

32
29



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

COMPARACION DE TRES TECNICAS PARA
EL DIAGNOSTICO DE GIARDIASIS CANINA.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

GABRIELA CALZADA NOVA

ASESOR: M.V.Z. LUIS A. CALZADA NOVA



MEXICO, D. F.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1989



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

C O N T E N I D O

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	3
MATERIAL Y METODOS.....	13
RESULTADOS.....	15
DISCUSION.....	18
LITERATURA CITADA.....	21

RESUMEN

CALZADA NOVA, GABRIELA. Comparación de tres técnicas para el diagnóstico de giardiasis canina (bajo la asesoría de: Luis A. Calzada Nova).

El objetivo del presente trabajo consistió en comparar la técnica de raspado rectal, el frotis fecal directo y la técnica de concentración de sulfato de zinc modificada.

Se utilizaron 50 perros sin importar raza, sexo ni edad, de los cuales se colectaron tres muestras de heces frescas de diferentes días para ser analizadas con el frotis fecal directo y con la técnica de sulfato de zinc modificada. Al momento de la colección se realizó simultáneamente el raspado rectal con una cucharilla de vidrio.

De los 50 perros estudiados, con el raspado rectal se encontró 56% de animales positivos, con el frotis fecal directo fueron el 62% y para la técnica de concentración con sulfato de zinc modificada se obtuvo 76% de positivos. Con base a la prueba de Xi cuadrada los resultados no mostraron una diferencia significativa. En lo referente a la sensibilidad de las pruebas, el raspado rectal mostró tener 57.89%, el frotis fecal directo 71.05% y la técnica de concentración con sulfato de zinc modificada 84.3%. Con el raspado rectal y la técnica de concentración se hallaron otras especies de parásitos intestina

les.

Con los resultados obtenidos, se observa que las tres técnicas desarrolladas son recomendables para evaluar perros sospechosos de giardiasis.

I N T R O D U C C I O N

El término giardiasis se refiere a la infección del intestino delgado por un protozoario flagelado del género Giardia. A dicha entidad etiológica se le reconoce como un factor importante de enfermedad en gran variedad de animales incluyendo al hombre, por citar algunos se pueden mencionar al: perro, gato, vaca, oveja, conejo y chinchilla. Sin embargo, se ha informado de la identificación del protozoario en más de 50 especies entre mamíferos, aves, reptiles, anfibios y peces^(1,2,12).

Durante mucho tiempo se pensó que en el hombre la Giardia spp. no era patógena y a menudo se le encontraba en materia fecal de humanos asintomáticos por completo, considerando al protozoario como un comensal habitual del intestino; pero ahora se cuenta con pruebas suficientes que demuestran el potencial patógeno de éste parásito. En Medicina Veterinaria ha ocurrido un fenómeno similar al descrito en humanos, ya que cada día es mas frecuente encontrar en la literatura científica veterinaria artículos que informan de la participación del citado protozoario como agente etiológico de enfermedad. Este fenómeno podría deberse principalmente al establecimiento de métodos de estudio más completos y por lo tanto de técnicas de diagnóstico más precisas que a un verdadero incremento de la actividad patógena del parásito^(1,2,7,9,14,18).

Es importante comentar que muchas de las enfermedades infecciosas del hombre tuvieron su origen en los animales, que a través de mutaciones o modificaciones ambientales - se adaptaron al humano, convirtiéndose entonces en zoonosis. Algunas de ellas, como es el caso de la giardiasis, van cobrando mayor relevancia debido al creciente número de datos convincentes que sostienen el concepto de la - transmisión interespecies (1,3,14,16).

Por lo menos nueve especies diferentes, incluyendo al perro, han sido infectadas con éxito con quistes de Giardia spp. aislados del humano (10,16).

El brote más grande de giardiasis humana atribuida a una fuente animal ocurrió en 1976 en la población de Camas, con 6,000 habitantes, en el Edo. de Washington, E.U. A. donde se produjeron 128 casos comprobados de la enfermedad. Parte del abastecimiento de agua de Camas provenía de dos remotos arroyos de montaña, y en la investigación epidemiológica no pudo hallarse ninguna fuente humana de contaminación; en cambio, en la zona de arroyos, se encontraron varios castores infectados. Con los quistes de Giardia spp. de los castores se pudieron infectar cachorros de perro libres de patógenos específicos. Otro hecho indicativo sucedió en un zoológico de los E.U.A., donde la fuente de infección fue un gibón que al ser introducido en una unidad de cuidados especiales, propagó la infección a seis primates y a tres personas. (1).

Con éstas experiencias se demuestra que la barrera animal no es infranqueable, y es posible entonces que tanto animales y hombre se infectan entre sí y que ciertas especies animales constituyan un reservorio de infección para el hombre (3,9,14,16).

Por otra parte, el carácter endémico de giardiasis y su transmisión continua puede verse en la mayoría de los países en desarrollo, la enfermedad afecta sobre todo a los niños. En los Estados Unidos, Australia y Gran Bretaña, la giardiasis es la infección parasitaria más común, presentando un elevado porcentaje de morbilidad; en Gran Bretaña, por ejemplo, se notifican cada año alrededor de 3,200 infecciones (1,12,16). Sin embargo, se han informado brotes de tipo epidémico en Japón, Leningrado, Roma, así como en diversas localidades de Estados Unidos (17).

Nuestro país es considerado de alto riesgo para contraer la giardiasis, siendo asociada principalmente a poblaciones infantiles con dieta pobre en calidad y cantidad. Según estudios realizados en la República Mexicana, se encontró en el 23.7% de los lactantes, en el 20.7% de los preescolares y en el 14.1% de los escolares, trayendo como consecuencia serios problemas nutricionales y retardo en el crecimiento (3).

Se calcula que en México hay nueve millones de personas parasitadas por Giardia lamblia, siendo esta protozoosis la causa más común de parasitosis intestinal (17).

En el Hospital Infantil de México "Dr. Federico Gómez", la Giardia lamblia es el parásito encontrado con mayor frecuencia en niños menores de 6 años y en otros estudios efectuados en 40 guarderías del Distrito Federal, con un total de 3.882 niños entre 40 días y 5 años de edad, el 49.3% resultó parasitado; de éstos, el 35% correspondió a giardiasis y en niños asintomáticos, se identificó el 10.4% positivos a Giardia Lamblia^(3,7).

Una de las cifras más altas es la informada por --- Telch y col. ya que observaron a Giardia lamblia en el 44.8% de los estudios coproparasitoscópicos de la Cd. de México, con 661 niños menores a los seis años de edad⁽⁷⁾.

El parásito puede ser encontrado en la naturaleza en dos formas distintas: la de trofozoito flagelado móvil y la de quiste inmóvil. Los quistes son vistos más comúnmente que los trofozoitos en el análisis fecal, el hallazgo de trofozoitos en las heces es muy raro⁽²⁾.

Los trofozoitos se caracterizan por ser dorsalmente convexos, de forma piriforme y ovoide, con una longitud de 12-17 μ y de 7-10 micras de ancho. Poseen cuatro pares de flagelos y un par de corpúsculos medianos, y son característicamente binucleados. En el centro del cuerpo presentan dos axostilos^(2,3,11)..(Fig.1).

Los quistes son ovales con una pared gruesa y refráctil y miden 8 a 10 micras de longitud por 7 a 10 micras de ancho, tienen de dos a cuatro núcleos^(2,3,11)..(Fig.2).

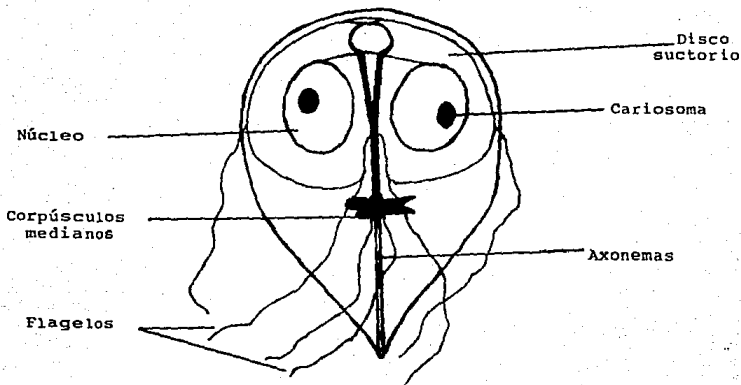


Figura 1 - DIAGRAMA ESQUEMATICO DE UN TROFOZOITO DE GIARDIA.

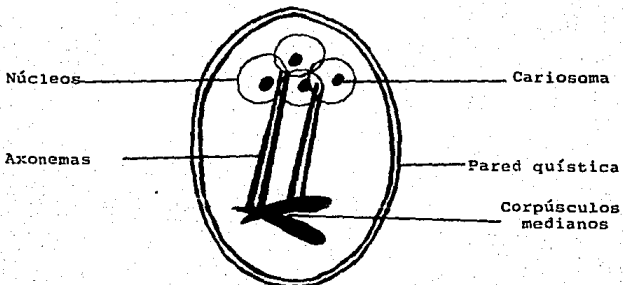


Figura 2 - ESQUEMA DE UN QUISTE DE GIARDIA.

Se ha observado una excreción intermitente de quistes en humanos, perros y gatos. La presencia de quistes en las heces no siempre se correlaciona con la presencia de trofozoitos en el intestino delgado, y puede haber periodos relativamente largos de tiempo durante los cuales los quistes desaparecen de las heces. Esta periodica aparición y desaparición no siguen un patrón definido. Por esta razón, deben ser examinadas por lo menos tres o cuatro muestras fecales en diferentes tiempos en un periodo de 7 a 10 días, para poder detectar con seguridad una infestación^(2,11).

El habitat normal de éste protozoario es el duodeno, yeyuno y primeras porciones del ileón. A veces se le puede encontrar en la vesícula biliar y conductos biliares. Los trofozoitos se adhieren en la superficie epitelial de la mucosa intestinal o pueden estar flotando en el moco entérico⁽⁵⁾.

El modo de transmisión de la giardiasis puede ser básicamente de dos formas: por ingestión directa de heces infectadas con quistes o por la contaminación del agua de la bebida y en menor grado, del alimento con una gran cantidad de ellos, siendo la vía hídrica la más frecuente^(1,2,14).

Es importante tener en cuenta que en la Cd. de México se depositan al día aproximadamente de 2,000 a 3,000 toneladas de heces fecales al aire libre, correspondiendo un 10% a la materia fecal evacuada por perros y gatos tanto

callejeros como aquellos que son paseados por la vía pública⁽⁹⁾. Esto toma gran relevancia debido a las elevadas prevalencias de parásitos intestinales encontradas en los perros en un estudio realizado en el Distrito Federal, en perros menores de un año de edad, siendo la Giardia spp. el parásito que presenta el valor más alto (60%), aumentando así la probabilidad de infección tanto para los dueños como para otros animales^(9,16).

La prevalencia de la giardiasis en perros en otros países es variable, como ejemplos se tiene que en Estados Unidos el rango es desde 4 a 86%, en Rumania de 57%, en Austria de 15%, en Cuba de 60.3 y de 70% en Holanda^(5,8,12,16,18).

Esto toma gran importancia pues al ser la giardiasis una zoonosis, es necesario que el Médico Veterinario participe activamente en la prevención y control de la enfermedad, lo cual se puede llevar a cabo siempre y cuando se cuente con técnicas de diagnóstico sencillas y confiables.

Se han descrito numerosas técnicas para diagnosticar a dicho parásito. Algunas de ellas son invasivas, como la aspiración duodenal llevada a cabo a través de laparatomía exploratoria o por endoscopia, y por recolección de biopsias de mucosa y moco del intestino delgado por laparatomía exploratoria o por vía oral con el paso de una cápsula de biopsia. Las pruebas inmunodiagnósticas para la identificación de anticuerpos contra Giardia spp. están sujetas a investigación y pueden representar la próxima generación

de técnicas diagnósticas para ésta enfermedad. Existen otras que comprenden el exámen de muestras fecales frescas o conservadas, siendo en la actualidad los medios más prácticos y eficaces para el establecimiento del diagnóstico de giardiasis, considerando a la técnica de concentración con sulfato de zinc modificada y el frotis fecal directo como las mejores técnicas de diagnóstico de la enfermedad^(13,18).

El frotis fecal directo es una técnica rápida y simple de realizar, permitiendo la visualización de trofozoitos móviles de Giardia spp., pero para desarrollar el frotis fecal es necesario obtener una muestra fecal con menos de una hora de defecada para asegurar la presencia de trofozoitos. Algunos organismos son particularmente susceptibles a las soluciones saturadas y la presencia de protozoarios como amibas o trichomonas pueden no notarse a menos de que se haga un frotis directo de las heces^(11,18).

En un estudio efectuado en 10 perros con diarrea crónica, utilizando el frotis fecal directo como técnica diagnóstica, fueron encontrados quistes de Giardia canis en las heces del total de los perros⁽¹⁵⁾. En otra investigación la técnica de frotis fecal directo fue desarrollada en 320 muestras de 78 perros. Cuarenta y nueve muestras (15%) contenían trofozoitos móviles de Giardia spp., indicando que 33 perros (42%) tenían giardiasis⁽¹⁸⁾.

La técnica de sulfato de zinc modificada es el método de elección para la concentración de quistes de Giardia de

una muestra de heces. Esta técnica no requiere de una muestra fresca, puede estar refrigerada sobreviviendo los quistes del parásito por periodos largos; ésta técnica también puede ser utilizada para la identificación de huevos de otro tipo de parásitos. Los organismos que flotan en una solución de $ZnSO_4$ comienzan a sumergirse después de una hora, y los quistes se encogen o deforman después de estar expuestos a la solución por varias horas. El inconveniente de ésta técnica es la necesidad de un reactivo y de aparatos de laboratorio para poder realizarla^(9,11,18).

En un experimento, la técnica de sulfato de zinc mg modificada mostró tener 100% de sensibilidad y especificidad para la identificación de quistes de *Giardia*; en el mismo trabajo 86% de los animales fueron positivos al diagnóstico de giardiasis con dicha técnica⁽¹⁸⁾. Burrows y Lillis reportan un porcentaje de infección de 36.3% usando para diagnóstico la técnica de sulfato de zinc, en Nueva Jersey⁽⁴⁾.

En un trabajo realizado a perros con diarrea, utilizando el raspado rectal, se identificaron quistes y trofozoitos de *Giardia spp.* De 48 casos estudiados, 25% resultaron positivos, pudiéndose considerar la técnica, hasta ahora - practicada solo en humanos, como un método auxiliar para el diagnóstico del protozoario en una forma sencilla y rápida en el consultorio veterinario, sin la necesidad de coleccionar una muestra de heces^(5,6).

M A T E R I A L Y M E T O D O S

Se utilizaron 50 perros alojados en el refugio canino de la Asociación Humanitaria Mexicana sin importar raza, sexo, ni edad de los cuales se colectaron tres muestras de heces frescas en días terciados, en bolsas de plástico limpias.

Dichas muestras fueron analizadas mediante la técnica de frotis fecal directo realizandose de la siguiente manera: en un portaobjetos se colocaron dos pequeñas muestras de heces, a una se le añadió tres gotas de solución salina fisiológica tibia (20°C) y a la otra se le puso dos gotas de solución y una gota de lugol. Se colocó un cubreobjetos a cada muestra y se examinaron bajo el microscopio con los objetivos 10x y 40x.

Al momento de recolectar la materia fecal, se procedió simultaneamente a realizar a cada perro un raspado de mucosa rectal por medio de una cucharilla de vidrio. Dicha muestra se diluyó en un mililitro de solución salina fisiológica tibia y en un portaobjetos se pusieron dos gotas de la dilución, una de las cuales se tiñó con lugol. Se les colocó un cubreobjetos y se observó al microscopio con los objetivos 10x y 40x.

Posteriormente cada muestra de heces frescas fué trabajada con la técnica de concentración con sulfato de zinc modificada ⁽¹¹⁾.

Los resultados se analizaron por el método estadístico de Xi cuadrada. La sensibilidad de las pruebas se calculó en base a la siguiente fórmula:

		Prueba de referencia		
		+	-	Total
Prueba de evaluación	+	a	b	r_0
	-	c	d	r_1
	Total	C_0	C_1	N

$$\text{Sensibilidad} = \frac{a}{C_0}$$

R E S U L T A D O S

En la técnica de raspado rectal se encontraron quistes y trofozoitos en veintidos muestras (56%) del total. Con el frotis fecal directo se logró identificar quistes en la mayoría de las muestras positivas a dicha técnica (62%). La técnica de sulfato de zinc modificada fue realizada en las mismas muestras de los 50 perros, obteniéndose 76% de positividad, es decir, a 38 animales se les confirmó el diagnóstico de giardiasis (Cuadro 1).

Con base a los resultados combinados de las tres pruebas, 44 perros fueron positivos a giardiasis, esto representa el 88% del total y solo 6 animales (12%) fueron completamente negativos.

En el análisis estadístico con la prueba de Xi cuadrada la relación entre los resultados del frotis fecal directo con la técnica de sulfato de zinc modificada y con el raspado rectal mostraron no ser independientes ($p < .05$), mientras que para la relación entre la técnica de sulfato de zinc modificada y el raspado rectal mostró no ser significativa a cualquier nivel razonable, concluyendo que son independientes. Sin embargo, el índice de ocurrencia de los resultados obtenidos no mostraron una diferencia significativa con lo esperado. El análisis de las muestras con las tres técnicas produjeron los mismos resultados positivos o negativos para 22 animales de los 50 muestreados (44%).

La asociación entre los resultados de las tres técnicas se sintetizan en el cuadro 2.

En lo referente a la sensibilidad de las técnicas de raspado rectal, frotis fecal directo y la de sulfato de zinc modificada se obtuvieron los siguientes porcentajes respectivamente: 57.89%, 71.05% y 84.37%.

Con la técnica de raspado rectal se puede observar además la presencia de otros protozoarios como amibas y coccidias, y huevecillos de otros parásitos como Ancylostoma coninum y Diylidium caninum. De la misma manera, con la técnica de sulfato de zinc modificada se logró identificar huevecillos de Toxocara canis.

Cuadro 1

Comparación de tres técnicas para el diagnóstico de Giardia spp. realizada en 50 perros.

Técnica	No. animales positivos	Porcentaje
Raspado rectal	28	56.0
Frotis fecal directo	31	62.0
Técnica de sulfato de zinc modificada	38	76.0

Cuadro 2

Asociación entre los resultados del raspado rectal, frotis fecal directo y la técnica de sulfato de zinc modificada.

Raspado rectal	Frotis fecal directo	TSZM "	Número de animales	%
+	+	+	16	32.0
-	-	-	6	12.0
+	+	-	5	10.0
+	-	+	6	12.0
-	+	+	11	22.0
-	-	+	5	10.0
+	-	-	1	2.0
			50	100.0

" . Técnica de sulfato de zinc modificada.

D I S C U S I O N

El frotis fecal directo y el raspado rectal son pruebas rápidas y simples que pueden ser desarrolladas cuando el animal está presente, sin requerir de material especializado, además de que poseen un porcentaje de sensibilidad que las hace confiables para el diagnóstico presuntivo de giardiasis. Es necesario hacer notar que repitiendo las pruebas en tres días diferentes se aumenta el índice de detección de perros infectados. Otra ventaja que presentaron dichas pruebas es que permitieron visualizar trofozoitos de Giardia.

En la técnica de raspado rectal fue mayor la prevalencia reportada en el presente trabajo que la obtenida por Calzada y Alanis en 1985⁽⁵⁾.

El frotis fecal directo detectó el 62% de animales infectados. Este valor es mayor que el reportado por Zimmer y Burrington en un procedimiento similar. Sin embargo, Simmons y Passon reportaron un 100% de positividad con la misma técnica en diez perros con diarrea crónica con contenido mucoso.

La técnica de sulfato de zinc modificada fue la más confiable pues detectó 76% del total muestreado. Este valor es mayor que el informado por Herrera⁽⁹⁾ utilizando la misma técnica. Zimmer y Burrington encontraron 86% de perros identificados con giardiasis con la técnica de sul

fato de zinc modificada⁽¹⁸⁾. Otra ventaja es que las muestras no necesitan ser frescas, sino que pueden estar en refrigeración por largos periodos sin alterar la morfología y presencia del quiste en caso de ser positiva. Por otro lado, aunque se considera específica para el diagnóstico de protozoarios enquistados, puede ser utilizada para la identificación de huevecillos de parásito. Aun cuando se requiere de un reactivo de alto costo, su mayor rapidez y eficacia en comparación a otras técnicas de concentración la hacen la de elección.

Uno de los principales factores por los que no existen reportes suficientes sobre la prevalencia o identificación de Giardia en los animales en México es la poca importancia que el Médico Veterinario Zootecnista da a los protozoarios como agentes productos de enfermedad. Aunado a esto, las técnicas de concentración utilizadas comunmente* son hipertónicas y destruyen los trofozoitos y desecan los quistes, enmascarando a ésta manera el diagnóstico.

Otro factor que contribuye a la dificultad del diagnóstico de giardiasis, es como ya se mencionó en un principio, la intermitente excreción de quistes y trofozoitos de animales infectados. Este fenómeno ha sido observado en humanos, perros y gatos⁽¹¹⁾. Por esta razón es necesario realizar el examen de muestras colectadas en diferentes días en un periodo de 7 a 10 días.

* (Soluciones azucaradas o salinas saturadas).

La presencia de quistes o trofozoitos depende del tipo de muestra que se colecta. Melvin y Brooke sugieren que hay una relación inversa entre la excreción de quistes y trofozoitos. También indican que la consistencia de las heces puede estar asociada con la presencia de trofozoitos o quistes. Los trofozoitos pueden ser mas numerosos en muestras de tipo diarreico, y los quistes ser mas comunes en muestras consistentes.

En base a estas observaciones, se recomienda que el raspado rectal y el frotis fecal directo sean utilizados como pruebas iniciales para evaluar perros con signos clínicos sugestivos de giardiasis. Si alguna de éstas no con firman el diagnóstico, la muestra fecal deberá ser analiza da con la técnica de sulfato de zinc modificada, de ésta forma poder tener la seguridad de dar la terapia correcta al paciente.

L I T E R A T U R A C I T A D A

1. Acha, N.P. y Szyfres, B.: Zoonosis y Enfermedades transmisibles comunes al Hombre y a los Animales. 2a. Ed. Organización Panamericana de la Salud, Washington, E.U.A., 1986.
2. Barlough, J.E.: Canine giardiasis: a review. J. Small Anim. Pract., 20: 613-623 (1979).
3. Bernal, R.R.: Giardiasis. Memorias del curso de actualización en Zoonosis Parasitarias. México, D.F., 1986, 104-126, Fac. Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. (1986).
4. Burrows, R. and Lillis, W.: Intestinal protozoan infections in dogs. J.A.V.M.A., 150: 880-883 (1967).
5. Calzada, L.A. y Alanis, L.J.: Diagnóstico de giardiasis canina mediante la técnica de Citología del moco fecal. Memorias del Congreso Nacional de AMNVEPE. Guadalajara, Jal., 1985, 76-79, AMNVEPE, México, D.F. (1985).
6. Castañeda, R., Anaya, F. y Gutiérrez, G.: Características microscópicas del moco fecal en amibiasis invasora del niño. Arch. Invest. Med., 11: 277-280 (1980).
7. García, M.M. y Larracilla, A.J.: Giardiasis intestinal. Estudio de 100 casos y revisión del tema. Bol. Méd. Hosp. Inf. Méx., 40: 372-374 (1983).

8. Gómez, E., Blandino, T., Mesa, H. y Cueto, M.: Giardia canis en perros con diarrea. Primer reporte en Cuba. Rev.Salud. Aním., 5: 213-215 (1983).
9. Herrera, A.M.: Prevalencia de Giardia spp. en perros menores de un año de edad. Tesis de licenciatura. Fac. Med.Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México,D.F., 1988.
10. Hewlett, E., Andrews, J., Ruttier, J. and Schaerer, F.: Experimental infection of mongrel dogs with Giardia lamblia cysts and cultural trophozoites. J.Inf.Dis., 145: 89-93 (1982).
11. Kirkpatrick, C.E., and Farrell, J.P.: Giardiasis. Comp. Cont.Educ., 4: 367-378 (1982).
12. Kulda, J. and Nohýnkova, E.: Intestinal Flagellates. In: Parasitic Protozoa. Edited by: Kreier, J.P., II, 69-104, Academic Press, New York, U.S.A., 1978.
13. Roudebush, P. and Delivorias, M.H.: Duodenal aspiration via flexible endoscope for diagnosis of giardiasis in a dog. JAVMA, 187: 163-164 (1986).
14. Schantz, P.M.: Emergent or Newly recognized Parasitic Zoonoses. Comp.Cont.Educ., 5: 163-172 (1983).
15. Simmons, J. and Passon Jr., T.J.: Diagnosis of Giardia canis, the elusive parasite. Vet.Med. and Small Anim. Clin., 76: 55-56 (1981).
16. Swan, J.M. and Thompson, R.C.A.: The prevalence of Giardia in dogs and cats in Perth, Western Australia.

Aust.Vet.J., 63: 110-112 (1986).

17. Vázquez, T.O. y Velasco, C.O.: Giardiasis. Infectología, 4: 169-179 (1987).
18. Zimmer, J.F. and Bradford, B.D.: Comparison of four techniques of fecal examination for detecting Canine giardiasis. J. Am. An. Hosp. Ass., 22: 161-167 (1986).