventral y en la superficie ventral se localiza el disco suctor (Flores, Cabello 2004).

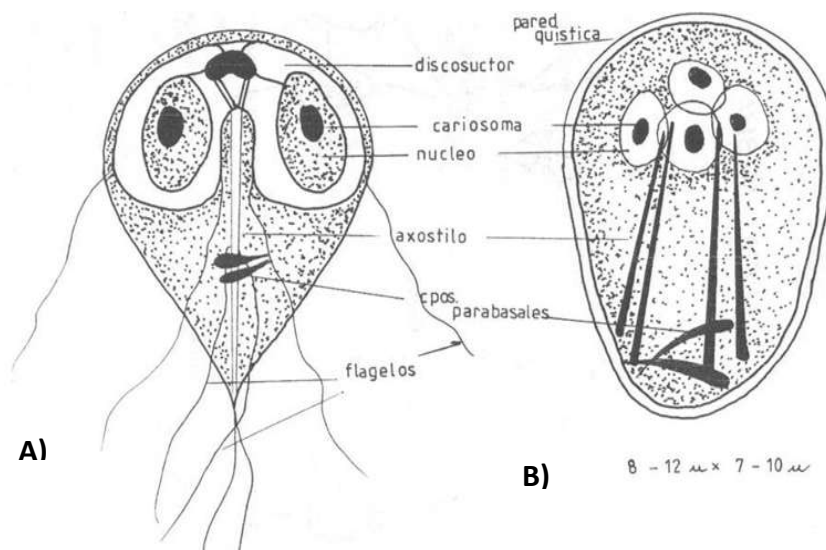


Figura 8: A) Trofozoito y B) quiste de *Giardia lamblia*; se observa las dos fases que presenta *Giardia lamblia*, tiene forma de pera, dentro del trofozoito se distinguen las estructuras como son; Núcleos y el citoplasma. En la fase quística tiene una forma ovalada, formado de pared gruesa, con 4 núcleos y axostilos (Wallace, Geoffrey et. al., 2007)

La multiplicación de *Giardia lamblia* es por división binaria en la superficie de las primeras porciones del intestino delgado del hospedero, a un pH ligeramente alcalino lo que favorece su desarrollo (Uribarren, 2012).

3.2 - ESTRUCTURA DEL TROFOZOÍTO DE *Giardia lamblia*

El citoesqueleto está formado de un cuerpo mediano, cuatro pares de flagelos (anterior, posterior, caudal y ventral), y un disco ventral (figura 8) (Craig, Chester et al., 2003).

Cuando se ven libres de detritos, se mueven por desplazamiento y rotación ondulante y se asemeja a una hoja cuando cae. El trofozoito mide 10 a 20 μ de largo por 5 a 15 μ de ancho, por detrás del núcleo se pueden observar un par de estructuras, curvas de forma cilíndrica que se conocen como cuerpos mediales, los cuales se disponen transversalmente en el citoplasma del trofozoito (Lawrence, Thomas, 2010).

Se distinguen las Siguietes estructuras:

- ❖ **Núcleo:** tiene dos núcleos ovoides que se encuentran 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 se encuentra recubierta por ribosomas.
- ❖ **Citoesqueleto:** consta del disco suctor o ventral, los cuerpos medios y los cuatro pares de flagelos. El citoesqueleto y el disco ventral, tiene un papel importante en la supervivencia de *Giardia* en el intestino del hospedador.
- ❖ **El disco suctorio o ventral:** es una estructura cóncava de 0,4 μ , 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 trofozoíto al epitelio intestinal del hospedero.

- ❖ **Los cuerpos medios:** se encuentran localizados en la línea media del trofozoito y dorsal al flagelo caudal; es la estructura única del género *Giardia* (criterio de clasificación de las especies de este género) (Adam, 2001).

Existen otros orgánulos presentes en el citoplasma de los trofozoítos los ribosomas, los lisosomas, que contienen hidrolasas, DNAsas, RNAsas, cistein-proteasas, etc. y el retículo endoplásmico. Carecen de otros orgánulos características de las células eucariotas como son las mitocondrias. 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 (Adam, 2001).

3.3 - ESTRUCTURA QUÍSTICA DE *Giardia lamblia*

- Los quistes son ovales o elípticos. En preparaciones con tinción de yodo se observa que los núcleos se encuentran en la parte más ancha del quiste (Figura 8), las fibrillas que se entrecruzan entre sí se localizan en el extremo posterior. El citoplasma del quiste puede estar retraído de la pared, en especial en muestras conservadas con formol (Lawrence, Thomas 2010). Los quistes se encuentran en las muestras de heces fecales casi siempre en grandes cantidades. Poseen pared gruesa y muy resistente porque su metabolismo es lento, el tamaño del quiste mide de 9 a 12 μ de longitud, 5 a 8 μ de ancho y de forma elipsoide. Cuenta con dos núcleos cuando se encuentra en estado inmaduro y tres o cuatro cuando son maduros (Jawetz et. al., 2005).

La pared quística es resistente se encuentra formada por una capa fibrilar compuesta por 7 a 20 filamentos. Su grosor es de tamaño 0.3 - 0.5 μ m (Uribarren, 2012). Mientras la porción interna es membranosa, ambas se encuentran separadas por el espacio periplásmico. Estudios realizados de la pared externa del quiste mediante cromatografía gaseosa, espectrometría de masas y análisis enzimático, revelan que el

componente glicoproteico es la galactosamina en forma de (GalNAc) N-acetilgalactosamina, y por lo tanto constituido mayor parte de azúcar (Adam, 2001).

El análisis bioquímico de la pared del quiste, han documentado que los componentes principales, son las proteínas denominadas CWP y carbohidratos. Estas proteínas poseen pesos moleculares de 26 a 39 kDa respectivamente, ambas proteínas contienen regiones ricas en cisteína, leucinas, un péptido señal en N-terminal, así como varios sitios de Glicosilación y Fosforilación (Molina, 2006).

4 -EVOLUCIÓN DE LAS EUCARIOTAS-BÍOLOGÍA CELULAR DE *Giardia lamblia*.

Este protozoo intestinal se ha considerado como un eucariote típico porque se distingue, un núcleo, la membrana nuclear, el citoesqueleto y endomembranal, pero carece de algunos orgánulos que se encuentran casi universalmente en las células eucariotas, por ejemplo; los nucléolos y los peroxisomas. Otras de las características que tiene es ser anaeróbico, carente de mitocondrias o cualquiera de los componentes de la fosforilación oxidativa y no requiere oxígeno para sintetizar ATP. Viven en ambientes anaeróbicos, como sedimentos marinos o lacustres, o en el tracto intestinal de los animales (Adam, 2001).

En parásitos, como *Giardia lamblia*, estudios moleculares han reportado que este microorganismo, durante mucho tiempo se ha utilizado como modelo de estudio de los protistas antimitocondriales, no sólo contiene el genoma nuclear de huellas genéticas de ineludible origen mitocondrial, si no también le encontraron un componente rudimentario, llamado *mitosoma*, que probablemente sea el remanente de una antigua mitocondria (Pereto, Sendra et. al., 2007).

Las células eucariotas muestran un grado superlativo de organización macromolecular los cuales actúan coordinadamente para sostener dichos procesos. Ejemplo; El aparato de Golgi (AG) está presente en todas las células con núcleo, desde

las más antiguas (por ejemplo, *Giardia lamblia*), hasta los eucariontes superiores (por ejemplo, humano) es un organelo celular endomembranoso importante para las células (Jiménez, Merchant et. al., 2003).

4.1 – REPRODUCCIÓN

Este parásito es un organismo con reproducción asexual y funcionalmente haploide, lo que permite cultivar “in vitro”, sin tener que utilizar cultivos celulares; no se ha demostrado reproducción sexual a diferencia de lo que sucede con otros protozoos. En el intestino, cuando se convierten en trofozoitos estos se dividen, mediante un proceso llamado fisión binaria, que incluye la división nuclear en primer lugar, seguida del aparato neuromotor y el disco ventral, y la separación posterior del citoplasma, obteniéndose dos trofozoitos hijos (Delgado, 2007).

4.2 -ASPECTOS GENÓMICOS DE *Giardia lamblia*

La heterogeneidad clínica es porque en su genoma muestra una plasticidad y reorganización en los genes, que intervienen en el control diferencial de su expresión en cuanto a los genotipos. La justificación de esta reorganización, es debida probablemente a que el 14% del genoma es repetitivo. Esta reorganización permite la presencia de subtelomeros, que bajo condiciones selectivas hace que realice modificaciones biológicas como son la presencia de genotipos múltiples (Jiménez, Rivas et. al., 1998).

El trofozoito de *G. lamblia*, igual que otros parásitos del orden Diplomonadida, es binucleado; ambos núcleos poseen idéntico contenido de ADN. El ADN total de este parásito se estima en 1.34×10^8 pares de bases (bp) y un tamaño haploide de aproximadamente 1.2×10^7 bp (12 Mb). Por medio de la aplicación de electroforesis en

gel con campo pulsante (PFGE) y sondas específicas para cada cromosoma, se determinó que *G. lamblia* posee 5 cromosomas, cuyo tamaño varía entre 1.6 y 3.8 Mb, estos resultados sugieren que el trofozoito contiene entre 30 y 50 moléculas de ADN y de 8 a 12 copias de cada cromosoma. En 2002, mediante hibridación “*in situ*”, confirmaron que cada núcleo contiene al menos una copia del genoma (molina 2006).

También se ha determinado la ploidia nuclear y celular del genoma de *G. lamblia* en los distintos estadios del ciclo celular. Durante el desarrollo vegetativo, el genoma del trofozoito varía entre diploide ($2n$) y tetraploide ($4n$), siendo la n el genoma haploide. Cuando se comienza a formarse el quiste, el trofozoito realiza 2 rondas sucesivas de replicación cromosómica sin división celular dando origen a 4 núcleos con una ploidia de $4n$ cada uno y durante el desenquistamiento, el trofozoito se divide 2 veces dando 4 células con 2 núcleos diploides (figura 9) (Bernarder, et al., 2001).

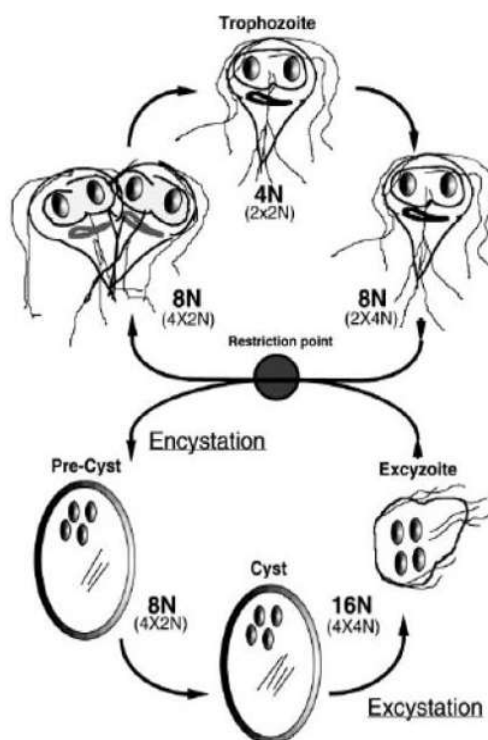


Figura 9: Ploidia y numero de cromosomas de *G. lamblia* durante el enquistamiento y desenquistamiento. Extraído de (Molina 2006).

4.3 - METABOLISMO DE *Giardia lamblia*

Por regla general, todos los protozoos flagelados y ciliados se alimentan a través de una estructura definida, el perostoma o citostoma. El nutriente ingerido por los parásitos flagelados puede conservarse en gránulos intracitoplasmáticos o en vacuolas. En mayoría de los parásitos protozoarios la respiración se realiza mediante procesos anaeróbicos facultativos. Otras de las características que presentan los parásitos protozoarios para asegurar la supervivencia en condiciones ambientales duras o desfavorables, se transforman en una forma quística de menor actividad metabólica. El quiste se encuentra rodeado de una gruesa pared celular externa N-acetilgalactosamina (GalNAc), capaz de proteger al microorganismo de las agresiones físicas y químicas, que le resultarían mortales (Murray, 2007). Como se ha comentado que este protozoo aparte de los núcleos, también está formado de un orgánulo llamado Aparato de Golgi (AG) muy importante para las células eucariotas. Una de las funciones que hace, es la adición de moléculas de azúcar a los péptidos en tránsito (glicosilación) para la formación de glicoproteínas; algunas de estas pueden a veces terminar como proteínas integrales de la membrana, es por eso que el componente mayoritario es el azúcar (Jiménez, Merchant et. al., 2003).

La respiración endógena es estimulada por glucosa; el metabolismo de este microorganismo está basado en la glucólisis que conduce a la producción de acetato, etanol, alanina y CO₂. Cataboliza la asparagina mediante la dihidrolasa de arginina para la producción de ATP. La identificación de varias enzimas que participan en las vías metabólicas de los carbohidratos demuestra que el metabolismo energético de este protozoo es fermentativo. No realiza ciclo de Krebs, porque carece de mitocondrias y las enzimas de este orgánulo (Vázquez, Campos, 2009).

5 -CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE *Giardia lamblia* OBTENIDAS DE HUMANOS.

Se han identificado varios genotipos, mediante estudios moleculares, cuya prevalencia varía de 2% en países industrializados al 70% en los países en desarrollo. *Giardia lamblia* es una especie compleja, tiene siete genotipos denominados A (AI y AII), B(BI, BII, BIII), C, D, F, E, G morfológicamente iguales pero fenotípica y genéticamente distintos, genotificadas por PCR (Molina, Basualdo et. al., 2010).

Esta caracterización de *Giardia lamblia* obtenidas en humanos, demostraron que estas se alinean en una de dos agrupaciones: genotipo A y B los cuales han sido detectados en numerosos mamíferos (Tabla 3) lo que revelan su potencial zoonótico (Fonte, Almannoni et. al., 2010).

Si bien estos genotipos presentan diferente especificidad de huésped, solamente los genotipos A y B son los responsables de producir *Giardiasis* en humanos (Molina 2009).

Se han reportado los estudios de zoonosis de *G. intestinalis*, donde el objetivo fue obtener aislamientos provenientes de humanos y de animales muy relacionados. El genotipo A se puede encontrar en dos subgrupos: subgrupo A-I, formado por *Giardias* obtenidas en humanos y de otros animales (sobre este subgrupo se han encontrado los estudios sobre el potencial zoonótico) y subgrupo A-II, es encontrado exclusivamente por aislamientos provenientes de humanos. Un estudio reciente demostró que ambos genotipos (A-B) pueden ser hallados parasitando al mismo hospedero (Fonte, Almannoni et. al., 2010).

Informan en otros estudios de identificación de los genotipos de *Giardia lamblia*, en niños con edades comprendidas entre los 0 y los 5 años de edad, pertenecientes a familias que viven en zonas satélites de la capital de Guatemala, cuyo nivel socioeconómico se puede clasificar como medio/bajo, con disponibilidad de alcantarillado y de agua de red, no necesariamente potable. Los resultados de estos

estudios son: Veintiocho (63.6%) de las 44 muestras estudiadas contenía *G. lamblia* genotipo B, 9 (20.5%) contenían genotipo AII, y las 7 restantes (15.9%) presentaron ambos genotipos. El método que se aplicó no permite detectar otros genotipos de *Giardia* que posiblemente podrían estar presentes, por lo que no se puede asegurar su ausencia. Estos resultados son similares a los obtenidos en otros países de América Latina (Nicaragua 76%, Argentina 93%). Así el genotipo B aparece como predominante en los estudios realizados el resto de las muestras pertenecen al genotipo AII. Por el contrario, otros estudios moleculares reportan, como en Perú, el genotipo que se encuentra en mayor porcentaje infectando a la población es el A, y menor predominio le corresponda al BIV. Los resultados son similares obtenidos de México, donde existe un mayor porcentaje de muestras con genotipo A (Clavel, Aldana et. al., 2011, Cedillo, Rivero et. al., 2003).

Se han considerado como los genotipos potencialmente zoonóticos A y B encontrados infectando a humanos y un amplio rango de hospederos, entre los que se encuentran los perros, gatos y otros animales. En especial el subgenotipo BIV. Los genotipos restantes (C-G) se consideran huésped-específico (Torres, Zapata et. al., 2011).

5.1- CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE *Giardia lamblia* OBTENIDAS DE ANIMALES

Han sido demostrado aislamientos provenientes de varios mamíferos, cinco nuevos genotipos de *G. lamblia* (C al G). Las *Giardias* alineadas en estos genotipos son morfológicamente idénticas a las provenientes de humanos, aunque las secuencias de los genes que codifican para algunas de sus moléculas son diferentes a las de los genotipos A y B (Almannoni, 2010).

Un estudio de prevalencia de genotipos han reportado que los genotipos “A y B” aparte de ser hallados en humanos también están reportados en gran número de

animales; “A” animales de granja (bovinos, Ovinos, Caprinos, y Porcinos) y animales silvestres (Castores, Cuyos y Loris); “B” Caninos, Chinchilla, Ratas y Loris (Otero, Ibarra et. al., 2011).

Los genotipos “C y D” son hallados en animales como en caninos; el genotipo “E” en animales de granja; el genotipo “F” en felinos, y el genotipo “G” en ratas Tabla (6). Un estudio que fue realizado en los estados de la República Mexicana (Morelos, Estado de México e Hidalgo). Los genotipos que fueron hallados en las muestras de bovinos, dieron un 5.17% y en ovinos fue de 11.3%. Los genotipos identificados en este estudio de 2011 registraron el genotipo “AI”, “BII” (zoonóticos) y “E”. Hasta donde se sabe, no había registros de estos genotipos en muestras de bovinos en México. Adicionalmente se encontró la mezcla de genotipo especie-especifico con genotipo AI con BIII y mezcla de “E con BIII” (Otero, Ibarra et. al., 2011).

Tabla 6. Genotipos de *Giardia lamblia* y sus hospedadores

Especies	Conjuntos de genotipos	Hospedador
<i>G. intestinalis</i>	Conjunto A	Humanos y otros primates, perros, gatos, ganadería, roedores y otros mamíferos salvajes.
<i>G. intestinalis</i>	Conjunto B	Humanos y otros primates, perros
<i>G. intestinalis</i>	Conjunto C/D	Perros
<i>G. intestinalis</i>	Conjunto F (<i>G. cati</i>)	Gatos, Felinos
<i>G. intestinalis</i>	Conjunto E (<i>G. bovis</i>)	Ganado vacuno y otra ganadería ungulada
<i>G. intestinalis</i>	Conjunto G (<i>G. simondi</i>)	Ratas

En la actualidad han sido encontrados en un gran número de especies y genotipos de *Giardia lamblia* que difieren principalmente en su gama de hospedadores y la nomenclatura más ampliamente aceptada con respecto a los genotipos que se han sido caracterizado (Thomson, 2008).

6 - MECANISMOS DE TRANSMISIÓN DE *Giardia lamblia*

Giardia lamblia está en diversos ciclos de transmisión que pueden actuar independientemente, por ejemplo, en humanos, en ganado, perros y alimentos (frutas y verduras). No obstante, no se conocen las circunstancias en las cuales pueden interactuar tales ciclos de infección, sobre todo cuando el resultado puede ser una transmisión zoonótica (Thomson, 2008).

La principal fuente de infección es la vía fecal-oral contaminada con los quistes que provienen de los alimentos contaminados o animales como: perros, gatos, ratas, ovejas, cabras, vacas, cerdos, caballos, entre otros (figura 10). Por otro lado, cuando un individuo o persona se encuentra infectada puede eliminar hasta 9 mil millones de quistes de por día, una cantidad mucho mayor que la necesaria para causar infección (100 quistes) (MOLINA, 2009).

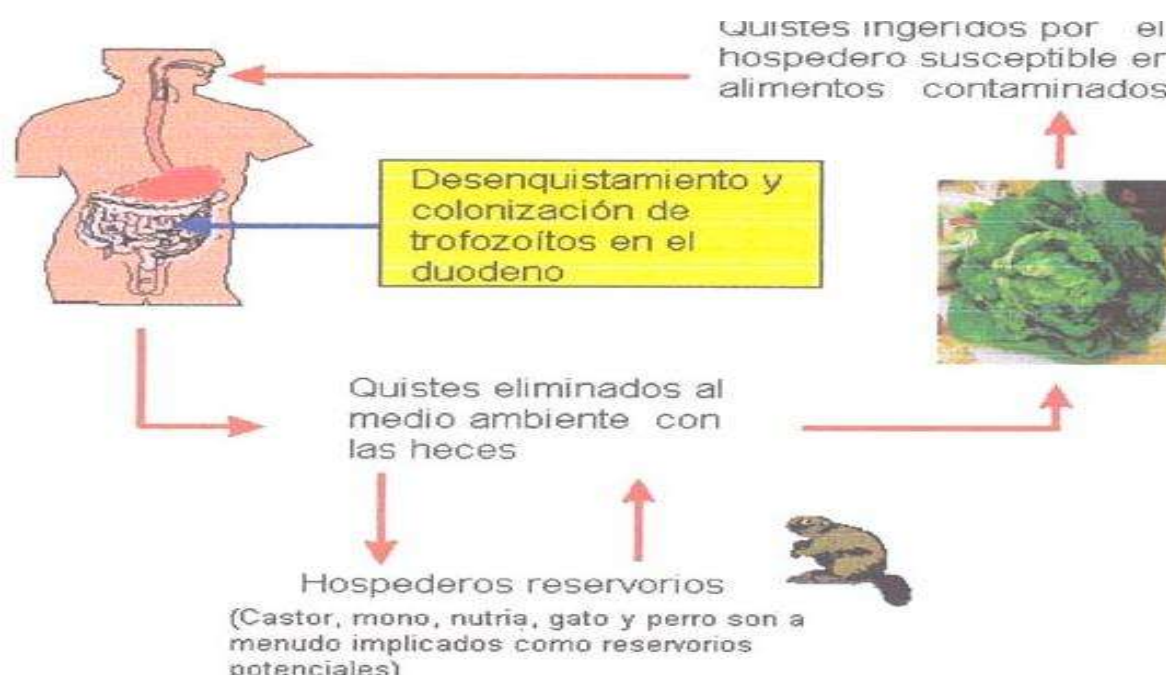


Figura 10. Mecanismo de transmisión vía fecal – oral por alimentos contaminados. Cuando los quistes son eliminados con las heces de humanos y animales contaminan el agua y los alimentos (frutas, verduras), generando un mecanismo de infección por la vía fecal – oral, sobre todo a través del agua de beber, alimentos contaminados y por contacto directo de persona a persona (Rivera, Hurtado et. al., 2002).

6.1 - TRANSMISIÓN ZONÓTICA DE *Giardia lamblia*.

Los estudios moleculares han demostrado, que en animales de granja y salvajes pueden ser hallados genotipos, que infectan la humano. También ha sido demostrado que se genera la infección experimental de algunos animales (perros y castores) por *Giardias* de origen humano (Almannoni, 2010).

Los animales infectados, como las mascotas, especialmente los perros, juegan un papel importante en la propagación del parásito (figura 11). Esta cercanía hacia los humanos no está libre de riesgos, ya que un perro infectado, sin importar las condiciones higiénico-sanitarias, puede actuar como fuente de infección para el humano, contaminando con materia fecal. Cualquier persona es susceptible de infectarse, debido a que esta parasitosis es adquirida por vía fecal-oral, pero son los niños, justamente por su naturaleza curiosa, los que están en mayor riesgo de infectarse, (Torres, Zapata et. al., 2011).



Figura 11: Transmisión zoonótico. Se da por contacto directo de la materia fecal de los animales portadores de la infección. Sin importar las condiciones higiénicas actúan como fuente de infección, *G.lamblia* parasita principalmente al intestino delgado, (Devera, Niebla et. al., 1988).

6.2 - TRANSMISIÓN HÍDRICA DE *Giardia lamblia*

Las infecciones tienen lugar tras la ingestión de aguas contaminadas, ya sea por mal saneamiento de las condiciones de agua potable (Figura 12) y alimentos (carne cruda, mal preparada y frutas contaminadas etc...). La contaminación de estas a partir de filtraciones de aguas fecales o consumo de agua en largo tiempo. Debemos recordar que la cloración del agua corriente neutraliza la contaminación bacteriana, pero no suele destruir los quistes de *Giardia lamblia* (Uribarren, 2012).

A los individuos que les gusta viajar se les advierte del peligro de beber cualquier tipo de agua no tratada, ya que esta infección les puede resultar una consecuencia desagradable en su viaje (Chacón, Jiménez, 2010).



Figura 12. Transmisión hídrica; se han relacionado brotes de *giardiasis* transmitidas por el agua con sistemas de abastecimiento de agua de consumo durante varios años; en cierta etapa, *Giardia* fue la causa identificada más frecuente de brotes transmitidos por el agua en los EUA (Slifko, Smith et. al., 2000).

6.3 - TRANSMISIÓN DIRECTA DE *Giardia lamblia*

La infección directa de persona a persona por medio de la transmisión fecal-oral es otro de los principales mecanismos por el cual se transmite la enfermedad (figura 13). El organismo tiende a encontrarse de manera más frecuente en los niños o en grupos de individuos que habitan en cuartos cercanos (Solarte, Peña et. al., 2006).

Adicionalmente, las prácticas sexuales peculiares realizadas por heterosexuales u homosexuales, pueden generar la infección de un individuo sano a partir de otro individuo infectado sintomático o portador. Los portadores son generalmente asintomáticos pero eliminadores de quistes por medio de las heces, constituyen ejes importantes en la cadena epidemiológica para la transmisión de la infección (Chacón, Jiménez, 2010).

Otra de las evidencias en favor de la transmisión zoonótica directa se llegó a conocer en 2004, tras el trabajo realizado en la zona de cultivadores de té de la región de Assam, India. Este estudio encontró el mismo genotipo de *Giardia lamblia* en las personas y en los perros, no sólo en la misma comunidad, sino también en las mismas viviendas. La transmisión zoonótica fue sustentada, además, por una fuerte evidencia epidemiológica la significativa asociación entre la presencia de infección por *Giardias* en los humanos y la presencia de un perro infectado por *Giardia* en la misma vivienda (Almannoni, 2010).

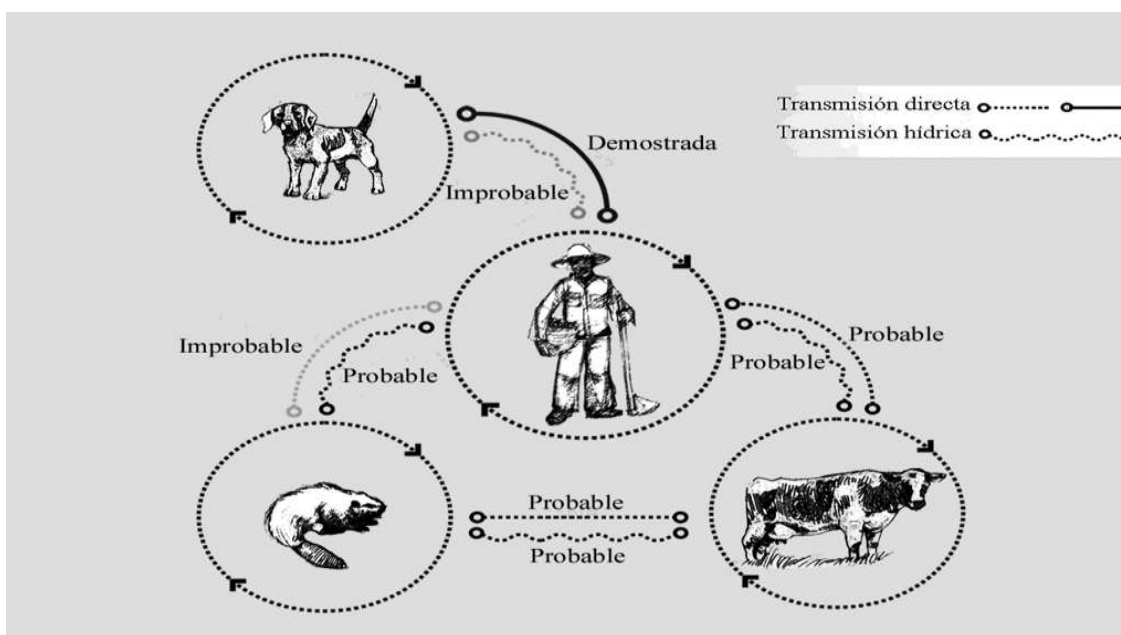


Figura 13. Vías de transmisión (directa) de *G. lamblia*. Con base en lo que se conoce sobre la prevalencia de la infección en diferentes especies de animales, incluido el hombre, y los agrupamientos genéticos que caracterizan a esta especie, se han descrito cuatro ciclos de transmisión de la infección por este protozoo: en humanos, en animales de granja y en animales salvajes (Almannoni, 2010).

7 - CICLO BIOLÓGICO de *Giardia lamblia*.

El ciclo de vida está formado por dos estados fundamentales: “el quiste y el trofozoito” (Figura 14). El quiste es la forma mediante el cual se transmite la enfermedad ya sea a través del agua o alimentos contaminados. Es relativamente inerte y resistente a los cambios ambientales, aunque también pueden ser destruidos por la desecación y el calor. Sin embargo otros estudios de la vida de *G.intestinalis* han reportado que es viable en agua fría hasta por 16 días, y es resistente a las concentraciones de cloro utilizadas habitualmente en los sistemas de acueducto (Núñez, Sarracent, 2004). El hospedero infectado elimina quistes de *Giardia* al medio ambiente con las heces y el hospedero susceptible contrae la infección por la ingestión de estos. Es decir, el ciclo evolutivo se completa en un solo hospedero determinado un ciclo monoxenico y una infección por fecalismo (Tanata, 2002).

Giardia intestinalis utiliza dos bien conocidos, mecanismos de adaptación a los cambios ambientales que confronta durante su ciclo de vida, ya sea para proliferar o sobrevivir dentro del intestino del huésped como es la variación de sus antígenos de superficie o fuera del mismo, la diferenciación de trofozoito a quistes (Lujan 2006).

Se encuentra principalmente en el intestino delgado del hospedero. El desenquistamiento da inicio después de que los quistes se degluten, pasan por el pH ácido del estómago y se activa con el pH alcalino del duodeno (la acidez gástrica y las enzimas intestinales estimulan la liberación de trofozoitos), este proceso se activa rápido y además en este proceso los trofozoitos se dividen asexualmente por fisión binaria longitudinal después de salir del quiste las sales biliares y el colesterol favorece el desarrollo de los trofozoitos, lo que promueve la colonización del duodeno y yeyuno (Craing, 2003). Gracias a los rápidos movimientos de sus flagelos, el trofozoito se desplaza activamente a diferentes lugares, y cuando aplica su disco suctor a la superficie epitelial del intestino, se fija finamente a esta y se divide, colonizando profusamente la mucosa intestinal (Tay, 2003).

En la materia fecal diarreica es frecuente encontrar trofozoitos. Cuando la materia fecal es líquida se comienzan a deshidratar gradualmente en su tránsito hacia el colon se produce el proceso de enquistamiento (liberando quistes) (Craig 2003). El enquistamiento se lleva a cabo principalmente en el yeyuno, probablemente por la acción de bilis y productos de lipólisis (Bazán, Arguello et. al., 2008).

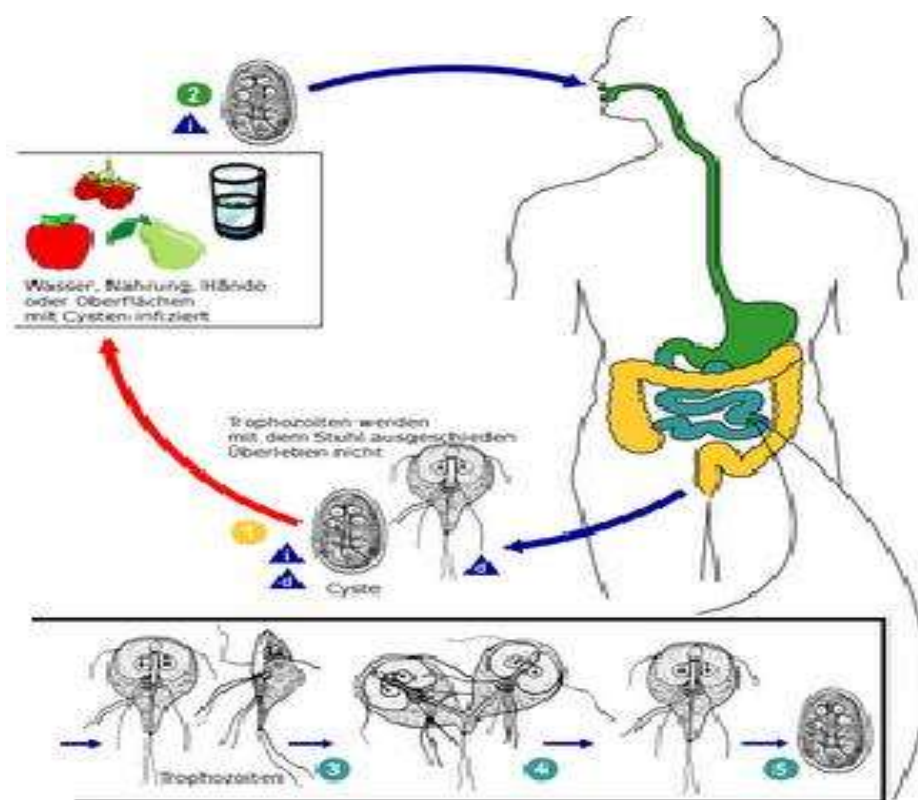


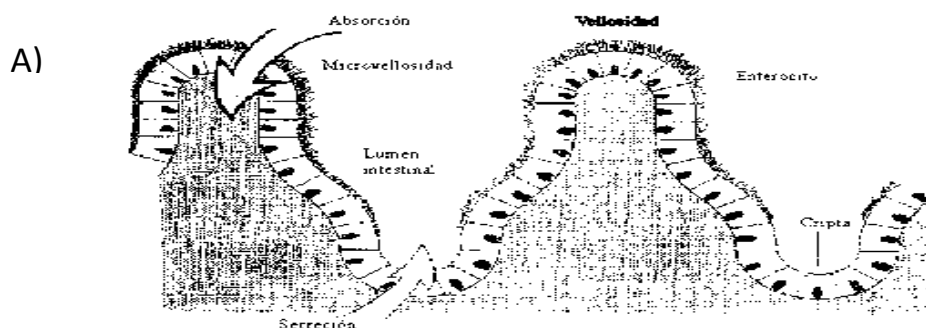
Figura 14. Ciclo de vida de *Giardia lamblia* se localiza en la luz del intestino delgado (principalmente en el duodeno) adherido a las vellosidades intestinales por medio de su disco succionador. Cuando el contenido intestinal inicia el proceso de deshidratación, se reproduce y se alimenta. Y también es el momento en el que comienza el enquistamiento del trofozoito, perdiendo la morfología del trofozoito, y adquiere una morfología ovalada, se rodea de una pared quística y madura. Los quistes expulsados con las heces ya son infectantes. Cuando los quistes son ingeridos nuevamente por un hospedero, llegan al duodeno, donde se disuelve la pared quística, dando lugar a un quiste tetranucleado y se divide inmediatamente en dos trofozoitos binucleados, cerrando su ciclo vital extraído de (Ruiz, 2011).

Aun no se han determinado en su totalidad cuáles son los estímulos inductores del enquistamiento “*in vivo*”, sin embargo existen evidencias de cuál sería la naturaleza de estos debido a que este proceso de diferenciación ha sido reproducido “*in vitro*” siguiendo diversas estrategias que incluyen: (1) empleo de una atmósfera de N_2/CO_2

en una proporción de 90:10, (2) uso de altas concentraciones de sales biliares en el medio de cultivo y (3) empleo de medios deficientes en colesterol. El segundo método ha sido el más reproducible y eficiente, por lo que ha sido empleado en la mayor parte de los estudios reportados en relación con el enquistamiento de este parásito (Bazán, Arguello et. al., 2008).

8 – MECANISMO PATOGENICO DE *Giardia lamblia*

Las patogenias por *G. intestinalis* no han sido identificadas. Se habla de una patogenia multifactorial y se han implicado a factores dependientes tanto del parásito como del hospedador. Cuando los quistes de *G. lamblia*, son ingeridos al hospedero, pasan por el estómago (intestino delgado), se convierten en trofozoitos en el duodeno. Se desplazan por este órgano colonizando y por el yeyuno adhiriéndose por medio de su disco ventral a la superficie de las células del epitelio intestinal (Cañete, González et. al., 2004, Lujan, 2006). Su localización de hábitat es en el “borde en cepillo de los enterocitos” (figura 15 A-B) los cuales cubren las vellosidades intestinales del intestino delgado proximal, sitio donde se realizan importantes procesos metabólicos de digestión y absorción de nutrientes. Por lo tanto es considerado por algunos científicos como enteropatógeno responsable de la enfermedad de diarrea secretora, disminución de la digestión y absorción por daño del borde en cepillo, de los enterocitos de la mucosa del intestino delgado (Izquierdo, Hernández et. al., 1998).



B)

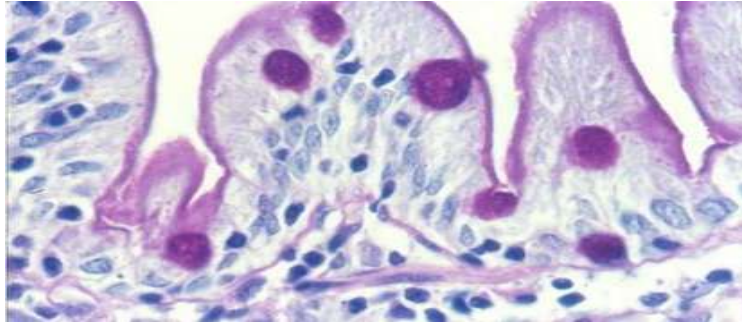
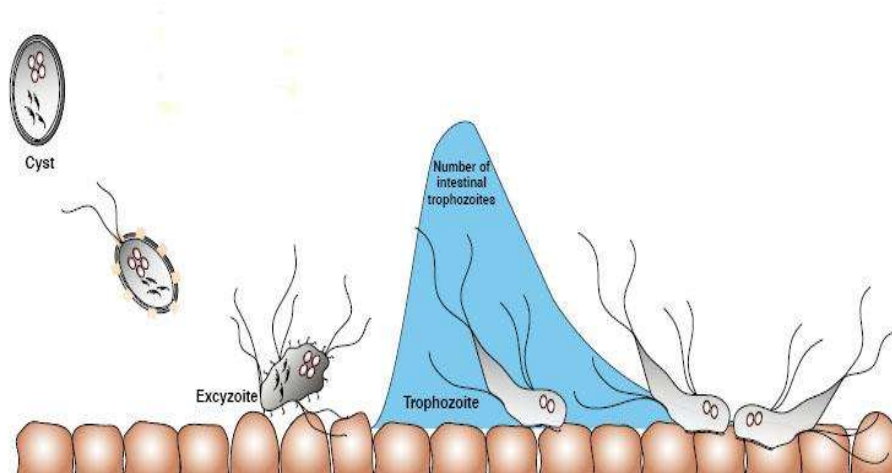


Figura 15 A-B. Estructura del intestino delgado. La tinción de PAS permite ver el moco de las células calciformes y el perfil del borde en cepillo de los enterocitos. También se observa una gran población de linfocitos y células plasmáticas, casi al centro del campo se aprecia un linfocito migrando a través de la membrana basal. Fuente; www.hiperactivos.com/Intestino.shtml, bvs.sld.cu/revistas/ped/vol71_2_99/f0905299.gif.

La capacidad de que el parásito se adhiere se debe a que la membrana está constituida por unas moléculas llamadas proteína α -1 giardina (lectinas), las cuales son activadas por la secreción duodenal y pancreática (proteasa, principalmente la tripsina). Y cuando se activan las lectinas facilita la adherencia de los trofozoitos de *G. lamblia* a las microvellosidades del duodeno (figura 16 A-B) para luego multiplicarse (Delgado, 2007).

A)



B)

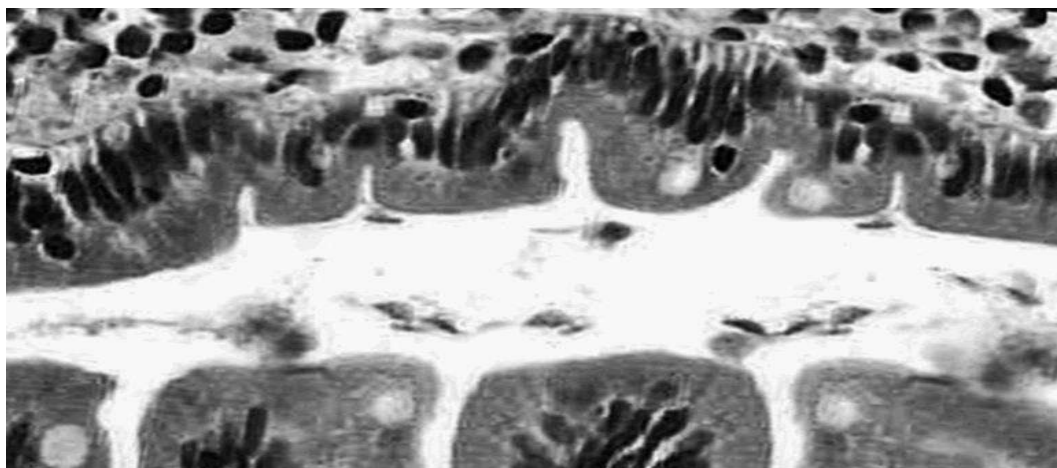


Figura 16 A-B. Trofozoitos sobre la superficie intestinal. **A:** Los trofozoitos cuando son desplazados hacia el yeyuno inmediatamente empiezan a adherirse sobre la mucosa del intestino probablemente por la proteína alfa-1 giardina, que le da la adhesividad de Giardia al epitelio intestinal, se trata de una proteína con actividad lectina y con actividad heparina sulfato (Uberos, 2010). **B:** Los trofozoitos de Giardia pueden encontrarse sobre la superficie de las vellosidades intestinales, tanto en zonas inflamadas como en áreas macroscópicamente indemnes. Giardia no invade la mucosa duodenal, sino que se adhiere a las microvellosidades que corona como un cepillo a las células epiteliales. Generando atrofia en las vellosidades intestinales, sobre todo causada por una reducción en la altura de los enterocitos que la componen (Núñez, López et. al., 2003).

8.1 - FACTORES IMPLICADOS EN INVASIÓN DEL INTESTINO DELGADO POR *Giardia lamblia*

Cuando el trofozoito de *G.intestinalis* se encuentra en intestino delgado, empieza a proliferarse y desplazarse, causando ciertas alteraciones histoquímicas, debidas a la activación de los linfocitos T por la presencia de proteínas variantes de superficie (VSP), provocando atrofia de las microvellosidades intestinales, lo que lleva consigo una pérdida o disminución de la actividad de las disacaridasas (lactasa, maltasa, sacarosa, etc.), una disminución de la absorción de vitamina B12, una alteración en el transporte de glucosa-sodio y una reducción de la absorción de solutos (Núñez, López et. al., 2003).

En varios modelos experimentales de infecciones por *G. intestinalis* se ha observado que los trofozoitos utilizan varios nutrientes, principalmente glucosa, sales biliares y ciertos aminoácidos del lumen intestinal y por lo tanto el secuestro de sales biliares podría explicar el fenómeno de malabsorción de grasas, y el daño del ribete en cepillo. La disminución de la actividad de las disacáridasas provoca un aumento de disacáridos en el lumen intestinal lo que genera la diarrea osmótica (Molina, 2009).

La invasión superficial de la mucosa se relaciona con esteatorrea (cantidad excesiva de grasa en heces) en ratones infectados, pero la invasión de la mucosa es poco frecuente. Otro método patogénico probablemente es, que los trofozoitos tienden a agregarse sobre la pared intestinal y este hecho podría crear una barrera mecánica a la absorción de grasas y vitaminas liposolubles. Los trofozoitos de *Giardia* se adhieren fuertemente a la mucosa y dejan una marca en su pared. Se ha postulado que esta adherencia irrita el intestino e induce diarrea (Rivera, Hurtado et. al., 2002).

Se ha reportado otras propuestas sobre el mecanismo, donde explican la mala absorción en la Giardiasis (Duodenitis parasitaria) son los siguientes;

- ❖ **Trastorno mecánico:** según el grado de la persistencia, la *Giardia* se dispone y se fija por las ventosas en toda la mucosa duodenal y al yeyuno, la cual queda tapizada y por lo tanto evita o impide el contacto de los nutrientes con la mucosa.
- ❖ **Respuesta inflamatoria:** se caracteriza por edema, aumento de la secreción de mucus y disminución de la altura de las vellosidades intestinales, con pérdida de diversas enzimas localizadas en este nivel, que son esenciales para la absorción de los nutrientes.
- ❖ **Daño inmunológico:** *G. lamblia*, al generar daños en las vellosidades intestinales, se produce una anormalidad de la producción local de inmunoglobulinas, especialmente IgA secretora, lo que impide una respuesta inmunológica local adecuada ante cualquier agresión (Pancho, Piñol, 2006).

8.2 - FACTORES PREDISPONENTES DEL HOSPEDERO PARA LA INVASIÓN DEL INTESTINO DELGADO

Uno de los factores más importantes dependientes del hospedador es la inmunodeficiencia humoral. Como la hipogammaglobulinemia (congénita, común variable, ligada al cromosoma X) o el déficit selectivo de IgA (afecta al 10% a la población). La malnutrición calórico-proteica aumenta la gravedad de la *Giardiasis* por disminución de la producción de enterocitos en los *bilis* intestinales. Por último, habría que citar la micro flora intestinal, imprescindible para la expresión de la patogenicidad de *Giardia lamblia* (Lujan, 2006).

8.3 - PATOLOGÍAS PROVOCADAS POR *Giardia lamblia*

El mecanismo de acción patológico, se debe a la acción del parásito, atacando a la mucosa del intestino delgado, particularmente en duodeno y yeyuno. Este proceso se da por medio de la fijación de los trofozoitos alterados. *G. lamblia* genera una patología relacionada con la presencia de hipogammaglobulinemia, principalmente causado por déficit de IgA secretora (Botero, 2003).

Cuando los quistes penetran en el intestino del huésped, genera diferentes trastornos entéricos: diarrea explosiva, acuosa y fétida, distensión abdominal, flatulencia, náuseas y anorexia; puede haber dolor epigástrico y fiebre ligera, después de un periodo de incubación de 5 a 25 días (Pascual et. al., 2005).

Alteraciones en el borde en cepillo de las microvellosidades intestinales.

- ❖ atrofia o acortamiento de vellosidades.
- ❖ hiperplasia de las criptas.
- ❖ incremento en la permeabilidad celular.
- ❖ Inflamación en la mucosa intestinal (Aguirre 2008).

Un estudio radiológico realizado en 35 de los 57 pacientes que presentaron positivo a *Giardia*, se basó en un tránsito intestinal con sustancia de contraste (Bario-dif). En las radiografías se mostraron las primeras fases del tránsito intestinal en 17 pacientes las siguientes alteraciones; deformación, edema y engrosamiento de las válvulas conniventes (Figura 17) y aumento de secreciones que desdibujan, causando cierta segmentación a nivel del segmento duodeno-yeyunal (Figura 18) (Gerardo, Nicolás et. al., 2002).

Otras de las enfermedades patológicas causadas por *Giardiasis* es la “*Duodenitis parasitaria*”. La mucosa duodenal y yeyuno por la persistencia del parásito y el grado de infestación, desencadena una respuesta inflamatoria y alteraciones de la flora intestinal y es por eso que genera una malabsorción intestinal de nutrientes (Pancho, Piñol, 2006)

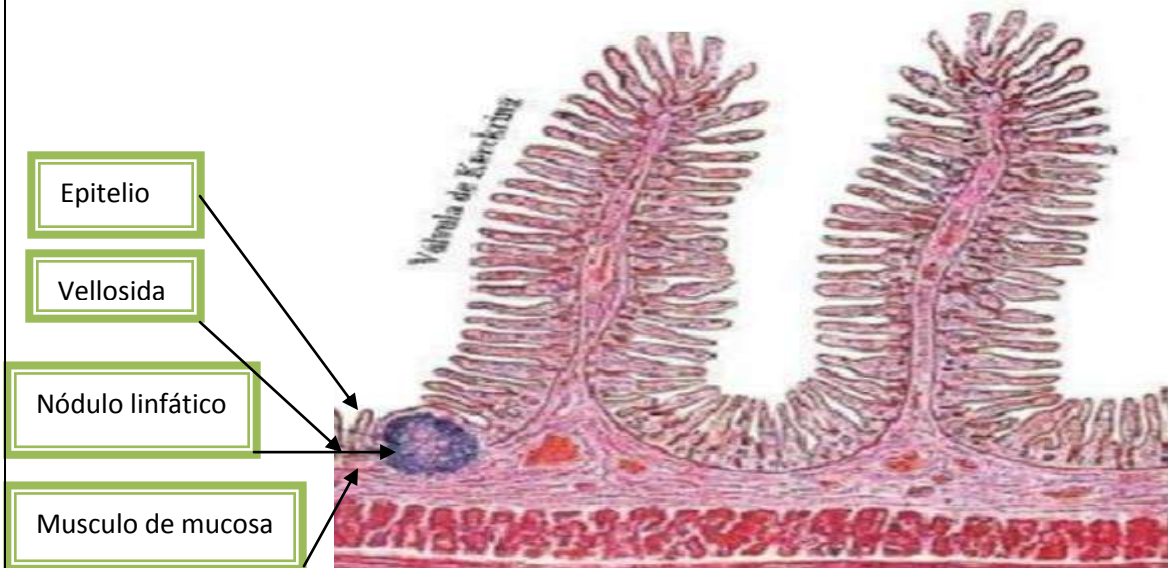


Figura 17. Las válvulas conniventes: son repliegues de la mucosa de unos 8mm de altura, en cuyo interior se encuentran los vasos y nervios; para facilitar la absorción intestinal, en su superficie se encuentran las vellosidades intestinales (Guyton, 2006).

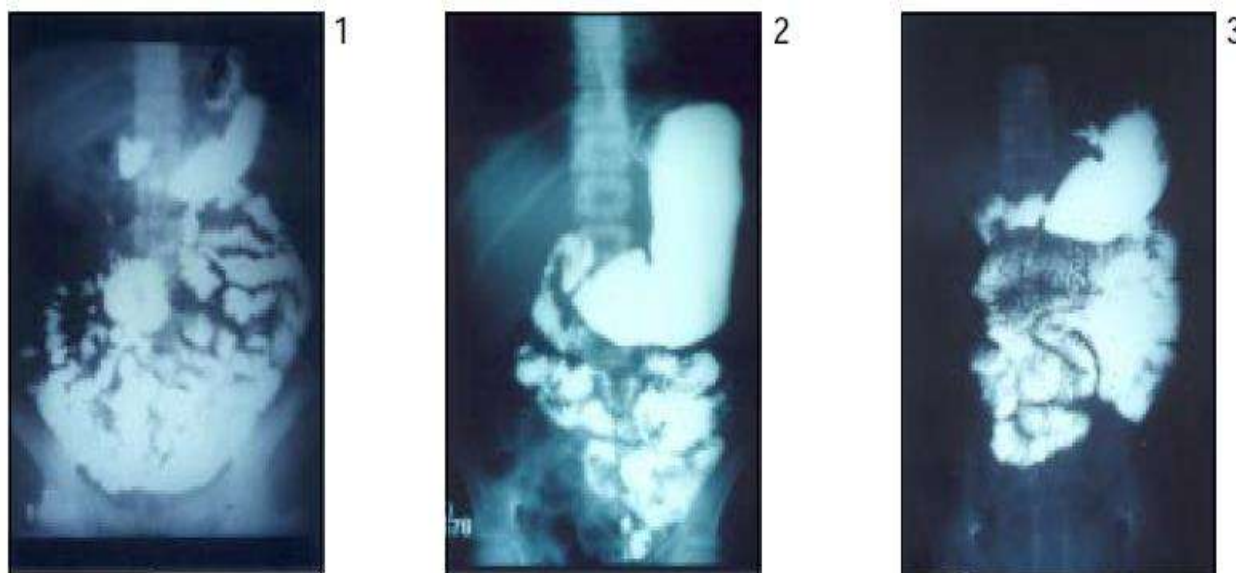


Figura 18: Examen radiológico con sustancia de contraste: los estudios demuestran deformación y engrosamiento de válvulas conniventes y aumento de secreciones que desdibujan los pliegues, causando cierta segmentación, al examen radiológico con sustancia de contraste (Gerardo, Nicolás et. al., 2002).

9 - INMUNOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD GIARDIASIS

La inmunología es una ciencia relativamente nueva. Se encarga del estudio de la defensa del organismo contra las infecciones. El ser humano vive relacionado con muchos microorganismos, muchos de los cuales causan enfermedades o infecciones. Proteínas pequeñas (citocinas), son liberadas por diversas células en el cuerpo, en general en respuesta a un estímulo activador e inducen respuestas mediante la unión a receptores específicos (Janeway et. al., 2009).

Existen factores vinculados o predisponentes al huésped que le dan la susceptibilidad a la infección: Resistencia Natural estado inmunitario, nutrición, edad, sexo y factores Hormonales. Factores que Afectan a la Resistencia Natural: drogas, enfermedades neoplásicas, infección por VIH (Rúgeles, Patiño et. al., 2009).

La respuesta inmune del huésped frente a *G. lamblia* es de tipo humoral y celular. Estudios realizados han identificado alrededor de 20 antígenos polipeptídicos, pero sólo uno de ellos, un polipéptido de 82-KDa (antigen-GSA), es el principal antígeno de

superficie de los trofozoitos de los genotipos A y B. Los anticuerpos IgM, IgA e IgG juegan un papel importante en el control y erradicación del parásito. Del mismo modo algunos subtipos de células como por ejemplo: linfocito “T”, neutrófilos y macrófagos (Gutiérrez, Gaona et. al., 2005).

9.1 - EVASIÓN DE LA INMUNIDAD (Giardiasis frente a la inmunidad del huésped)

G. lamblia presenta un mecanismo de evasión de la Respuesta inmune (RI) a través de su (VSP) que cambian de acuerdo al anticuerpo que lo reconoce; el parásito tiene *cassetes* de genes VSGs que le permite formar cambios de diferentes glicoproteínas. El hospedador realiza una RI frente al VSG1 actual, pero el trofozoito cambia su VSG1 a VSG2. Los parásitos que forman VSG2 escapan a la detección por anticuerpo Ac1, es por eso que son capaces de replicar y continuar la infección hasta que aparezca un nuevo Ac2 para combatir contra VSG2. El proceso se repite, dando vida a los parásitos por meses o años (Rosales, Ortiz, 2008).

En los pacientes inmunodeprimidos (con hipogammaglobulinemia), cuando se infectan con *G. lamblia* hay una probabilidad de generar una infección crónica de Giardiasis, esto es debido a que la capacidad de la respuesta inmune no se encuentra en condiciones normales. Una Inmunoglobulina G (IgG) en suero e Inmunoglobulina A (IgA) dan un resultado significativamente inferior. En los niños inmunodeprimidos indican una infección persistente o crónica de Giardiasis (Robertson, Hanevik et. al., 2010).

10-RESPUESTA INMUNE INTESTINAL CONTRA *Giardia lamblia*

Veinticinco por ciento de la mucosa intestinal está formada del tejido linfoide. Se estima que existen alrededor de 10, 000,000 de células que se encargan de producir anticuerpos por metro del intestino delgado, esto hace al intestino el órgano con

mayor densidad de células inmunes del organismo, superando la cantidad total de células linfoides de los ganglios linfáticos, sus funciones inmunes son tan importantes como las enzimas digestivas. Y por lo tanto el intestino desempeña una función doble (Molina, 2006). a) Identifica nutrimentos inocuos y suprime cualquier respuesta inmune sistémica que pudiera generarse en contra de ellos, b) reacciona vigorosamente para excluir cualquier invasión por microorganismos patógenos especialmente con los parásitos. Esta tarea de selección sólo puede efectuarse después de la eliminación de la mayoría del material de desafío por los procesos de digestión y de defensa inespecífica (Vega, 1994).

10.1 - RESPUESTA INMUNE INTESTINAL CELULAR

La respuesta inmune en el intestino está mediada por tres tipos de células: epiteliales especializadas o de Paneth (CP), las epiteliales diferenciadas de tipo M, y las células dendríticas (CD). Las CP producen lisozimas, y alfa-betas defensinas (Figura 19) (Sepúlveda, Beltrán 2003).

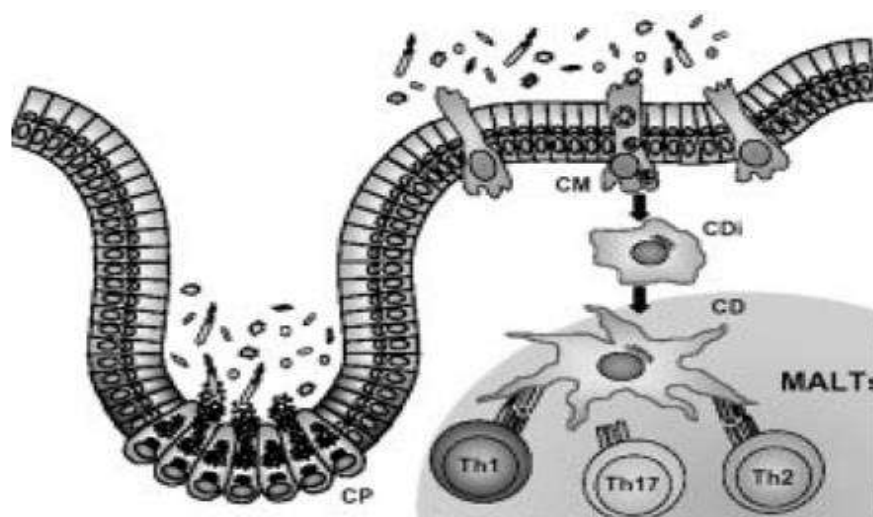


Figura 19 Distribución de las células presentes en el desarrollo de respuestas inmunes en el intestino; las células de Paneth (CP) secretan sustancias que defienden a las células troncales, ubicadas en las criptas. Las células M (CM) captan antígenos extraños presentes en el lumen, los procesa y entregan a células dendríticas inductoras (CDi) inmaduras. Las células dendríticas los procesa y le presenta a linfocitos T, ubicados en ganglios mesentéricos o placas pleyer (MALTs), guiándolos hacia una respuesta Th1 (resp. Inmune celular) o Th2 (resp. Inmune humoral) (Sepúlveda, Beltrán, 2003).

Se ha relatado el incremento de los linfocitos por la presencia de antígenos de *G. lamblia*. Las células T son activadas y los linfocitos intra-epiteliales que tienen papel de protección en la enfermedad Giardiasis, pueden desempeñar papel importante en la patogenia. La respuesta celular participa en la inducción de la respuesta humoral. Los linfocitos T CD4 tienen la capacidad de inhibir la evasión de la respuesta inmune, produciendo inter-leucinas, que estimulan la respuesta humoral (figura 18) contra antígenos de *G. lamblia* (Alparo, 2005).

10.2 - PLACAS DE PEYERS

Las células linfoides se encuentran organizadas en tres compartimentos: folículos linfoides los cuales forman las placas de peyers, incluyendo el apéndice y nódulos solitarios; linfocitos intraepiteliales y linfocitos de lámina propia. Las placas de peyer constituyen la parte más importante del tejido linfoide organizado del sistema inmune y el sitio inductor de inmunidad de las mucosas. Estas células son permeables a la entrada de antígeno y son los responsables de la regulación de la respuesta inmune frente a antígenos alimentarios y bacterianos. Un folículo especializado asociado al epitelio cubre la placa de peyer, contiene células M especializadas. Estas células M transportan a los antígenos particulados y solubles por medio de la superficie epitelial por fagocitosis, permitiéndoles llegar a las placas Peyer. Las placas de Peyer contienen todas las células necesarias para inducir y regular una respuesta inmune (Sanz, 2001).

10.3 - MASTOCITOS

En los estudios experimentales “*in vitro*” estas células son importantes en el control de la infección y son una fuente importante de Interleucina IL-6 en experimentos. Las infecciones por *Giardia lamblia* en ratones muestran una acumulación de mastocitos en el intestino delgado. Se necesitan más estudios para demostrar cual es el papel de

IL-6 y los mastocitos que tienen en la infección de *Giardiasis* en humanos (Roxstrom, Palm et. al., 2006).

10.4 – RESPUESTA INMUNE INTESTINAL HUMORAL

Activación del complemento: los anticuerpos que activan y tienen una función efectora contra *Giardia* son: IgG3 e IgM. Esta activación conlleva a la formación del poro en el trofozoito y a lisis de los quistes. En el intestino también se produce un anticuerpo que no tiene la necesidad de activar el complemento, es la inmunoglobulina IgA, juega un papel importante en la respuesta inmune, es capaz de lisar a los trofozoitos (Figura 20). Adicionalmente existen otros anticuerpos (monoclonales G10/4 y policlonales), estos interfieren en las fases tempranas de la infección en ratones hiper-inmunes, dirigidos hacia una región de epitopos conformacionales ricos en cisteínas, causaban el desprendimiento y la agregación de los trofozoitos mostrando un efecto citotóxico no dependiente del complemento hacia el parásito (Stanger, 1997, Chacón, Jiménez, 2010).

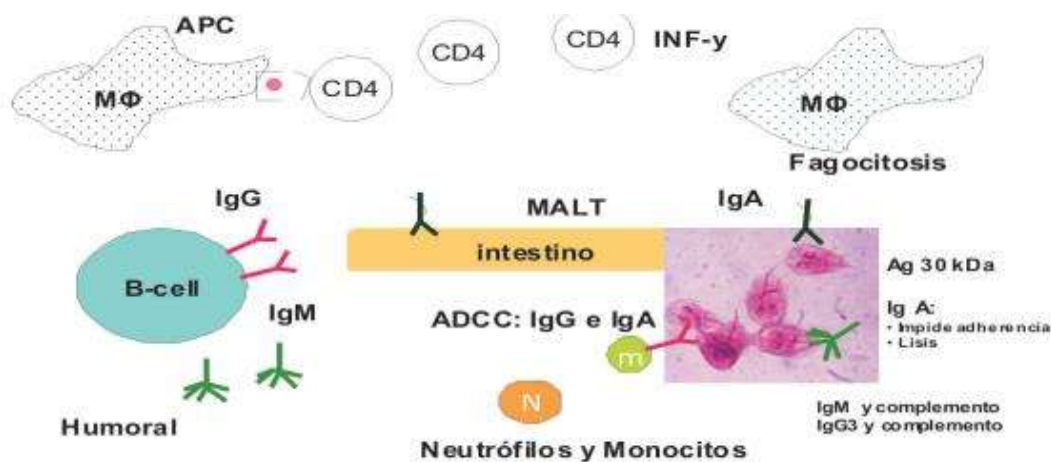


Figura 20: Inmunidad humoral y celular contra *Giardia lamblia*. Los linfocitos T: las células T (CD4+) producen INF-g, que a su vez estimula los macrófagos ubicados en las placas de Peyer, estos macrófagos activados pueden fagocitar trofozoitos de *G. lamblia*. Células Polimorfonucleares (PMN: Neutrófilos, Monocitos y Eosinófilos): son responsables de citotoxicidad celular dependientes de anticuerpos (siglas en inglés, ADCC). La porción Fc de la IgA, se une al receptor de IgA, receptor Fc (alfa) inicia señales que desencadena una cascada de eventos intracelulares. Esto permite la degranulación del contenido de los gránulos de las células efectoras sobre la superficie de los trofozoitos de *Giardia lamblia* (Chacón, Jiménez 2010).

11-PRODUCCIÓN DE PROTEÍNAS Y PÉPTIDOS CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

11.1 DEFENSINAS

Se dividen en dos grandes familias: α -defensinas y β -defensinas. Las α defensinas son producidas por células epiteliales especializadas en las criptas del intestino delgado (células de Paneth), probablemente realizan funciones defensivas contra la infección por *Giardia lamblia*. La β -defensina es formada a partir de células epiteliales de intestino delgado, colon y otras superficies mucosas, parecen estar más vinculadas al control de infecciones por microorganismos invasores en las que tienen lugar respuestas inflamatorias como el caso de la enfermedad *Giardiasis* (Almannoni, 2010).

11.2 -LACTOFERRINA (LF)

La Lf es una proteína no hémica de unión a hierro (figura 21), es perteneciente a la familia de las transferrinas, producida por diversas especies de mamíferos. El papel de la Lf, como componente esencial de la respuesta innata de defensa se ve relacionado por su amplia distribución en secreciones de las superficies mucosas que recubren glándulas exocrinas y diversos conductos como el tracto respiratorio e intestinal y genitourinario. Dichas secreciones forman parte de la primera línea de defensa del hospedero que enfrenta el contacto directo con agentes que colonizan o invaden las superficies mucosas. Esta proteína, y los péptidos derivados de ella conservan el extremo N-terminal, ocasionando la muerte de los trofozoitos del protozoo cuando es añadida a los medios de cultivo (Drago, 2006, Almannoni, 2010).



Figura 21. Molécula de lactoferrina. Está conformada por una cadena polipeptídica simple plegada en dos lóbulos globulares simétricos (lóbulos N y C) conectados por una región bisagra, cada lóbulo es capaz de unir un átomo de Fe. Una de las funciones primordiales de la Lf es el transporte de metales. También actúa como proteína de defensa no específica (Rodríguez, Clamont et. al., 2005).

11.3 – PRODUCCIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO (NO⁻)

La localización de iNOS (iNOS, de inglés: inducible nitric oxide synthase) en la zona apical de célula epitelial intestinal sugirió que “NO⁻” probablemente desempeña papeles defensivos contra la infección por *G. intestinalis*. Varios estudios *in vitro* han proporcionado sustento a esta opinión: “NO⁻” inhibe el crecimiento de *G. lamblia*, pero no afecta su viabilidad. Es decir, tiene un efecto citostático sobre este protozoo. También inhibe la exquistación (lo que también reduce en número de trofozoitos disponibles para la colonización del epitelio intestinal) y la enquistación (lo que disminuye el paso de quistes en las heces) (Almannoni, 2010).

12 - MANIFESTACIONES- CASOS CLÍNICOS DE GIARDIASIS.

Este parásito puede presentar un cuadro clínico polimorfo en el huésped, que va desde las formas asintomáticas, que son diagnosticadas mediante un examen coproparásitoscópico, en donde se observan la presencia de quistes, hasta las formas que cursan con diarrea crónica, síndrome de talla, peso bajo y malabsorción intestinal (Tabla 7) (Vázquez, Campos, 2009). El aspecto clínico de la infección varía de

acuerdo a la intensidad de la infección, la cepa del parásito, estado inmunológico del paciente y nutrición del individuo (Cañete, González et. al., 2004).

12.1-DIARREA AGUDA

Aparecen aproximadamente dos semanas después de la exposición al agente patógeno *G. intestinalis*, genera síndromes diarreicos; agudos. La fase aguda o leve comprende: dolor abdominal tipo cólico, epigastralgia, náuseas, vómitos, anorexia, incontinencia fecal (figura 22) (Jiménez, Rivas et. al., 1998).



Figura 22. Dolor abdominal tipo cólico. Los síntomas empiezan a observarse después de varios días de que el huésped halla ingerido los quistes de *Giardia intestinalis*, presentando molestias agudas, fuente: www.fairview.org/espanol/BibliotecadeSalud/art%C3%ADculo/85288

12.2 -DIARREA GRAVE O CRÓNICA

En las personas inmunodeprimidos, la enfermedad *Giardiasis* es siempre asintomática y grave, con diarreas prolongadas y síndromes de malabsorción. También presenta duodenitis, esteatorrea, flatulencia, alteración en la consistencia de las heces que pueden ser abundantes o líquidas y en los casos crónicos presenta síndromes de mal absorción (déficit de disacaridasa con intolerancia a lactosa), diarrea crónica (*síndrome Celiac like*) (Figura 23), retardo del crecimiento y alteraciones en el estado nutricional, con pérdida de peso más frecuente en los niños (Aparicio, Tajada, 2007, Alparo, 2005)



Figura 23 Diarrea crónica (síndrome celiac like); cuando la infección intestinal por Giardiasis no se da el tratamiento de inmediato, presenta los cuadros clínicos crónicos como; deshidratación, mala absorción de nutrientes, pérdida de peso, heces diarreicas entre otros (Giraldo, Lora et. al., 2005).

En esta fase, las muestras fecales se caracterizan por períodos diarreicos con heces pastosas y espumosas acompañadas de flatulencia y meteorismo que alternan en que las deposiciones son aparentemente normal (Cañete, González et. al., 2004).

Tabla 7: Prevalencia de manifestaciones clínicas de la Giardiasis.

Síntomas	Porcentaje %
Diarrea	63
Déficit de absorción de lactosa	60
Estreñimiento	55
Déficit de absorción de B12/fólico	45
Flatulencia	46
Esteatorrea	44
Dolor/distensión abdominal	32
Fatiga	28
Anorexia/nauseas	20
Pérdida de peso	18
Vómitos	5
Moco en Heces	4
Fiebre	3

La sintomatología gastrointestinal es la más frecuente y comprende un amplio espectro de manifestaciones clínicas. 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 acompañado de pérdida de peso (Soriano, 2002).

12.3-CASOS CLÍNICOS DE GIARDIASIS.

Un individuo por consumir cubitos de hielo contaminado servidos en un restaurante. Estos cubitos de hielo habían sido manipulados por un empleado que era padre de un bebe que cursaba con Giardiasis aguda. Al individuo le empezó dar síntomas de dolor abdominal, mareos, náuseas, vómitos y diarrea. Tubo la necesidad de ir a la consulta médica, recibió atención médica y en el diagnóstico de este paciente se detectaron quistes de *G. lamblia* (Pascual et. al., 2005).

Un individuo de 24 años de edad, tenía antecedentes de asma bronquial infantil y alergias a los contrastes yodados, acude al médico por un aumento de la velocidad de sedimentación globular y anemia. Se le realizó un estudio de colonoscopia donde se le revelo pequeñas imágenes nodulares en íleon terminal y su estudio anatomopatológico demostró enteritis crónica inespecífica con hiperplasia folicular linfoide. La presencia de anticuerpos antitransglutaminasa tisular y antigliadina IgG e IgA a títulos de 17,91 UI (normal <10), 18.50 UI (normal <18) y 3 UI (normal < 3), se sospechó una enfermedad celiaca, inmediatamente se indicó biopsia duodenal. El estudio histológico del duodeno demostró infiltrado inflamatorio crónico linfocitario, sin atrofia vellositaria y grupos de estructuras alargadas y ovaladas, flageladas y binucleadas que correspondían a trofozoitos de *G. lamblia* (figura 3) (Gutiérrez, Gaona et. al., 2005).

Se reportado otro caso en 2011 de un varón de 49 años de edad, por *G. lamblia*, el varón padece una enfermedad inmunológica, conocida como *hipogammaglobulinemia variable común*. La inmunodeficiencia variable común (IVC), en la mayoría de los pacientes que presentan esta enfermedad, cuando las manifestaciones digestivas son frecuentes, estas son derivadas de diarreas crónicas causadas por *Giardiasis*, hiperplasia nodular linfoide o atrofia vellosa. La IVC es una inmunodeficiencia primaria predominantemente de anticuerpos (Ig) cuya característica más importante es la presencia de hipogammaglobulinemia a expensas principalmente de IgG e IgA (Domínguez, González et. al., 2011).

13-EPIDEMIOLOGÍA

G. lamblia se encuentra en todo el mundo. La infección es frecuente en zonas tropicales y subtropicales donde la temperatura de menor de 18°C, la humedad y la deficiencia de higiene favorecen la transmisión (Figura 24) (Quiroz, Figueroa et. al., 2011).

Su distribución varía de acuerdo a las condiciones; económicas, higiénicas y sociales que conllevan a la desnutrición, además se presenta una incidencia elevada en niños con enfermedades por inmunodeficiencias (Rodríguez, Martínez et. al., 2006).

En 2011 se realizó un estudio de investigación sobre genotificación y distribución geográfica de América de los genotipos de *Giardia lamblia* hallados en humanos y caninos. Los principales marcadores utilizados para la genotificación: la subunidad pequeña de RNA ribosomal (SSu-rRNA), el gen β -giardina (β -G), glutamato deshidrogenasa (GDH), tirofosfato isómerasa (TPI). Este estudio, ayudo a la clasificación de la población de *Giardia intestinalis* sobre todo si se requiere realizar estudios de epidemiología molecular: A (AI, AII), B (BIII, BIV), C, D, E, F y G. Los genotipos A y B son encontrados infectando a humanos y un amplio rango de hospederos (figura 25). El resultado de este estudio científico demuestra que en países como México y Colombia fueron los únicos países donde se encontró que el genotipo B genera infecciones muy bajas en los humanos, todos los aislados correspondieron al genotipo A, mientras que en E.U.A se detectó genotipo B. En países como Canadá, Nicaragua, Cuba, Perú, Argentina y Brasil se encontraron ambos genotipos (A o B) entre los aislados analizados (Torres, Restrepo, 2012).

Como ya se mencionó, el riesgo zoonótico más grande proviene de los genotipos del grupo A y en menor grado, de los genotipos del grupo B. Estudios realizados sobre los casos han publicado que en Asia, África y Latino América, cerca de 200 millones de individuos presentan síntomas y en los países desarrollados es el parásito intestinal más común encontrado en humanos (Wisnivesky 2003, Torres, Restrepo 2012).



Figura 24: Deficiencia de condiciones higiénicas en zonas tropicales. El mecanismo de transmisión es por vía fecal –oral, ya que las formas infectantes (quistes), se ingieren al llevar a la boca; alimentos, las manos sucias, tierras que contengan materia fecal infectada. Y por lo tanto la transmisión es más susceptible en poblaciones que no disponen instalaciones sanitarias que aseguren la inocuidad de las aguas de bebida (Sánchez, Requena et al 2005).

Grandes epidemias han ocurrido en contaminación de alimentos y reservorios de agua por *Giardia intestinales*, infectando en algunos casos a miles de personas en varios países de Latinoamérica, la enfermedad Giardiasis en niños afecta cerca de 100% de la población en los lugares económicamente bajos o subdesarrollados. La OMS informa que aproximadamente existen mil millones de individuos infectados en el mundo por *G. intestinalis* (Lujan 2006, Fonte, Almannoni, 2010).

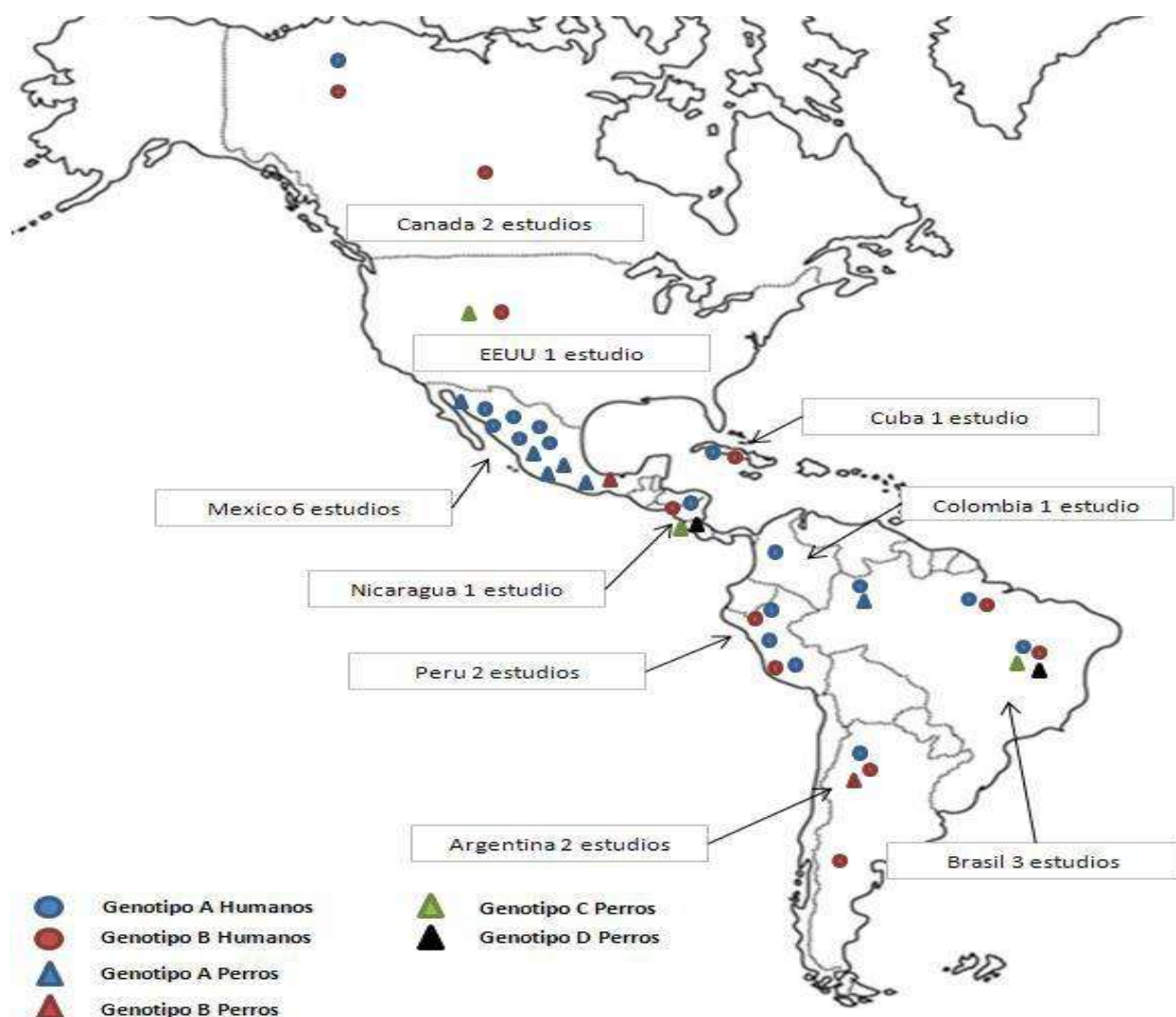


Figura 25: Mapa de distribución de los estudios sobre los genotipos de *Giardia intestinalis* en humanos y caninos (Torres, Restrepo, 2011).

Se puede generar tanto en forma endémica (afectando fundamentalmente a la población infantil con frecuentes reinfecciones) o como una epidemia (afectan a comunidades cerradas o viajeros que visitan *zonas endémicas*). La infección se genera por la ingestión de quistes y más raramente, por trofozoitos, provenientes de la materia fecal infectada (Cheng, Castellano et. al., 2002).

G. lamblia es el parásito que produce diarrea y es diagnosticado con más frecuencia a nivel mundial. Produce infecciones de aspecto clínico variable, desde cuadros sintomáticos hasta diarreas graves con mala absorción de nutrientes (Molina, 2009).

La frecuencia de infección varía de acuerdo al nivel educativo de las personas, las condiciones sanitarias y climatológicas de cada región. Y por esos factores la infección se puede presentar más en niños que en adultos, y en regiones tropicales del mundo (Tay, 2003).

No obstante en estos últimos años las infecciones humanas se hallan en turistas, homosexuales y personas en asilos o guarderías. Constituyen un importante problema de salud pública global, en E.U.A. se considera a *Giardia* un agente de bioterrorismo por su capacidad de ser transmitido por agua, alimentos, verduras y por la transmisión zoonótica principalmente por animales vertebrados. También se ha publicado en muchas agencias de viaje internacionales, donde han indicado que es un potencial “peligro” para las personas que les gusta viajar (Tabla 8) (Lujan, 2006).

En 2001 la Secretaria de Salud (SSA) informo que las enfermedades gastrointestinales, ocasionadas por bacterias o parásitos ocupaban la decimocuarta causa de fallecimiento en el nivel nacional, los estados con mayor incidencia eran: Chiapas, Oaxaca, Guanajuato, Veracruz, Puebla y el Distrito Federal. En el año 2008, el Seguro Social brindo 2 millones con 188 consultas por enfermedades gastrointestinales, los estados con mayor incidencia de estas infecciones fueron: Chihuahua, Coahuila, Jalisco, Michoacán, Guerrero y Oaxaca. De acuerdo con estadísticas del Instituto Mexicano de Seguro Social (IMSS), las infecciones gastrointestinales producidas por diferentes tipos de microorganismos, representan un severo problema de salud pública para nuestro país. *Giardia lamblia* ocupa el primer lugar en incidencias a nivel nacional entre los parásitos intestinales como se observa en la (Tabla 8), (2011 salud mundial).

En otros países, estudios realizados de incidencia, donde el objetivo fue identificar los parásitos más frecuentes, informan que este protozooario ocupa el segundo lugar en las prevalencias de las enfermedades intestinales causado por parásitos protozoarios

como en Venezuela, Perú (figura26). Estos trabajos reportaron que hubo un predominio del protozooario, *Entamoeba histolytica* y en segundo lugar *Giardia lamblia*, (Mora, Leonor, et al., 2005, Thomson, 2008, Devera, Blanco, et al., 2012).

En México, la enfermedad Giaridiasis es muy variable, con cifras que fluctúan del 2% al 39%. Un estudio que reunió 37 trabajos realizados en 14 estados de la República Mexicana, mostró una prevalencia del 18.98%, presentados la mayor parte de ellos en preescolares y escolares. Se calcula que en México hay 9 millones de personas infectadas con *Giardia lamblia*, siendo esta la causa más común de parasitosis intestinal (Campos, Vázquez, 2009).

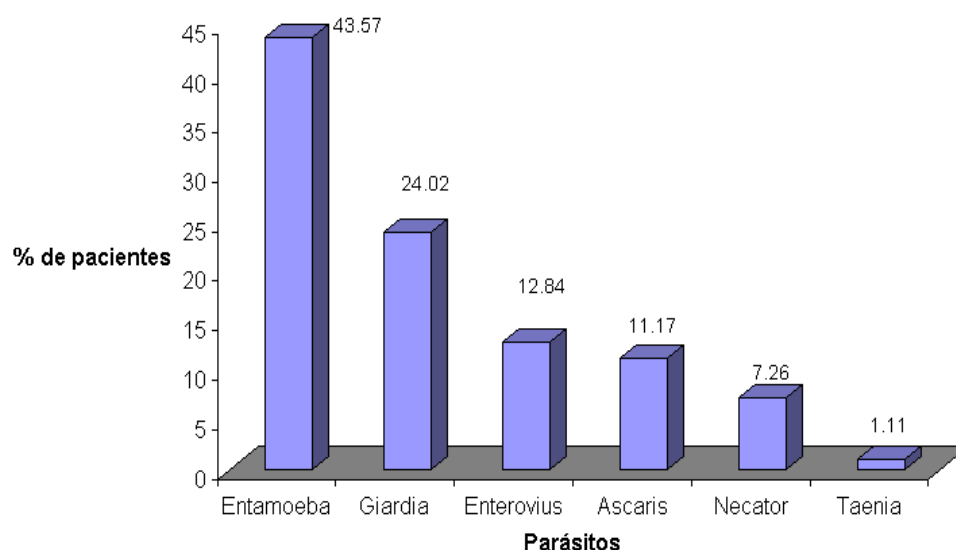


Figura 26: Diagnostico de los parásitos intestinales más frecuentes de la población infantil. Hubo un predominio de protozoarios, por *Entamoeba histolytica*, en segundo lugar *G. lamblia*, lo cual coincide con otras estadísticas obtenidas en otros estudios nacionales e internacionales (Ramírez, Flores 2005).

En 2007 se realizó un estudio en 60 pacientes que viven con VIH/SIDA los cuales se encontraban hospitalizados en el servicio de Medicina, del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri”, previa aprobación por el comité científico y de ética del Instituto de Pedro Kouri (IPK), se formaron dos grupos de estudio, cada grupo con integrantes de 30 personas. A todos los pacientes se les realizó el estudio de coproparasitoscópico seriado en número de tres muestras para el diagnóstico de *G.*

lamblia. Como resultados de estos estudios, se diagnosticó *Giardia lamblia* en un 80% del grupo de pacientes con diarreas crónicas y en el grupo que no padecían diarreas tuvieron un 53.33% (Gonzales, Escobedo et. al., 2007).

Tabla 8. Etiologías de gastroenteritis en diversos grupos de población

Microorganismo	Niños (0-5años) lugares desarrollados	Niños (0-5años) lugares en vías de desarrollo	Adultos	Diarrea del viajero
Bacterias				
<i>Escherichia coli</i>	ND	37%	ND	42%
<i>Shigella spp.</i>	< 1%	10%	<1%	10%
<i>Salmonella spp.</i>	25%	1.5%	60%	3%
<i>Campylobacter spp.</i>	40%	3%	5%	2%
<i>Yersinia enterocolitica</i>	2%	<1%	2%	2%
Virus				
<i>Rotavirus</i>	44%	24%	ND	1%
Parásitos				
<i>Giardia lamblia</i>	35%	10%	ND	10%
<i>Entamoeba histolytica</i>	<1%	3%	5%	7%

La participación de los distintos microorganismos difiere de unas áreas geográficas e otras y del grupo de población estudiado, como se puede ver en la tabla (2011 salud mundial de México).

14- TRATAMIENTO DE LA GIARDIASIS

En la actualidad se dispone de varios fármacos para tratar las infecciones de *Giardia lamblia* en humanos. Entre estos se destacan los siguientes fármacos: metronidazol, tinidazol y furazolidona (derivados de nitroimidazoles), albendazol (un bencimidazol)

y quinacrina (una acridina sustituida). Muchos artículos científicos han reportado que los nitroimidazoles y el albendazol son los fármacos de elección para el tratamiento de las infecciones por *Giardia*. Pero también se han descrito fallos terapéuticos con todos los fármacos corrientemente utilizados, posiblemente porque todavía no se ha demostrado convincentemente si se trata en casos de resistencia. Otro factor es por la falta de cumplimiento de los pacientes provocándose efectos secundarios que pueden dar lugar a fallos terapéuticos. La dosis diaria única conlleva un mejor cumplimiento (el tinidazol tiene una media vida más prolongada que el metronidazol y es bien tolerado si se ingiere durante las comidas) (Thompson, 2008).

Aparte de los medicamentos tradicionales mencionados, existen otros fármacos para el tratamiento de la Giardiasis, estos provienen de los principios activos de las plantas medicinales. En 2001 reportaron una planta medicinal que actúa en contra de *G.lamblia*. La *Petiveria alliacea* Linn (P.a.) conocida como “anamú” (figura 27) es una planta de la familia *Fitolacaceas* que se desarrolla de forma abundante en las islas que forman Las Antillas, así como en Cuba, el norte de México, América continental tropical y la Península de La Florida, en Estados Unidos. El extracto fluido de “anamú” tiene un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Giardia lamblia* “*in vitro*”. En esta revista cubana reportan que la inhibición sobre el crecimiento varía en la dependencia de la concentración del extracto utilizado. La concentración de 5mg/mL inhibe un 50% y en una concentración de 10mg/mL hay inhibición de 70 a 80%. (Echevarría, Torres 2001).



Figura 27: planta la *Petiveria alliacea* Linn conocida como anamú. Es una hierba perenne, delgada, con olor penetrante y desagradable a ajos, ramificada, mide un metro de altura, con las ramas delgadas, largas. Flores pequeñas de 10 a 40 centímetros de largo fuente: www.elgurudigital.com/anamu-planta-curativa-del-caribe.

En 2012 se comprobó otra planta medicinal conocida como: *zucchini* (nombre científico Cucúrbita pepo). Es una planta herbácea anual perteneciente a la familia de las Cucurbitaceae, posee largos tallos tendidos de hasta 10m de largo, con hojas muy grandes divididas en 5 lóbulos y cubierta por pelos rígidos. Es originaria de países tropicales, actualmente se cultiva en todo el mundo por sus frutos comestibles. Las semillas contienen aceite graso, proteínas y carbohidratos, también son ricas en esteroides, incluyendo luteína, carotenos y β -carotenos también es fuente de vitamina A. Extractos acuosos y metanólicos elaborados a partir de la semilla han presentado actividad antihelmíntica, también posee otras propiedades citotóxicas, antitumorales y estomáquicas; así como también efectos laxantes, tóxicos y diuréticos. En este experimento se utilizó los extractos acuoso y metanólico de la semilla de *zucchini* el cual contiene principios activos, que pueden actuar como inhibidores de crecimiento de *Giardia lamblia* bajo en condiciones axénicas “*in vitro*”. En este experimento *in vitro* los extractos de la planta poseen actividad giardicida, el extracto acuoso presentó la concentración de 1.0 mg/mL un 78% de inhibición en el crecimiento axénico de *Giardia lamblia*, y el extracto metanólico presentó 100% de inhibición a una concentración de 0.516 mg/mL, se observó que el extracto metanólico posee mayor actividad giardicida (Barron, Rodríguez et. al., 2012).

15 -MEDIDAS PREVENTIVAS

Los quistes de *Giardia intestinales* permanecen por mucho tiempo en el agua, es por eso que se debe de proteger las fuentes de abastecimiento público de agua contra la contaminación por materia fecal humana y animal. La eliminación sanitaria de las heces es otra medida importante. En los países en desarrollo resulta difícil prevenir la infección en los niños, debido a las condiciones socioeconómicas prevalentes. Las enseñanzas de higiene personal son esenciales en las instituciones infantiles (Barriga, 2003).

Hay otras medidas muy importantes, las manipulaciones higiénicas correctas durante la preparación de alimentos, especialmente el lavado de las manos después de la defecación y en el transcurso de su trabajo (figura 28). La utilización adecuada de calor, teniendo en cuenta que el cocinado correcto y la ebullición, eliminan los quistes en los alimentos contaminado (Pascual et. al., 2005).



Figura 28: Medidas preventivas que impiden la transmisión de la Giardiasis. Enseñar a los niños a lavarse las manos con agua corriente y jabón para ayudar a prevenir la infección por *Giardia lamblia*.
Fuente: www.gentiva.kramesonline.com/spanish/HealthSheets/3,S,88618.

15.1 -PROFILAXIS POR VACUNAS

En 2002 en un estudio realizado en UNAM se reportó una vacuna, llamada vacuna *Giardia vax*, utilizando varios modelos de experimento con enfermedad Giardiasis en gerbos. El propósito de este trabajo fue evaluar la efectividad profiláctica de la vacuna *Giardia-vax* a la infección desarrollada experimentalmente en animales gerbos (*Meriones unguiculatus*), con trofozoitos de *Giardia intestinalis*. La vacuna utilizada en este estudio puso en evidencia su cualidad profiláctica, ya que, en los animales vacunados, se evitó la colonización del intestino por trofozoitos. En este trabajo informan que la participación de los anticuerpos ha sido demostrada en animales vacunados, donde estos tienen un efecto citolítico sobre los quistes o inactivación de los trofozoitos durante el proceso de desenquistamiento. Las vacunas utilizadas y

administradas por vía oral o sistémica, desarrollaron respuesta inmune humoral, de forma crucial, ya que en ambas se produjeron anticuerpos de IgA e IgG en cantidades suficientes para eliminar al parásito. Para el control de *Giardiasis* es muy importante el empleo de una vacuna *anti-Giardia* porque previene la diseminación de quistes en humanos y animales. Evitando la transmisión zoonótica, de tal manera que la vacunación en animales podría prevenir la transmisión intraespecies (Jiménez, Eligio et. al., 2002).

En 2007 utilizaron la misma vacuna en un experimento. Para comprobar “la efectividad de la vacuna *Giardia Vax* en cachorros de *Canis domesticus*”. La vacuna contra *Giardia* administrada sistémicamente (vía subcutánea) en este estudio, se demostró ser eficaz ya que los cachorros vacunados, no presentaron sintomatología clínica, ni eliminaron quistes en las muestras fecales durante el estudio. La inmunopprofilaxis con la vacuna *Giardia Vax* es benéfica ya que ayudó a disminuir la aparición de los signos clínicos como diarrea, pérdida de peso, dolor abdominal y reacciones de hipersensibilidad provocados por el parásito (Delgado, 2007).

16- DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

DISCUSIÓN

Una enfermedad zoonótica es cualquier infección que puede transmitirse de animales a seres humanos. Es una enfermedad que afectan generalmente a los animales vertebrados, incluyendo al hombre (Dabanch, 2003).

La aplicación de varias herramientas moleculares, se pudo demostrar la caracterización de los genotipos de *G. lamblia*. Mediante la amplificación de genes que codifican proteínas variables de superficie, como el gen del glutamato deshidrogenasa (gDH), los polimorfismos de los fragmentos de restricción y subunidad pequeña de RNA ribosomal. Se han descrito 7 genotipos diferentes de (A-G), de estos genotipos solamente primeros dos (A y B) son los responsables de producir la enfermedad zoonótica, porque se encuentran en los intestinos de varios

animales mamíferos, los otros genotipos son huésped-específico. Los animales que presentan el ensamble A o B, son llamados reservorios de *Giardia* porque pueden infectar a humanos o alimentos (Quiroz, Figueroa, et al., 2011).

En México la Giardiasis no se había encontrado en animales rumiantes y no se sabe si son portadores de la enfermedad zoonótica. Recientemente un artículo científico determinó la prevalencia de *Giardia* y predominio de genotipos (AI y B) en muestras de ovinos y bovinos procedentes de cinco estados de la República Mexicana en 2011. En este trabajo de investigación determinaron que el genotipo “AI” fue el que tuvo mayor casos de prevalencia de la infección en bovinos seguido los ovinos y en las muestras analizadas se encontró mezcla de los genotipos zoonóticos AI+BIII. También se encontró el genotipo “E” en bovinos característico en animales rumiantes, ya que este genotipo no se había encontrado en estos animales en México (Otero, Ibarra, et al., 2011).

Estudios realizados en países diferentes; Italia, Canadá y Bélgica. Los resultados obtenidos concuerda con los datos que se obtuvieron en México, ya que ellos también encontraron el genotipo “AI” infectando a los bovinos, prevalencias mayores de la enfermedad se obtuvieron en Canadá. Este reporte nos da entender que la enfermedad zoonótica en animales es muy variable se debe fundamentalmente a las características del quiste. Son estables en el medio ambiente, no son destruidos en concentraciones usadas para la cloración del agua (Thomas, 2008, Otero, Ibarra, et al., 2011).

Las técnicas de biología molecular más utilizadas con mayor frecuencia en los trabajos de investigación sobre los genotipos de *Giardia lamblia*. Fueron PCR-RFLP con un 60% (6/10), Y PCR-secuenciación con un 30% (3/10). Los marcadores genómicos utilizados fueron; β -giardina, glutamatodeshidrogenasa (gdH), N-acetilgalactosamina (Torres, Zapata, et al., 2011).

En un sistema de clasificación ideal está basado en un conjunto de genes requeridos para la vida y altamente conservados en el tiempo como para poder comparar y clasificar los distintos organismos. El gen más utilizado para estudios filogenéticos

es el ARN ribosomal porque es un grupo de genes altamente conservados que utilizan para la detección de diversidad genética entre especies de organismos (Molina, 2009).

La identificación del parásito es relativamente sencilla cuando hay suficiente número de quistes o trofozoitos, en materia fecal o en material de biopsia y en preparaciones histológicas teñidas con hematoxilina eosina y bastante sensible si se toman dos biopsias de mucosa (Gutiérrez, Morales, et al., 2005).

La enfermedad Giardiasis es una causa común en humanos o animales y las infecciones crónicas afectan el crecimiento, aprendizaje y estado nutricional, particularmente en niños, siendo considerada un marcador de atraso sociocultural. La estrecha relación que realiza el hombre con animales conlleva un riesgo a la infección parasitaria de *G. lamblia*, ya que estos pueden ser transmitidos fácilmente, representando un potencial riesgo de salud pública (Pablo, Chávez, et al., 2012).

En los países de bajos recursos económicos reflejan que la Giardiasis es muy susceptible, presentando una alta prevalencia de esta parasitosis en toda la población. Esto se explica por la estrecha relación que establecen los niños en la edad de 1 a 7 años, con las fuentes de infección (suelo o alimento contaminado, animal infectado, agua contaminada), mediante la práctica de juegos inherentes a estas edades y a la falta de hábitos higiénicos bien establecidos; así como la tendencia a consumir alimentos de poco valor nutritivo fuera del hogar, por lo general preparados sin la higiene necesaria y por lo tanto están expuestos a contaminación lo cual aumentaría la posible transmisión de *Giardia lamblia* (Solano, Acuña, et al., 2008).

En relación con tipo de raza la mayor parte de los artículos consultados, documentan que esta relación no juega un papel más importante que las condiciones socio-económicas en que se desenvuelven las familias y que trae como consecuencia la desnutrición y falta de higiene ambiental y personal (Rodríguez, Martínez, et al., 2006).

La mayoría de los autores reportan que el porcentaje de niños o animales jóvenes infectados por *G. lamblia*, con síntomas oscila entre el 40% y el 60%, las más

comunes son el vómito, la diarrea y el dolor abdominal. También se ha observado que un 70% de pacientes infectados no presenta síntomas, a estos pacientes se les conoce como portadores asintomáticos. Probablemente de esta controversia varios artículos documentan que la respuesta humoral, es el factor determinante para que la infección sea o no sintomática en los niños (Barriga, 2003, Rodríguez, Martínez, et al., 2006, Devera, Amaya, et al., 2012).

CONCLUSIÓN

- ✓ En el presente trabajo de investigación se han encontrado casos zoonóticos de *Giardia intestinalis* ocasionado por los genotipos, principalmente por los genotipos A y B.
- ✓ En la actualidad se describe que *Giardia lamblia* juega un papel importante en las enfermedades de zoonóticas, producidas por animales infectados con *Giardia lamblia*. Esta infección también es conocida como la enfermedad *Giardia intestinales* el cual es causada también por medio de los alimentos, verduras y aguas no tratadas, estos factores son contaminados por el excremento fecal contaminado por quistes del presente parasito.
- ✓ El genotipo que tiene mayor potencial zoonótico, corresponde al genotipo A (AI, AII). El subtipo responsable de la enfermedad zoonótica es el subtipo AI, debido a que le han encontrado en una gran variedad de animales mamíferos. Y el subtipo AII es hallado exclusivamente por aislamientos provenientes de humanos.
- ✓ *Giardiasis* es una enfermedad cosmopolita y es más frecuente en los lugares de bajos recursos económicos y semidesarrollados debido a que en estos lugares la higiene personal es deficiente y mayor prevalencia en los niños de 1 a 7 años de edad a nivel mundial.

- ✓ Este protozoo presenta varias características que favorecen su transmisión; posee una dosis infectante baja, sus quistes son infectantes al ser excretados con la materia fecal, pueden sobrevivir en el ambiente durante semanas o meses y transmitirse por contacto directo entre los seres humanos y de los humanos a los animales o viceversa.
- ✓ *Giardia lamblia* ataca principalmente en el intestino delgado (yeyuno y duodeno), porque en este sitio se producen los nutrientes esenciales para el desarrollo de los trofozoitos. La acumulación de estos provoca grandes anormalidades en el intestino y mala absorción de los nutrientes.
- ✓ El responsable de esta infección es la estructura quística de *Giardia lamblia*, es muy resistente al medio ambiente, porque está formada de una membrana gruesa rica en azúcar. Otro factor es debido a que su metabolismo, se lentifica y es por eso que se facilita a diseminarse a varios sitios del medio ambiente (agua, animales y alimentos).
- ✓ Las manifestaciones clínicas que presentan los animales son similares a las de humanos, y se presenta con mayor frecuencia en animales jóvenes debido a la inmadurez del aparato digestivo.
- ✓ La virulencia depende de sus genotipos, los cuales son altamente oportunistas en humanos y animales. Estudios clínicos y experimentales señalan anomalías en el linfocito B, que permite y facilita la adquisición de la infección por este flagelado.
- ✓ Para evitar la enfermedad es recomendable, la mejora de higiene personal constante e indicar las medidas profilácticas especialmente a los niños y utilizar vacunas contra antígenos de los trozoitos de *Giardia lamblia*, vacunando a los animales portadores de la enfermedad, así evitando la diseminación de quistes en humanos o animales y con esto previniendo la transmisión zoonótica.

17- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Thompson R. C. Giardiasis: Conceptos modernos sobre su control y tratamiento, Centro Colaborador de la OMS para Epidemiología Molecular de Infecciones Parasitarias, Facultad de Veterinaria y Ciencias Biomédicas, Murdoch, W.A., Australia, Ann Nestlé [Esp] 2008; 66:23-29, DOI: 10.1159/000151270.
- Acosta I., Soto C. J. Cruz E. *Giardia* spp. (Diplomonadidae) en pericos Australianos (*Melopsittacus undulatus*) en Cuba. Asociación Nacional Ornitológica, la Habana, Cuba, Rev. Salud Anim. Vol. 30, N°. 1 2008: 63-64.
- Aguirre Torres F. Mecanismos específicos de infección implicados en la patología que ocasiona la *Giardiasis*. Tesis de licenciatura, Universidad de Talca (Chile), Escuela de Tecnología Médica, 2008.
- Alparo Herrera I., “Giardiasis y Desnutrición” Actualización; Rev. Soc. Bol Pediatría 2005; 44(3): 166-73, Hospital de Niño Dr. Ovidio Aliaga Uría, La Paz, Bolivia, ISSN 1024-0675.
- Aparicio Rodrigo M., Tajada alegre P. “Parásitos intestinales, artículo de Pediatría Integral, Segovia, 2007 Vol. 11, N° 2, 149-160.
- Barriga O. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales; parasitosis, Organización Panamericana de la Salud. 3ª ed. Washington, D.C.: OPS 2003, Vol 3 (Publicación Científica y Técnica).
- Barrón González M. A., Rodríguez Garza R.G. Inhibición del crecimiento de *Giardia lamblia* por acción del extracto acuoso y metanolico de semillas de cucúrbita pepo. Rev. Iberoamericana para la Investigación y el Desarrollo Educativo. ISSN 2007-2619. Publicado en 2012 RIDE.

- Bazán Tejeda M. L., Argüello García R., Ortega Pierres G. La Biogénesis de Quiste de *Giardia Duodenalis* como modelo de diferenciación unicelular. Mensaje bioquímico. Departamento de Genética y Biología Molecular. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados de IPN, Vol. XXXII; 07360 UNAM México DF 2008.
- Becerril Flores M. A. Parasitología Medica: de las Moléculas a la Enfermedad; *Giardiasis*. Tercera edición, MCGRAW-HILL/INTERAMERICANA DE MÉXICO, 2004, ISBN: 978970145190.
- Biopharm AG., Bergstrabe Darmstadt A. RIDA QUICK; Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba Combi. Artículo científico No 1722, Alemania, Agosto 2010, www.corpodiagnostica.com/Descargar/Descargar-Cryptosporidium-Giardia-Entamoeba-Combi.pdf
- Boletín. Vigilancia de diarreas por agentes parasitarios en menores de 5 años, Organización Mundial de Salud, Instituto de Salud Pública de Chile, Vol. 2, N°. 11, Julio 2012.
- Botero d., Restrepo m. PARASITOSIS HUMANAS; Incluye animales venenosos y ponzoñosos. Impresión y terminación; Quebecor Word, Bogotá, Hecho en Colombia. Cuarta edición; 2003, Reimpresión 2005, ISBN: 958-9400-64-7.
- Botero D., Restrepo M., Parasitosis humanas; incluye animales venenosos y ponzoñosos. Quinta edición, Hecho en Colombia, Medellín, 2012, ISBN: 978-958-9076-77-4.
- Brío León Ma. A., Riera Rovira P. Manual de Bases Teórico-Prácticas de INMUNOCITOQUIMICA, Universidad de Oviedo, España 1999.
- Cadena Córdova C. E. Evaluación de la Eficacia de dos métodos diagnósticos para la observación de quistes de *Giardia spp.* En pacientes caninos, Tesis Facultad de MVZ, Universidad de Veracruz, Julio de 2011.

- Calderón Pascasio R. V., Stock Silberman R. P., Técnicas Inmunoquímicas, Artículo de; UNAM México. Instituto de Biotecnología. Cuernavaca, Morelos, Junio 2007.
- Cañete R., González Ma. E., Almirall p., Figueroa I., Infección por *Giardia-Giardiasis*, Rev. Panam. de Infectología, Zonas; Tropicales y subtropicales, La Habana, Cuba, Septiembre 2004. Vol 6. Un. 3.
- Cermeño R J., Yori R., Hernández I. C., J. Arenas R. *Cryptosporidium parvum* Y *Giardia lamblia* en aguas crudas y tratadas del estado Bolívar, Venezuela. Artículo de ciencia y Tecnología Vol. 12 N° 46, marzo 2008. Venezuela.
- Chacón de Álvarez N., Jiménez J.C. Artículo de Revisión; *Giardiasis* como causa de Diarrea en el Viajero. Antibióticos e Infección; Instituto de Medicina Tropical, Cátedra de Parasitología, Vol. 16, N° 1-4, pp. 15-24. 2010.
- Cheng-Ng R., Castellano Cañizales J. A., Díaz Suarez O., Villalobos, Perozo R. E. Prevalencia de *Giardiasis* en Hogares de Cuidado Diario de municipio San Francisco, estado Zulia, Venezuela. Invest. Clin. Universidad de Zulia 43 (4):231-237, 2002.
- Clavel E., Aldana E., Goñi P., Clavel A., Cancinos de Orantes B. Buera L. Identificación de genotipos de *Giardia duodenalis* en niños de área urbana de Guatemala. Rev. Ibero-Latinoam. Parasitol. GUATEMALA, 2011; 70(1).
- Craing Faust, Chester Beaver P., Clifton Jung R., Wayne Cup E. Parasitología Clínica, Tercera edición, Editor: Masson, Español, México; 2003, ISBN; 9789686099508.
- Delgado Chavarría I.V. Tesis; "Evaluación de la Efectividad de la Vacuna *Giardia Vax* en Cachorros de *Canis domesticus*", Universidad de el Salvador, Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia, San salvador Junio de 2007.

- Devera R., Niebla Punos G., Natasi Vatanese J. A., González-Meneses R. *Giardiasis* en escolares de Ciudad Bolívar, Estado Bolívar, Venezuela, Rev. Biomed. 1988; 9: 145-150.
- Díaz Cinco M.E., Ballesteros Vázquez MN, Pérez Morales R, Mata Haro V. Impacto de la dieta sobre la inducción de infección con quistes de *Giardia lamblia* en ratas Sprague-Dawley. Revista de Salud Pública México, Julio-Agosto 2002, Vol. 44, Núm. 4; Cuernavaca, México. Pp. 315-322.
- Díaz de la Guardia R. Aislamiento y caracterización de proteínas capaces de ligar ácidos grasos en *Giardia lamblia*, Tesis doctoral; Laboratorio de Parasitología Molecular y departamento de Genética; Universidad de Granada, D.L.: Gr. 2463- 2006. ISBN: 84-33-4178-5.
- Domínguez López M. E., González Molero I., Ramírez Plaza et al. Diarrea crónica refractaria y malabsorción secundaria a hipogammaglobulinemia común variable, infestación crónica por *Giardia lamblia* y gastrectomía total por adenocarcinoma gástrico, Un manejo nutricional complejo. Nutrición Hospitalaria, España, 2011; 26(4):922-925.
- Drago Serrano Ma. E. Actividades antibacterianas de lactoferrina, Rev. Enfermedades infecciosas microbiológicas, UAM-Xochimilco México, Vol. 26, N° 2, abril - junio 2006.
- Dryden MW. , Ridley R., et al Comparison of common fecal flotation techniques for the recovery of parasite eggs and oocysts. Vet Ther 2005.
- Echevarría A., Torres Idavoy D. Efecto de un extracto de *Petiveria Alliacea Lin* sobre el crecimiento de *Giardia lamblia in vitro*. Rev. Cubana Medicina Militar; Instituto Superior de Medicina Militar “Dr. Luis Díaz Soto”, 2001; 30(3):161-5.

- Fabián de Estrada M. B., Tello Casanova R., Narquira Velarde C. Manual de Procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de los parásitos intestinales del hombre. Instituto Nacional de Salud, Lima, 2003.
- Fonte Galindo L, Almannoni Saleh Ali. Giardiasis ¿Una Zoonosis?, Rev. Cubana de Higiene y Epidemiología, Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología, Ciudad de la Habana, Cuba; Vol. 48, Núm. 2, 2010, pp. 108-113.
- Fresan Orozco Ma. C., Fresan Orozco Ma. M., Mendoza Prez F. et al. Respuesta inmune humoral en contra de antígenos de giardia lamblia. Reporte de investigación; U.A. Metropolitana. Unidad Xochimilco. ISBN-970-041-X MARZO 1992.
- García Bermejo Ma. J. Técnico en especialista en anatomía Patología del servicio Gallego de Salud. Manual (Temario Materias Específicas), Primera edición, agosto 2006, Impreso en España.
- García del Valle A., Zamudio Duran Ma. M. Manual de Microbiología Médica, Universidad Autónoma de México; Facultad de estudios superiores “Zaragoza”, Carrera de Química Farmacéutica Biológica, 9º Semestre 1998.
- Gerardo Elizalde G.M., Nicolás A., Gerardo Elizalde B. Enfermedad diarreica aguda por *Giardia lamblia*. Copyright, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; Facultad de Medicina, Hospital Nacional Dos de Mayo, Lima, Perú, ISSN 1025-5583, Vol. 63, N° 1- 2002.
- Gerardo M. Elizalde, G. Nicolás Álvaro. Enfermedad diarreica aguda por *Giardia lamblia*. ISSN 1025-5583, Vol. 63, No 1 2002.
- Giraldo Gómez J. M., Lora F., Mejía S. et al. Prevalencia de *Giardiasis* y parásitos Intestinales en Preescolares de Hogares atendidos en un programa estatal en Armenia, Colombia. Rev. Salud pública, 7(3):327-338, 2005.

- Gonzales López M. E., Escobedo Carbonell A. A., Ruiz Pérez A. Diarreas crónicas asociadas a *Giardia lamblia*, coccidias, y adenovirus en pacientes viviendo con VIH/SIDA. Rev. Científica de América Latina; Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica. ISSN (versión impresa): 0185-5751 DF.MEXICO, Marzo de 2007.
- Gutiérrez Herrera J. M, Gaona Morales J.J., Sabater Marco V., Lelis. F. P. *Giardiasis intestinal*, con manifestaciones serológicas y clínicas de enfermedad celiaca: A propósito de un caso, 7º Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica, Hospital General Universitario de Valencia España, del 1 al 31 de octubre de 2005.
- Guyton A. C. TRATADO DE Fisiología médica. Libro, Decimoprimer edición, University of Mississippi Medical Center, Idioma: Español, 2006, PDF.
- Hernández A. Paula C, Chaparro Olaya J, Velandia L. M., et al. Muerte Celular programada en protozoarios; En Caso de *Giardia intestinalis*, Revista Salud Bosque; Universidad el Bosque, Volumen 2, Num.1, 2012.
- Hernández J. F., Duque S., Arévalo A., Guerrero R., et al. Revista científica de América Latina y el Caribe, España y Portugal. Identificación de antígenos de aislamientos colombianos de *Giardia duodenales* reconocidos por IgG total y subclases. Instituto Nacional de Salud (Colombia) Bogotá, Colombia; septiembre, Vol. 23, Numero 003. 2003.
- Hernández P. C., Caldas Ma. L., Wasserman M. Enquistación *in-vitro* de *Giardia lamblia*; Análisis por electroforesis bidimensional de proteínas expresadas diferencialmente: Rev. Científica de América Latina. Biomédica, Instituto Nacional de Salud; Bogotá, Colombia, Vol. 22, Num.003. 2002
- Hugo D., Lujan, Giardia y Giardiasis; Instituto de Investigaciones Médicas Mercedes y Martín Ferreyra, Córdoba. Medicina (Buenos Aires) 2006; 66: 70-74 Argentina.

- Izquierdo Estévez A., Hernández Fernández C. M., León García R. E., Tomas. Actividad lactasica en niños con enfermedad diarreica por *Giardia lamblia*, Rev. Cubana Pediatría, La Habana, 1998; 70(1):27-31.
- Janeway, Murphy K., Travers P., Walport M., INMUNOBIOLOGIA DE JANEWAY; Introducción a la Inmunología, Séptima edición, Delegación; Álvaro Obregón, Impreso en México 2009, D.F. ISBN-13: 978-970-10-7347-6
- Jarabo García Ma. T. Seroprevalencia de la *Giardiasis* en Escolares de Comunidad rural de la provincia de cuenca. Tesis de doctorado, Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Medicina. Enero, 1996.
- Jawetz, Melnick, Adelberg. Microbiología Medica, Decimoctava edición; por editorial, El manual moderno S.A. de C. V. México 2005, ISBN 970-729-136-2
- JIMENEZ, FELIPE L., MERCHANT, HORACIO. Biología celular y molecular; Cap. 3, Estructuras celulares, Primera edición, México, 2003. ISBN: 970-26-0387-0
- Jiménez Cardoso E., Eligio García L., Cortes Campos A. Evaluación de la capacidad inmunogenica de la vacuna *Giardia vax*, utilizando un modelo experimental de Giardiasis en gerbos (*Meriones unguiculatus*). Artículo; Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, Vol. 33, N° 1, Enero-Marzo; 2002.
- Jiménez Cardoso E., Rivas J.G., Burgos A., Jiménez Cardoso J.M. Biología Molecular en Medicina; *Giardia Intestinalis* y el polimorfismo de su genoma Cap. 3, Primera edición; México DF, 1998, ISBN 968-18-5502-7.
- Koneman et al Elmer K. Diagnostico microbiológico. Sexta Edición, Editorial panamericana, Impreso en Argentina enero 2008, ISBN: 978-950-06-0895-4.
- Lawrence R. Thomas O. Atlas de Parasitología Humana, Medicina panamericana, Quinta edición, Impreso en China, Enero 2010, ISBN; 978-950-06-0128-3.

- López Moreda M., Encinas Sotillos A., Cano López M. Parasitosis intestinal. Hospital “La Paz”. Madrid. MEDICINA GENERAL 2001; No 31:143-148.
- López S. J., Técnicas de Biología Molecular Aplicadas a la Taxonomía y Filogenia de Moluscos. Department of Endocrinology, Italia, Vol. 1, N° 4, 2004.
- Marks S. L. What Constitutes a Proper Fecal Examination? BVSc, PhD, Dip. ACVIM (Internal Medicine, Oncology), Dip. ACVN University of California, Davis, School of Veterinary Medicine Davis, California, USA 2006
- Mínguez Gonzalo M., Morte Esteban S., Camba Ortiz, V. Viajes internacionales y salud. Publicada por la OMS en 2008 con el título. Traducida por Dirección General de Salud Pública y Sanidad Exterior. España 2008.
- Molina N., Basualdo J., Minvielle M. Ciclo zoonótico rural de *Giardia lamblia* en dos campos lecheros de General Mansilla, Buenos aires, Revista Científica de la Facultad de Ciencias Médicas, Cátedra de Microbiología y Parasitología, UNLP; Vol. 2, N° 2, Diciembre 2010.
- Molina N. B., Menville M. C., Lagares A. Epidemiología Molecular de *Giardia lamblia* en Comunidades Urbanas Y Rurales de Buenos Aires y de Mendoza, Argentina, Tesis de maestría. Cátedra de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP, 2009.
- Monsalve B S., Salim Mattar V., González T. M., Zoonosis transmitidas por animales silvestres y su impacto en las enfermedades emergentes y reemergentes. Rev. MVZ Córdoba, España 2009, Vol. 14(2): 1762-1773.
- Msc. Almannoni S. Manifestaciones cutáneas de la Giardiasis. Un problema de salud sobredimensionado, Tesis doctoral. Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri”, Departamento de parasitología. Ciudad de la Habana 2010.

- Murray Patrick R., Rosenthal Ken S., Pfauer Michael A. Microbiología Medica, Seccion Vil; Parasitología. Quinta edición, Impreso en España por Graficas Muriel, 2007, ISN; 978-84-8174-927-4
- Núñez F. A., López J. L., Finlay C. M. Factores de riesgo de la infección por *Giardia lamblia* en niños de guarderías infantiles de Ciudad de La Habana, Cuba. Artículo 677, Cad. Saude Publica, Rio de Janeiro, mar – abril, 2003.
- Núñez Fernández F. A. Estudio de factores asociados con la reinfección por *Giardia lamblia* en niños de círculos infantiles, Tesis de doctorado Instituto de medicina tropical “Pedro Kourí” subdirección de parasitología departamento de parasitología, La Habana 2004.
- Otero Negrete J. J., Ibarra Velarde F., Marinez Gordillo M. N., Ponce Macotela M. Prevalencia de *Giardia intestinalis* y predominio de genotipos zoonoticos en ovinos y bovinos de traspatio de cinco estados de la República Mexicana. Artículo de revisión; Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM DE MEXICO, DF; Vol. 42 No. 3 julio 2011
- Pablo J. O., Chávez V A., Suarez A. F., Pinedo V. R., Falcón P. N. *Giardia* spp en caninos de comunidades campesinas de tres distritos de Puno, Perú. Rev. Inv. Vet. 2012; 23(4):462-468.
- Pancho Saavedra J. A., Piñol Jiménez F. N., Lesiones bucales relacionadas con las enfermedades digestivas. Rev. Cubana de Estomatología Versión, La Habana Jul.-Sep.2006, ISSN 1561-297.
- Pascual Anderson Ma. R. Enfermedades de origen alimentario, “GIARDIASIS”, Ediciones; Díaz de Santos. S.A, Encuademacion: Rustica- Hilos, Impreso en España, ISBN; 84-7978-682-5. Depósito legal: M. 3.420-2005.

- Pereto J., Sendra R., Pamblanco M., Baño C. Fundamentos de Bioquímica, Primera edición en Catalán 1996. Traducida por; Coral Barrachina, 2007, ISBN; 978-84-370-6566-3, Valencia-585, 2007.
- Polverino D., Molina N. B., Minvielle M.C., Lozano M.E., Basualdo J.A. Técnicas de purificación y ruptura de quistes de *Giardia intestinales*. Revista Argentina de Microbiología, Agosto 2004, 36:97-100, ISSN; 0325-7541.
- Prada Gómez L. F. Análisis de Elementos de la Maquinaria de Deubiquitinacion en Trofozoitos de *Giardia intestinalis*, Trabajo de grado para optar título de: Magister en Ciencias- Bioquímica, Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias, Departamento de Química, Bogotá D.C, Colombia 2012.
- Quesada Morua Ma. S, Garita Hernández M, Fernández A. Afecciones Gastrointestinales, Centro Nacional de Información de Medicamentos, Instituto de Investigaciones Farmacéuticas; Universidad de Costa Rica. Vol. 3, Agosto-Diciembre 2002.
- Quiroz Romero H., Figueroa Castillo J. A., Ibarra Velarde F., López Arellano Ma. E. Epidemiología de Enfermedades Parasitarias en Animales domésticos. Impreso y hecho en México, Primera edición, 2 de febrero 2011.
- Rivera M, Hurtado P, María A. de la parte, Magaldi L, Collazo M. *Giardiasis Intestinal*; Mini-Revisión. Hospital Dr. Domingo Luciani Caracas, Venezuela. Invest. Clin V.43, No 2, Marzo. 2002.
- Robertson L. J., Hanevik K., Escobedo A., Morch K., Giardiasis- Why do the symptoms sometimes never stop?. Trends in parasitology, Vol. 26, No.2, Available online 6 January 2010.
- Rodney D. Adam. Biology of *Giardia lamblia*; Clinical Microbiology Reviews, Departments of Medicine and of Microbiology and Immunology, University of Arizona, College of Medicine, Tucson, Arizona. Vol. 14, No. 3, July 2001.

- Rodríguez Franco A., Vázquez Moreno L., Clamont Montfort G. R. Actividad antimicrobiana de la lactoferrina: Mecanismos y aplicaciones clínicas potenciales. Rev Latinoam Microbiol (Asociación Mexicana de Microbiología) 2005; 47 (3-4): 102-111.
- Rodríguez Vargas N., Martínez Pérez T., Martínez García R., Martínez Fure G., Calvo Luaces V., *Giardiasis intestinal*: estudio de 60 pacientes. Facultad de Ciencias Médicas (Manuel Fajardo) la Habana. Rev. Cubana Pediatría 2006; 78(2).
- Rojas Aguirre Y., Hernández Luis F. Evaluación experimental de la actividad *Giardiacida* predicha para derivados de bencimidazolicos por el modelo de cómputo. Departamento de Farmacia, “K-NEAREST NEIGHBOR” UNAM DF México 2003.
- Rosales Borjas D., Ortiz L. Infecciones parasitarias: Mecanismo de evasión de la respuesta inmune. Rev. Medica de la Extensión portuguesa, Venezuela, ULA, Vol. 2, N° 2, Julio de 2008.
- Roxstrom Lindquist K., Palm D., Reiner D., Ringqvist E., et al. Giardia immunity – an update, Trends in parasitology, Vol. 22, No.1, Available online January 2006. Disponible; www.sciencedirect.com
- Rúgeles López Ma. T., Patiño Grajéeles P. J., Montoya Guarín C. J. Inmunología Una ciencia activa, Libro, Segunda edición, Impreso y hecho en Colombia, marzo de 2009, ISBN: 978-958-714-230-3.
- Ruiz Abad K. S. Incidencia de *Giardiasis* en alumnos de la red Educativa rural “Vicente Aurelio Crespo Ochoa” de la zona zhindilig del Canto Azogues. Tesis de licenciatura, Fac. Ciencias Químicas, Universidad de Cuenca, 2010-2011.
- Salazar Lozano S. A. Coprológico general y Coproparasitoscopico, Grupo Lister (laboratorios), Tamaulipas, Veracruz, Agosto de 2013. Fuente: www.lister.com.mx.

- Sánchez J., Requena I., Blanco Y. et al. Parasitosis intestinales en escolares: relación entre su prevalencia en heces y en el lecho subungueal. Bolívar, Venezuela, Rev. Biomed. 2005; 16:227-237
- Sanz M. L. Inmunidad y prevención de la alergia a alimentos; inmunidad del tracto intestinal, Departamento de Alergología e Inmunología Clínica. Hospital Niño de Jesús Madrid, 2001, Vol. 16, N°2, 58-75.
- Sepúlveda S. E., Beltrán C., Peralta A. et al. Enfermedad inflamatoria intestinal: Una mirada inmunológica, Rev. Méd. Chile, Vol. 136 N° 3 Santiago mar. 2003. ISSN 0034-9887.
- Sixtos C. Procedimientos y técnicas para la realización de estudios coproparasitoscópicos, Publicación Trimestral N° 24, Laboratorios Virbac, México, 2005.
- Slifko TR, Smith HV, Rose JB. Emerging parasite Zoonoses associated with Water and food. International Journal for Parasitology, University of South Florida, 2000, 30:1379-1393.
- Solarte Y., Peña M., Madera C. Transmisión de protozoarios patógenos a través del agua para consumo humano. Rev. Colombia Medica, Vol. 37 No 1, 2006 (Enero-Marzo).
- Soriano M. J. A. Giardia y GIARDIOSIS. Control Calidad SEIMC. 1-9, Hospital Universitario Doctor Peset Aleixandre, Valencia 2002.
- Tanata Varela I. V. "Presencia de enteroparasitos en lechuga (*Lactuca sativa*) en establecimientos de consumo público de alimentos del distrito de Cercano de Lima", Tesis, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; Facultad de Medicina Veterinaria. Lima, Perú, 2002.
- Tay Zavala J., Gutiérrez Quiroz M. Microbiología y Parasitología Médicas; Giardiasis. Impreso en México (DF); Tercera edición, 2003 ISBN-968-5328.

- Torres Lindarte G., Zapata Tamayo M., Restrepo Isaza M., Ríos Osorio L. Investigación científica sobre genotipificación y distribución de *Giardia intestinalis* en humanos y caninos de América, Salud Uninorte, Barranquilla (Col), Vol. 27, N° 1, 2011.
- Uribarren Berrueta T. Giardiasis o Giardiosis, Rev. Científica de América latina; Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina; UNAM México 2012.
- Uveros Fernández J. *Giardia lamblia* Sinergismo en su tratamiento con metronidazol y pamoato de pirantel. Artículo; Sociedad Española de Pediatría Extrahospitalaria y Atención Primaria, Universidad de Granada, 23 de octubre 2010.
- Vásquez Zubieta F. *Giardia lamblia*: Estudio Comparativo de tres métodos de diagnóstico, Examen directo de Heces, Enterotest Modificado y Técnica de Sedimentación Espontanea en tubo, Instituto de Investigación; Facultad de Medicina Humana, México DF, 1994.
- Vázquez Tsuji O, Campos Rivera T. Giardiasis; La parasitosis más frecuente a nivel mundial, Rev. Científica de América Latina, el Caribe, España y Portugal. Facultad Mexicana de Medicina, Universidad la Salle México, Vol. 8, Núm. 31, Junio 2009, pp 75-90.
- Vega López M.A. Sistema inmune intestinal porcino, Ciencia veterinaria, Departamento de Inmunología CENID-Microbiología, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias, Carretera México- Toluca, Palo Alto, 05110, 1994, México, DF.
- Wallace P., Geoffrey P. Atlas de Medicina tropical y Parasitología. Edición en español de la sexta edición 2007 de la obra original en inglés. Traducida en Madrid, España, 2008. ISBN edición español: 978-84-8086-283-7.

- Wisnivesky C. Ecología y epidemiología de las infecciones parasitarias; 16 de septiembre del 2002, Argentina; Impreso en Costa Rica, primera edición 2003, ISBN; 616-96.

“DIRECCIONES ELECTRONICAS”

103- gnatostomabinucleatum.blogspot.mx/2010/04/giardiasis.

104-giardialambdia-y-entamoeba-hystolitics.blogspot.mx/2011/06/giardia-lambdia.html.

105 - www.higiene.edu.uy/parasito/teo09/inmunop.

106 - www.ecured.cu/index.php/Giardialambdia.

107-karenpaterninanegrete.blogspot.mx/2011/12/parasitologia-veterinaria-tecnicas-de.html.

108-recuerdosdepandora.com/ciencia/biologia/las-lentes-que-mostraron-a-leeuwenhoek-un-nuevo-mundo.

109 - http://psicolmascot.blogspot.mx/2012_06_15_archive.html.

110 - bvs.sld.cu/revistas/ped/vol71_2_99/f0905299.gif.

111- www.hiperactivos.com/Intestino.shtml.

112 - www.fairview.org/espanol/BibliotecadeSalud/art%C3%ADculo/85288

113-www.corpodiagnostica.com/Descargar/Descargar-Cryptosporidium-Giardia-Entamoeba-Combi.

114 - www.elgurudigital.com/anamu-planta-curativa-del-caribe.

115 - www.gentiva.kramesonline.com/spanish/HealthSheets/3,S,88618.

18- ANEXOS

A 1. DIAGNÓSTICO EN INFECCIONES HUMANAS POR *Giardiasis*.

Después del examen clínico epidemiológico, se considera los síntomas de diarrea de larga evolución, pérdida de peso, mala absorción, hábitos higiénicos deficientes y fuentes de agua no potable para beber, el objetivo o desafío en el laboratorio consiste en encontrar quistes y trofozoitos en las muestras de heces fecales (Becerril, 2004).

No hay un método único que permita detectar las infecciones causadas por *G. lamblia*, pero en la actualidad se cuenta con un número de pruebas. Ejemplo: el examen coprológico de una sola muestra fecal detecta el 60% de los casos. El diagnóstico depende del número de muestras a estudiar, llegando hasta un 85% con el estudio de 3 muestras (Vázquez 1994, Acosta, Soto et. al., 2008). El examen de tres muestras recogidas en días alternos es el mínimo necesario para realizar una adecuada evaluación. Este procedimiento asegura un intervalo óptimo de recogida de aquellos parásitos que poseen una eliminación cíclica, especialmente *Giardia lamblia*. Las muestras se deben recogerse en contenedores diferentes y ser remitidas al laboratorio en pocos minutos (Henry, 2005).

Otros métodos, son el estudio de la muestra del contenido duodenal con un porcentaje de 96%. Existe también la biopsia duodenal con una positividad de 100%. También existen estudios inmunológicos como; inmunofluorescencia, ELISA, electroforescencia, PCR, entre otros. Cuentan con un 97% de diagnosticar las infecciones causadas por *G. lamblia* (Vázquez 1994, Acosta, Soto et. al., 2008).

A2- DIAGNÓSTICO PARASTOLÓGICO

Los métodos usuales en la detección de *Giardia lamblia* están basados en el reconocimiento visual por microscopia óptica de Trofozoitos o quistes. Las muestras fecales seriadas deben ser recolectadas en días alternados debido a la periodicidad en la excreción de quistes (Polverino, Molina et. al. 2004).

EXAMEN COPROLÓGICO GENERAL

La utilización de los exámenes coprológicos permite evaluar o determinar los agentes parasitarios causantes de las enfermedades, confirmando los diagnósticos presuntivos que se hacen a la valoración clínica de los animales y humanos (Salazar, 2013) Fuente: www.lister.com.mx. Primero se realiza el examen macroscópico: se examina de un modo general la consistencia de las heces (formadas, blandas, acuosas, líquidas o sólidas y descompuestas) y si hay presencia de moco, sangre, azúcares reductoras, color, larvas o gusanos adultos. Los trofozoitos se encuentran fácilmente en muestras acuosas. En segundo lugar se realiza el examen microscópico: se examina microscópicamente por el examen directo de material fresco o conservado, por examen de los concentrados o con tinción permanente. Los procesos de concentración son de mayores usos para la detección de quistes de protozoos, pero no es satisfactorio para la detección de trofozoitos de los protozoos. Las tinciones son útiles para la detección y el examen morfológico de los trofozoitos de los protozoos y los quistes (Henry, 2005).

COPROPARASITOSCÓPICO (CPS)

El examen (cps) o examen en fresco de heces, es uno de los estudios de laboratorio en donde se analiza la materia fecal con colorante de solución yodolugol. El yodo es útil para incrementar la visibilidad de las estructuras nucleares en los quistes de protozoos y para la detección de inclusiones de glucógeno. El método tiene entre sus características, la sencillez y rapidez para llevarlo a cabo, además de lo económico que resulta realizarlo, pues no requiere mucho material (figura 29) (Marks, 2006).

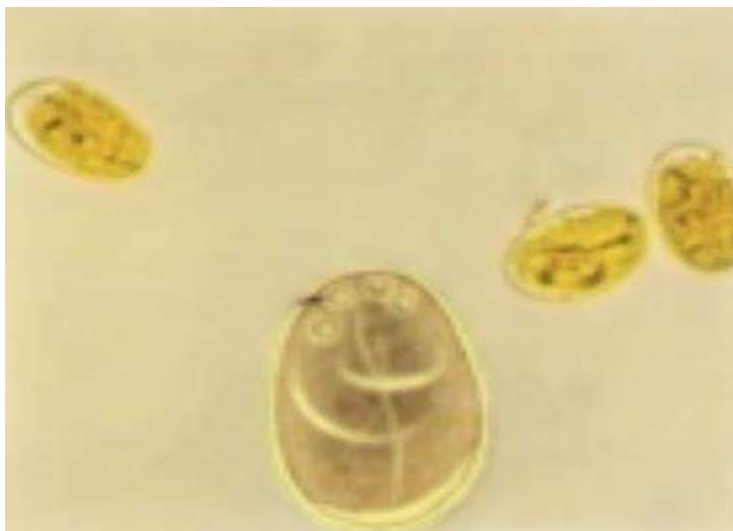


Figura 29: Quistes de *Giardia lamblia* con solución yodo lugol (Fabián, Tello et al 2003)

MÉTODOS DE FLOTACIÓN.

Los métodos de flotación fecal se utilizan para separar los parásitos en todos sus estadios (huevos, ooquistes, quistes, larvas) de otros objetos, basándose en sus diferentes densidades. La densidad viene siendo el peso de un parásito u otro objeto por unidad de volumen, y se expresa en forma de gravedad específica. La densidad de la mayoría de las soluciones está entre 1:18 y 1:20: la densidad de los parásitos comunes encontrados en animales es menor a 1:18.

SOLUCIÓN CON SULFATO DE ZINC

En este método se obtienen resultados cualitativos. Es utilizado para el hallazgo o identificar quistes de protozoarios flagelados los cuales no sufren alteraciones en sus estructuras.

Preparación de la solución de sulfato de zinc al 33%

Sulfato de zinc (ZnSO_4).....331gr.

Agua.....1lt.

Procedimiento

1. Mezclar 1-2 gr de heces frescos con 15 ml de sol. De sulfato de zinc al 33% en un recipiente.
2. Disolver con un aplicador de madera hasta que quede una pasta uniforme.
3. Pasar la mezcla por un colador en un recipiente limpio.
4. Llenar un tubo de ensaye con el líquido filtrado hasta el borde dejando un menisco convexo.
5. Eliminar con un palillo las burbujas o sustancias que flotan
6. Colocar con cubreobjetos y esperar alrededor de 10 min.
7. Retirar cuidadosamente el cubreobjetos y colocarlo sobre una laminilla
8. Observar al microscopio en el objetivo 10x.

MÉTODO DE FAUST

La técnica de faust muestra una buena concentración de quistes de los protozoarios, así como huevos y larvas de helmintos. Este método tiene una gran ventaja, las formas parasitarias se encuentran con facilidad, debido a que se eliminan la mayoría de residuos y material orgánico que están comunes en las heces de los carnívoros (Sixtos, 2005).

A3 - METODOS DE COLORACIÓN PARA PROTOZOARIOS

COLORACIÓN TRICHROME (GOMORI WHEATLEY)

Permite colorear las estructuras internas de los protozoarios para su caracterización. En este método solo se utiliza muestras de heces frescas, preservadas con PVA o fijadas con Schaudinn. Es un método rápido y de utilidad en el estudio de *Entamoeba*, *Giardia lamblia*, *Balantidium*, *Cyclospora* y otros protozoarios.

Materiales:



Figura 30: Materiales para la coloración tricromica. Colorante, pinza, porta-laminillas (tapón de jebe), laminillas y placas Petri.

Procedimiento:

1. Preparar un grupo de placas Petri 15x150 mm con los reactivos correspondientes, sujetar la laminilla con el porta-laminillas y con la pinza curva hacer el frotis fino de la muestra sobre la laminilla.
2. Fijar la muestra con solución Schaudinn por 2 a 5 min.
3. Pasar por alcohol 70% con 2 o 3 gotas de tintura de yodo
4. Pasar por un minuto por alcohol 70%.
5. Pasar por el colorante chromotrope de 8 a 15 min.
6. Pasar por alcohol 90% con ácido acético al 1% de 10 a 15 segundos y ver tono de coloración
7. Pasar por alcohol 95% y alcohol absoluto durante 3min.
8. Pasar por xilol de 1 a 5 minutos. No debe verse opaco.
9. Realizar el montaje con cytoseal, bálsamo de cañada o permount.

Observación: observar con objetivo de inmersión 100X. El citoplasma de los parásitos se tiñe de color verde y el núcleo de color rosado.

COLORACIÓN DE MAY GRUNWALD-GIEMSA

Colorea protozoarios, principalmente flagelados. Se utiliza sobre material secado al aire, en citologías por punción -aspiración. Esta técnica está basada en una combinación de dos colorantes sucesivas, la de May-Grunwald-Giemsa, que utilizan diferentes variantes de azul de metileno. Con esta tinción se resaltan detalles en citoplasma: núcleos, Flagelos, vacuolas (figura 28) entre otras (García, 2006).

Materiales: Laminas portaobjetos, cubreobjetos, Estilete o pinza curva, Colorante May Grunwald, Alcohol metílico, Bálsamo de Canadá.

Procedimiento.

1. Con la ayuda de un estilete, se realiza el frotis de la muestra fresca en la lámina o laminilla y dejar secar.
2. Fijar el frotis con unas gotas de alcohol metílico, cubriendo la muestra por 5 minutos.
3. Cubrir el frotis con el colorante (diluido al $\frac{1}{2}$ o $\frac{1}{3}$ con agua destilada) durante 15 minutos.
4. Lavar con agua corriente y dejar secar.
5. Realizar el montaje con el bálsamo de Canadá y observar al microscopio.
6. Observar con el objeto de inmersión (Fabián, Tello et. al., 2003)

Las tinciones son útiles para la detección y el examen morfológico de los trofozoitos de los protozoos y los quistes (Henry, 2005).



Figura 31: Trofozoito teñido con colorante de May Grunwald. Los protozoos se observan con su citoplasma de color azul claro y los núcleos de color púrpura rojo (Botero, 2012).

A4 -PRESERVACIÓN DE LA MUESTRA

La exactitud para detectar o identificar parásitos intestinales, especialmente protozoarios, está directamente relacionada con la calidad de la muestra. Es de importancia de una muestra de heces fecales recientemente evacuada sin contaminación absoluta. Si no es posible analizar las muestras dentro del tiempo límite, es necesario preservarlas y refrigerarlas a 3-5 °C en envases bien cerrados para evitar la desecación. A continuación se enlistan tres conservadores más utilizados; **PVA, Formalina y MIF**. De estos PVA, es el único fijador que se puede aplicar para preparar frotis teñidos permanentes. Los otros fijadores mencionados permiten el examen de la muestra solo en frotis húmedos.

PVA (Solución Fijadora de Polivinil Alcohol); es un medio donde se pueden conservar los trofozoitos y quistes de protozoarios por largos periodos, también se puede emplear para mandar las muestras por paquetería al laboratorio.

Formalina al 10%; este fijador los quistes de protozoarios, huevos, helmintos, y larvas, se pueden conservar por largos periodos. Se recomienda calentar la formalina a 60°C al usarse para huevos de helmintos.

Solución de MIF (Merthiolate-Iodo-Formaldehido); con este conservador, todos los elementos parasitarios microscópicos se conservan bien, en estado natural y se tiñen convenientemente para reconocerlos con seguridad, durante un preparación húmeda. Se pueden conservar por un largo tiempo un año o más (García, Zamudio, 1988).

A5- DIGNÓSTICO INMUNOLÓGICO

Para el diagnóstico de *Giardiasis* se han utilizado ensayos tales como; ELISA para la detección de antígenos parasitarios presente en heces (100 % de especificidad, 98 % de sensibilidad). También la inmunofluorescencia directa, en donde se utiliza un anticuerpo monoclonal para la detección de un antígeno de GSA-65 con una sensibilidad de 94% y una especificidad de 98%. También se ha utilizado la técnica de PCR en tiempo real que han determinado con gran precisión la presencia parasitaria en heces en etapas muy tempranas de la enfermedad (Chacón, Jiménez, 2010).

FUNDAMENTO DE ELISA

El método de ELISA está basado en el uso de antígenos o anticuerpos, estos son marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática. Al estar uno de los componentes (Ag o Ac) marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte (inmunoabsorbente) la reacción de Ag-Ac quedara inmovilizada y, por tanto, será fácilmente revelada mediante la adición un substrato específico, al actuar la enzima generara un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro o un colorímetro (Calderón, Stock, 2007). En este método inmunológico utilizan muestra de antiseros de conejo y de cabra después de la inmunización de los animales con trofozoitos de *Giardia lamblia* (Koneman, 2008).

FUNDAMENTO DE INMUNOFLUORESCENCIA

Esta técnica consiste en conjugar un colorante fluorescente (Isotiocianato de fluoresceína, Isotiocianato de tetrametilrodamina) con un anticuerpo, resultando un trazador sensible con reactividad inmunitaria inalterada. El antisuero es agregado a las células o tejidos, fijándose a los antígenos con los cuales forman un complejo inmunitario estable, que al ser observado con el microscopio de fluorescencia, se observan antígenos en virtud de color verde brillante de los anticuerpos (Figura 29). Los compuestos fluorescentes son moléculas orgánicas relativamente estables, que presentan la propiedad de absorber radiación de corta longitud de onda y después de un corto periodo de tiempo, distribuir una radiación luminosa de mayor longitud de onda que la luz absorbida (Brío, Riera, 1999).

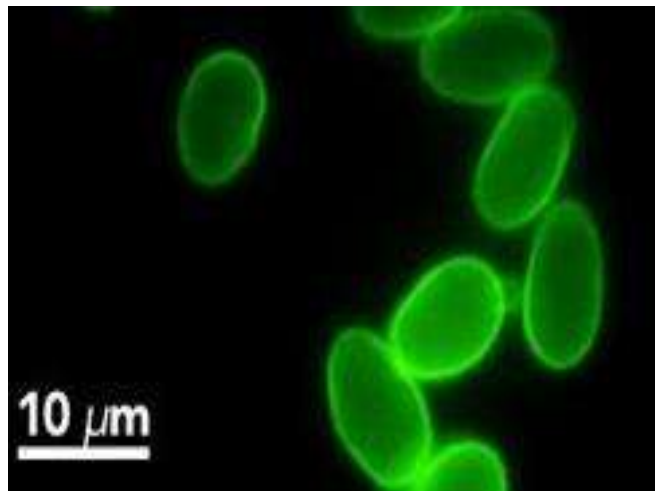


Figura32: Quiste de *Giardia lamblia* por la técnica de inmunofluorescencia. Estudios realizados informan la sensibilidad y especificidad del 100% en la detección de quistes de *Giardia lamblia* en las muestras fecales, utilizando esta técnica inmunológica de inmunofluorescencia directa. Los quistes de *Giardia* aparecen como formas ovales con fluorescencia de color verde manzana (Koneman, 2008).

FUNDAMENTO DE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

Es una técnica que puede reproducir “*in vitro*” el proceso fisiológico de la duplicación de fragmentos de ADN en las células. Este método multiplica (amplifica) exponencialmente a una secuencia específica de ADN bicateriano, sintetizando grandes cantidades de un segmento específico de ADN a partir de cantidades inferiores de muestra (y en teoría a partir de una sola molécula de ADN). Comprende varios ciclos divididos en tres etapas (desnaturalización, hibridación o anillamiento y extensión del cebador) (López, 2004).

TEST DE RIDAQUICK

Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba Combi

Es un ensayo inmunocromatográfico de flujo lateral de un solo paso, en donde los anticuerpos específicos contra el antígeno de cada parásito están absorbidos en partículas verdes de látex (específico para *Entamoeba*), en partículas rojas de látex (específico para *Giardia*) y partículas azules de látex (para *Cryptosporidium*). Otros anticuerpos específicos contra estos tres agentes patógenos están unidos fuertemente sobre la membrana del test. Primeramente se suspende la muestra de heces en el buffer de extracción y se deja sedimentar. La tira reactiva se sumerge en el sobrenadante de la muestra, se adhiere a las partículas coloreadas de látex y en caso positivo se enlaza el antígeno presente en la muestra; atraviesa la membrana y se acopla a la banda específica de captura. Según el antígeno presente en la muestra se observará una banda verde (*Entamoeba*), una banda roja (*Giardia*) y una banda azul (*Cryptosporidium*) Fuente: www.corpodiagnostica.com/Descargar/Descargar-Cryptosporidium-Giardia-Entamoeba-Combi.