

**Universidad Nacional  
Facultad de Ciencias de la Salud  
Escuela de Medicina Veterinaria**

**Diagnóstico de parásitos gastrointestinales en caninos y felinos:  
estudio retrospectivo en dos laboratorios veterinarios**

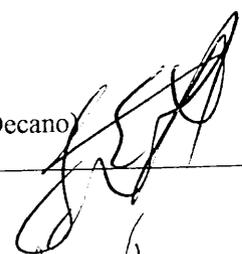
**Modalidad: Proyecto de graduación**

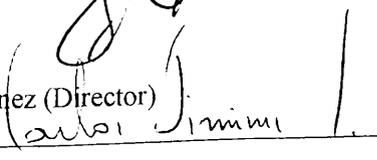
**Trabajo Final de Graduación para optar por el Grado Académico  
de Licenciatura en Medicina Veterinaria**

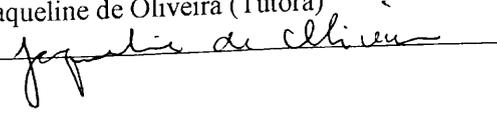
**Laura Fernández Anchía**

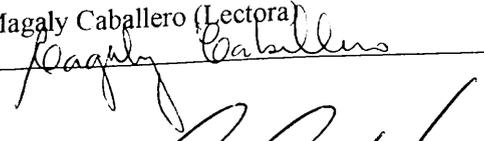
**Campus Pbro. Benjamín Núñez  
2009**

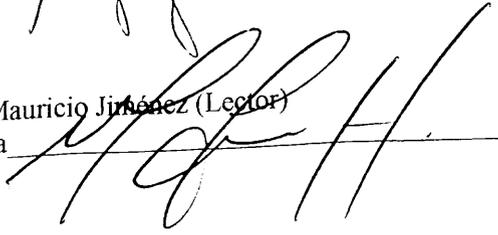
TRIBUNAL EXAMINADOR

Dr. Jorge Quirós (Decano)  
Firma 

Dr. Carlos Jiménez (Director)  
Firma 

Dra. Jaqueline de Oliveira (Tutora)  
Firma 

Dra. Magaly Caballero (Lectora)  
Firma 

Dr. Mauricio Jiménez (Lector)  
Firma 

Fecha 10 de marzo, 2009

## DEDICATORIA

A Dios,

Ese ser omnipotente y misericordioso...Sin su piedad no sería quien soy hoy.

A Pablo, mi esposo

...el gran regalo que Dios me concedió, sin su gran amor, apoyo incondicional y ayuda, en mis días nublados no hubiera salido el sol...

A mi Papi,

Quien desde el cielo me mira y quien con tantos años de dolor y sufrimiento me enseñó que no hay que dejarse vencer, ni siquiera cuando la muerte ronda nuestro lecho. Quien también me enseñó que la ecuanimidad y la lógica son buenas armas para enfrentar la vida.

A mi Mami,

Gran mujer, de las que no se encuentran tan fácilmente en el camino, quien me ha enseñado que a pesar de no nacer en cuna privilegiada, es posible alcanzar lo que se anhela. De quien aprendí que la fuerza de voluntad, la dedicación, una fe ciega en uno mismo, en Dios y en el amor, nos pueden llevar a donde deseamos, incluso hasta el cielo!

A mis hermanos, Alo y Fabi,

De quienes he aprendido que la vida debe disfrutarse...pero que también la compasión y el amor al prójimo hacen mejor este mundo y producen grandes alegrías.

## AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Jaqueline De Oliveira, quien con su fe en mí, su ayuda, su dedicación y apoyo hizo posible este trabajo.

Al Dr. Mauricio Jiménez, quien con su peculiar método de enseñanza me preparó para el mundo real. Sus palabras siempre me acompañan...

A la Dra. Magaly Caballero por darme su apoyo en la realización de este estudio.

Al Dr. Carlos Calleja, mi amigo, mi apoyo en duros años. Gracias!

A mi querida amiga Juli, por su apoyo, su compañía incondicional y sacrificios en momentos en que más lo necesité.

A mi querido amigo Berny... su entusiasmo y su modo particular de ver la vida fueron como las bellas notas de una canción: refrescantes.

A quienes a lo largo de estos años me tendieron su mano cuando más lo necesitaba.

A todos, mi cariño y gratitud por siempre.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>DEDICATORIA.....</b>	<b>II</b>
<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>III</b>
<b>ÍNDICE DE CONTENIDOS.....</b>	<b>IV</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS.....</b>	<b>V</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>VI</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>VII</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>IX</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN _____</b>	<b>1</b>
1.1 Antecedentes _____	1
1.2 Justificación _____	3
1.2.1 Importancia _____	3
1.3 Objetivos _____	5
1.3.1 Objetivo General _____	5
1.3.2 Objetivos específicos _____	5
<b>2. METODOLOGÍA: MATERIALES Y MÉTODOS _____</b>	<b>6</b>
2.1. Lugar de estudio _____	6
2.2. Recolección de datos _____	6
2.3. Análisis de los datos _____	7
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN _____</b>	<b>8</b>
3.1. PGI en caninos _____	9
3.2. PGI en felinos _____	12
3.3. PGI según la edad de los caninos _____	15
3.4. PGI según la edad de los felinos _____	20
3.5. PGI según la técnica coproparasitológica _____	24
<b>4. CONCLUSIONES _____</b>	<b>31</b>
<b>5. RECOMENDACIONES _____</b>	<b>33</b>
<b>6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS _____</b>	<b>34</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Estudio coproparasitológico en caninos y felinos en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.....	8
<b>Cuadro 2.</b> Frecuencia de los parásitos gastrointestinales diagnosticados en caninos en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.....	9
<b>Cuadro 3.</b> Frecuencia de los parásitos gastrointestinales diagnosticados en felinos en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.....	13
<b>Cuadro 4.</b> Frecuencia de los parásitos gastrointestinales diagnosticados en caninos, según la edad, en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.....	16
<b>Cuadro 5.</b> Frecuencia de parásitos gastrointestinales diagnosticados en felinos, según la edad, en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.....	21
<b>Cuadro 6.</b> Resultados de las técnicas coproparasitológicas utilizadas para el diagnóstico de PGI en caninos y felinos en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.....	24
<b>Cuadro 7.</b> Resultados de las técnicas coproparasitológicas, utilizadas en el laboratorio A, para el diagnóstico de PGI en caninos y felinos, de Julio del 2005 a Julio del 2007.....	26
<b>Cuadro 8.</b> Resultados de las técnicas coproparasitológicas, utilizadas en el laboratorio B, para el diagnóstico de PGI en caninos y felinos, de Julio del 2005 a Julio del 2007.....	28

**ÍNDICE DE FIGURAS**

- Figura 1.** Frecuencia de los parásitos gastrointestinales diagnosticados en caninos en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.....10
- Figura 2.** Frecuencia de los parásitos gastrointestinales diagnosticados en felinos en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.....13
- Figura 3.** Frecuencia de los parásitos gastrointestinales diagnosticados en caninos cachorros (menores de 12 meses) en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.....17
- Figura 4.** Frecuencia de los parásitos gastrointestinales diagnosticados en caninos adultos (mayores de 12 meses) en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.....18
- Figura 5.** Frecuencia de los parásitos gastrointestinales diagnosticados en caninos de edad no reportada en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.....18
- Figura 6.** Frecuencia de los parásitos gastrointestinales diagnosticados en felinos cachorros (menores de 12 meses) en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.....22
- Figura 7.** Frecuencia de los parásitos gastrointestinales diagnosticados en felinos adultos (mayores de 12 meses) en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.....22
- Figura 8.** Frecuencia de los parásitos gastrointestinales diagnosticados en felinos de edad no reportada en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.....23

## RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivo determinar, por medio de un estudio retrospectivo, las especies y la frecuencia de parásitos gastrointestinales (PGI) diagnosticados en caninos y felinos en dos laboratorios de diagnóstico veterinario, los cuales reciben muestras referidas por varias clínicas veterinarias del país, así como por el Hospital de Especies Menores de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional (EMV-UNA). Los datos fueron recopilados de los expedientes referentes a los exámenes coproparasitológicos realizados en cada uno de los laboratorios, en el período comprendido entre Julio del 2005 y Julio del 2007. Las especies de PGI diagnosticados, en caninos, en ambos laboratorios fueron: Ancylostomatideos (19.4%), *Giardia* sp. (12.4%), Coccidios (9.2%), *Trichuris vulpis* (3.5%), *Toxocara canis* (3.0%), *Dipylidium caninum* (0.8%), *Strongyloides stercoralis* (0.2%), *Spirocera lupi* (0.2%), *Spirometra mansoni* (0.2%), *Cystoisospora* spp. (0.1%) y *Sarcocystis* spp. (0.1%); mientras las especies diagnosticadas en felinos fueron: Coccidios (15.8%), *Giardia* sp. (12.3%), *Toxocara cati* (3.5%) y Ancylostomatideos (1.8%). En el Laboratorio A, los PGI identificados en los caninos fueron: Ancylostomatideos (30.5%), Coccidios (9.3%), *Trichuris vulpis* (7.9%), *Toxocara canis* (5.7%), *Giardia* sp. (3.6%), *Dipylidium caninum* (1.6%); *Strongyloides stercoralis*, *Spirocera lupi* y *Spirometra mansoni* (0.5%); *Cystoisospora* spp. y *Sarcocystis* spp. (0.2%); mientras que en los felinos lo fueron los Ancylostomatideos (7.1%), *T. cati* (7.1%) y Coccidios (7.1%). Las especies diagnosticadas en caninos, en el laboratorio B fueron: *Giardia* sp. (17.0%), Ancylostomatideos (13.7%), Coccidios (9.1%), *T. canis* (1.6%), *T. vulpis* (1.2%) y *D. caninum* (0.6%); por su parte, las especies diagnosticadas en felinos fueron: Coccidios (18.6%), *Giardia* sp. (16.3%) y *Toxocara cati* (2.3%). En el laboratorio A se identificó más variedad de PGI en perros. En el laboratorio A, los Ancylostomatideos fueron los PGI más frecuentes en caninos cachorros, adultos y de edad no reportada; mientras que los Coccidios, Ancylostomatideos y *T. cati* lo

fueron en felinos adultos y de edad no reportada. A su vez, en el laboratorio B, *Giardia* sp., Ancylostomatideos y Coccidios fueron los PGI más frecuentes en caninos cachorros, adultos y de edad no reportada; mientras que los Coccidios y *Giardia* sp. lo fueron en felinos cachorros, adultos y de edad no reportada. En ambos laboratorios, las técnicas coproparasitológicas de elección son la flotación (con solución de azúcar o de cloruro de sodio) y la microscopía directa, con las cuales se logró detectar helmintos y protozoarios. Los resultados obtenidos demuestran discrepancias en ambos laboratorios, lo que podría deberse a diferencias en las técnicas coproparasitológicas utilizadas, el tipo de muestreo (muestras únicas o seriadas) o a que se trataba de muestras diferentes. Por primera vez se reporta los PGI de felinos domésticos en Costa Rica.

## ABSTRACT

The main objective of this research is to determine, through a retrospective study, the species and the diagnosis of the frequency of gastrointestinal parasites. It was diagnosed in dogs and cats at two veterinary diagnostic laboratories which receive samples referred by several veterinary clinics throughout the country and from the Hospital of Minor Species (EMV-UNA) as well. The data was collected from files referred to coproparasitologic tests processed on each laboratory, between July, 2005 and July, 2007. In both laboratories, the GIP species diagnosed in canines were: Ancylostomatidae (19.4%), *Giardia* sp. (12.4%), *Coccidium* (9.2%), *Trichuris vulpis* (3.5%), *Toxocara canis* (3.0%), *Dypilidium caninum* (0.8%), *Strongyloides stercoralis* (0.2%), *Spirocerca lupi* (0.2%), *Spirometra mansoni* (0.2%), *Cystoisospora* spp. (0.1%) and *Sarcocystis* spp. (0.1%). The GIP species diagnosed in felines in both locations were: *Coccidium* (15.8%), *Giardia* sp. (12.3%), *Toxocara cati* (3.5%) and Ancylostomatidae (1.8%). At Laboratory A the GIP identified in dogs were: Ancylostomatidae (30.5%), *Coccidium* (9.3%), *Trichuris vulpis* (7.9%), *Toxocara canis* (5.7%), *Giardia* sp. (3.6%), *Dipylidium caninum* (1.6%); *Strongyloides stercoralis*, *Spirocerca lupi* and *Spirometra mansoni* (0.5%); *Cystoisospora* spp. and *Sarcocystis* spp. (0.2%); meanwhile in cats were Ancylostomatidae (7.1%), *T. cati* (7.1%) and *Coccidium* (7.1%). The GIP species diagnosed, in dogs at laboratory B were: *Giardia* sp. (17.0%), Ancylostomatidae (13.7%), *Coccidium* (9.1%), *T. canis* (1.6%), *T. vulpis* (1.2%) and *D. caninum* (0.6%); while the species diagnosed in felines were: *Coccidium* (18.6%), *Giardia* sp. (16.3%) and *Toxocara cati* (2.3%). Laboratory A provided a wider variety of GIP's identified in dogs. The most frequent gastrointestinal parasite found in baby, adult and unspecified aged dogs was Ancylostomatidae at laboratory A. Meanwhile, *Coccidium*, Ancylostomatidae and *T. cati* were present on baby, adult and unspecified aged cats. As well on Laboratory B, *Giardia* sp., Ancylostomatidae and *Coccidium* were the most frequent

finding in baby, adult and unspecified aged dogs. On the other hand, *Coccidium* and *Giardia* sp. were frequently reported for baby, adult and unspecified aged cats. In both laboratories, the coproparasitological techniques of choice were flotation (with sugar solution or sodium chloride) and direct microscopy. Both helminths and protozoa were detected there. The final results showed discrepancies between both laboratories, which could be due to the following: differences in the coproparasitological techniques used, the sampling rate (single or serial samples) or the fact that different samples were evaluated. Domestic feline GIP's are reported for the first time in Costa Rica.

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Antecedentes

Los parásitos gastrointestinales (PGI) son los patógenos más frecuentes. Son considerados por los médicos veterinarios una de las principales causas de patologías del tracto gastrointestinal, principalmente en caninos (Ramírez-Barrios et al., 2004).

Entre los PGI en caninos y felinos se destacan: *Ancylostoma* spp., *Toxocara* spp., *Toxascaris leonina*, *Dipylidium caninum*, *Strongyloides stercoralis*, *Trichuris vulpis*, *Spirocerca lupi*, *Giardia intestinalis* y *Cystoisospora* spp. (Visco et al., 1977; Stehr-Green et al., 1987; Kirkpatrick, 1988; Schantz, 1994; Fisher, 2001; Táparo et al., 2006). Se ha comprobado que los PGI son potencialmente patogénicos para las mascotas, aunque animales parasitados pueden presentarse completamente saludables (Kornblatt & Schantz, 1980). No obstante, a pesar de la ausencia de signos clínicos, estos animales excretan los estadios parasitarios (huevos, larvas, quistes u ooquistes) que contaminan el ambiente, lo cual favorece la reinfección o la infección de otros animales (Kornblatt & Schantz, 1980).

El diagnóstico coproparasitológico es, por lo tanto, la principal herramienta para el diagnóstico de los PGI, además, facilita la escogencia de los productos antiparasitarios adecuados, los cuales son fundamentales para prevenir y tratar la enfermedad en las mascotas que conviven diariamente en las viviendas humanas (Kornblatt & Schantz, 1980; Alvarado et al., 2007). La importancia de este tipo de diagnóstico de los PGI no sólo radica en advertir sobre los problemas de salud que estos pueden producir en los animales de compañía, sino también el potencial zoonótico de algunos, tales como *Ancylostoma* spp., *Toxocara* spp., *D. caninum*, *S. stercoralis* y *G. intestinalis* (Kornblatt & Schantz, 1980; Barriga, 1991; Harvey et al., 1991; Schantz, 2002; Alvarado et al., 2007). Por lo tanto, el

análisis coproparasitológico periódico en las mascotas se convierte en una de las medidas preferentes para prevenir la contaminación ambiental (Schantz, 1994; Schantz, 2002; Arguedas, 2006).

Para el diagnóstico de los PGI en caninos y felinos, las principales técnicas coproparasitológicas utilizadas son las de flotación, centrifugación, sedimentación y la microscopía directa; las cuales son de bajo costo, de fácil ejecución y altamente sensibles en lo que respecta a la detección de quistes u ooquistes de protozoarios, así como de huevos y larvas de helmintos (Kirkpatrick, 1988; Zajac et al., 2002; Táparo et al., 2006; Hernández, 2007a).

La recomendación para utilizar una u otra técnica depende del peso específico de los estadios parasitarios. De esta manera, las técnicas de flotación están indicadas para detectar estadios parasitarios de bajo peso específico, mientras que la técnica de sedimentación es recomendada para los estadios de alto peso específico; como los huevos de tremátodos y algunos nemátodos como *Spirocerca lupi* (Sloss et al., 1994; Zajac et al., 2002; Hernández, 2007a; Oliveira, 2007).

De acuerdo con el estudio realizado por Kirkpatrick (1988) en un hospital veterinario de Pensilvania, Estados Unidos, *Giardia* sp. es un parásito más común de lo que se cree, en mascotas. Según dicho autor, los rangos de prevalencia de este protozoario en animales de compañía son, con frecuencia, subestimados debido a factores como: la baja sensibilidad de los métodos de diagnóstico y la naturaleza intermitente de la excreción de los quistes.

Los métodos recomendados para la recuperación de quistes y/o trofozoítos de *Giardia* sp. son la flotación con sulfato de zinc (Kirkpatrick, 1988) y el examen directo con salina-lugol (Hernández, 2007a y 2007b; Oliveira, 2007). A pesar de lo anterior, los quistes y

trofozoítos de *Giardia* sp. son difíciles de detectar e identificar. De aquí deriva la importancia de la experiencia del personal encargado, factor a tomar en cuenta a la hora de interpretar los resultados obtenidos en los laboratorios de diagnóstico (Hernández, 2007b; Oliveira, 2007).

## **1.2 Justificación**

### **1.2.1 Importancia**

Aunque el parasitismo gastrointestinal por protozoarios y/o helmintos es frecuente, la identificación de estos en las heces de los animales de compañía difiere considerablemente debido a variables como: edad, clima, condiciones higiénico-sanitarias, atención médico-veterinaria de rutina y utilización regular de productos antiparasitarios. Adicionalmente, limitaciones de las técnicas coproparasitológicas y el grado de experiencia del examinador pueden ser responsables por errores en el diagnóstico y tratamiento antiparasitario (Kirkpatrick, 1988; Oliveira-Sequeira et al., 2002; Zajac et al., 2002; Antolová et al., 2004; Ramírez-Barrios et al., 2004; Arguedas, 2006; Fontanarrosa et al., 2006; Oliveira, 2007). Por tales motivos estos factores no pueden ser obviados en los estudios de prevalencia de los PGI (Ramírez-Barrios et al., 2004).

El protozoario *Giardia* sp. se destaca como el PGI cuyo diagnóstico es fuertemente influenciado tanto por la técnica coproparasitológica como por el grado de experiencia del examinador (Kirkpatrick, 1988; Hernández, 2007b; Oliveira, 2007). La técnica y la experiencia comparten la responsabilidad en las variaciones de prevalencia en estudios realizados en Italia (21.3%), Argentina (8.9%) y Estados Unidos (7.2%). En algunos casos, los resultados de estos estudios son utilizados como criterio para respaldar la utilización de vacunas, como la *Giardia* Vax® que es la vacuna contra *Giardia* sp. para mascotas. Sin

embargo, dicha vacuna es comercializada en Costa Rica sin el respaldo de un estudio de prevalencia del protozoario en el país (Zamora, 2008).

Las diferencias en el diagnóstico de los PGI son claramente observadas en dos estudios realizados en el país. Aunque utilizaron las mismas técnicas coproparasitológicas (flotación y el examen directo), los resultados obtenidos por Arguedas (2006) y Alvarado et al. (2007) en caninos son distintos. *Toxocara* spp., *G. duodenalis*, *Ancylostoma* spp., Coccidios, *T. vulpis*, *D. caninum* y *S. stercoralis* fueron los PGI detectados (en orden decreciente de frecuencia) en el estudio coproparasitológico que se realizó en una clínica veterinaria en San José (Arguedas, 2006); mientras que los Ancylostomatideos, *Toxocara* spp., Coccidios, *T. vulpis* y *D. caninum* fueron los PGI diagnosticados (también en orden decreciente de frecuencia) en el estudio realizado por estudiantes de la carrera de Medicina Veterinaria de la UNA (Alvarado et al., 2007). *Giardia* sp. no fue diagnosticado en el estudio de Alvarado et al. (2007), probablemente por la falta de experiencia de los estudiantes para identificar dicho protozoario. Cabe mencionar también la formación académica de los examinadores a la hora de reportar los resultados obtenidos. Arguedas (2006) señala el diagnóstico de *Ancylostoma* spp. a través de la técnica de flotación; no obstante, por medio de esta técnica no se pueden diferenciar morfológicamente los huevecillos de nemátodos de los géneros *Ancylostoma* y *Uncinaria*, por lo que se indica reportarlos como Ancylostomatideos (o Ancylostomideos) (Soulsby, 1986; Sloss et al., 1994; Oliveira, 2007), como lo hicieron Alvarado et al. (2007).

Por medio de un estudio retrospectivo en dos laboratorios de diagnóstico veterinario, se pretende determinar cuáles son los PGI diagnosticados en perros y gatos de acuerdo a la edad y las técnicas coproparasitológicas utilizadas. Los resultados obtenidos aportarán información relevante para los clínicos de animales de compañía del país en lo que respecta

a los factores que pueden determinar diferencias en el diagnóstico de los PGI. Lo anterior resulta de fundamental importancia para el adecuado tratamiento antiparasitario de caninos y felinos de nuestro país.

### **1.3 Objetivos**

#### **1.3.1 Objetivo General**

Determinar, por medio de un estudio retrospectivo, las especies y la frecuencia de parásitos gastrointestinales diagnosticados en caninos y felinos en dos laboratorios de diagnóstico veterinario, en el período comprendido entre Julio del 2005 y Julio del 2007.

#### **1.3.2 Objetivos específicos**

- Describir las especies de parásitos gastrointestinales diagnosticadas en caninos y felinos en los dos laboratorios.
- Establecer la frecuencia de las especies de parásitos gastrointestinales diagnosticadas según edad de los caninos y felinos.
- Describir las especies de parásitos gastrointestinales diagnosticadas de acuerdo a la(s) técnica(s) coproparasitológica(s) utilizada(s) en los dos laboratorios.

## **2. METODOLOGÍA: MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1. Lugar de estudio**

El estudio se realizó en dos laboratorios de diagnóstico veterinario ubicados en la provincia de Heredia: el laboratorio de Parasitología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional (EMV-UNA) que será designado como laboratorio A, y un laboratorio privado el cual se denominó laboratorio B. Varios laboratorios fueron contactados, pero solamente los responsables de ambos laboratorios se mostraron anuentes a participar en el estudio.

Los laboratorios que participaron en el estudio reciben muestras referidas por varias clínicas veterinarias (un promedio de 50) así como por el Hospital de Especies Menores de la EMV-UNA, ubicados en el área metropolitana del país.

### **2.2. Recolección de datos**

Se hizo la recolección de los datos por medio de la revisión de los expedientes referentes a los exámenes coproparasitológicos realizados en cada uno de los laboratorios, en el período comprendido entre Julio del 2005 y Julio del 2007. Lo anterior debido a que el laboratorio B empezó a funcionar en el año 2005.

En la revisión de los expedientes se utilizaron los datos referentes a: técnica(s) coproparasitológica(s) y sus resultados, así como la edad de los animales.

### **2.3. Análisis de los datos**

Este estudio es, en esencia, de tipo descriptivo. Los resultados fueron analizados con estadística descriptiva por medio del cálculo de frecuencias.

En primera instancia se obtuvieron las frecuencias absolutas y relativas de caninos y felinos según la técnica de diagnóstico y el diagnóstico. En segunda instancia se obtuvieron las frecuencias absolutas y relativas de la técnica de diagnóstico y el diagnóstico según edad y el laboratorio en el que se realizó el análisis. Finalmente se obtuvieron las frecuencias absolutas y relativas del diagnóstico para las combinaciones de laboratorio y edad (Camacho, 2008).

Para las frecuencias relativas (proporciones o porcentajes) y las diferencias entre categorías se construyeron intervalos exactos de confianza del 95% (Zar, 1999). También se realizaron pruebas de hipótesis para las diferencias de proporciones entre categorías (Camacho, 2008).

No fue posible comparar los resultados entre laboratorios debido a que puede no estarse en presencia de la misma población; además, no fue posible establecer cuál de ellos es más exacto porque no fueron analizadas las mismas muestras en ambos laboratorios, (Romero Zúñiga, 2008).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el período de Julio del 2005 a Julio del 2007 fueron evaluadas en los dos laboratorios 1286 muestras fecales, de las cuales 492 (38.2%) estaban parasitadas por helmintos y/o protozoarios. Del total de muestras evaluadas en los dos laboratorios, 1229 eran de caninos y 57 de felinos (Cuadro 1). Probablemente la cantidad de muestras de gatos es más reducida porque este animal es más independiente, no mantiene una relación tan estrecha con su amo y cubre sus necesidades sin el apoyo de sus dueños. Inversamente, los caninos si establecen relaciones de dependencia con sus amos para su subsistencia.

**Cuadro 1.** Estudio coproparasitológico en caninos y felinos en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.

Especie	Laboratorio A			Laboratorio B			Total		
	E	P	%	E	P	%	E	P	%
Caninos	420	177	42.1	809	297	36.7	1229	474	38.6
Felinos	14	3	21.4	43	15	34.9	57	18	31.6
<b>Total</b>	<b>434</b>	<b>180</b>	<b>41.5</b>	<b>852</b>	<b>312</b>	<b>36.6</b>	<b>1286</b>	<b>492</b>	<b>38.2</b>

(E) número de evaluados; (P) número de parasitados; (%) frecuencia.

### 3.1. PGI en caninos

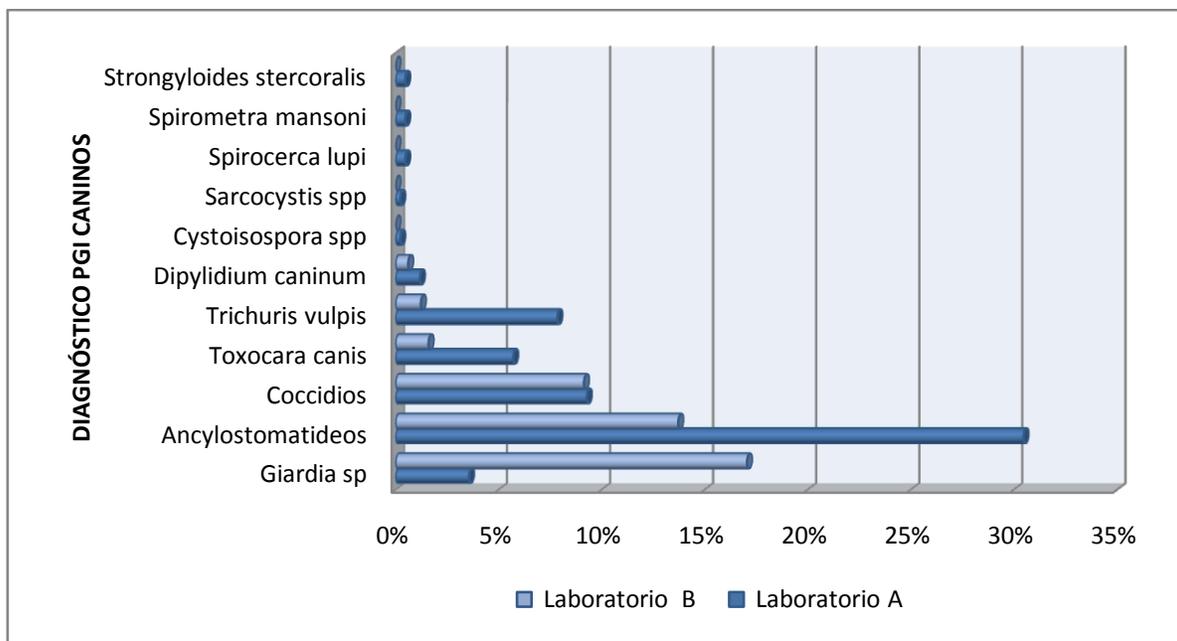
De las 1229 muestras de caninos, el parasitismo por PGI fue diagnosticado en 474 de las muestras lo cual equivale a un 38.6% (Cuadro 1). Este porcentaje es más bajo que los reportados en Costa Rica por Arguedas Zeledón (2006) y Alvarado et al. (2007) (56% y 62.1%, respectivamente).

Los PGI diagnosticados en caninos, en ambos laboratorios, fueron: Ancylostomatideos (19.4%), *Giardia* sp. (12.4%), Coccidios (9.2%), *Trichuris vulpis* (3.5%), *Toxocara canis* (3.0%), *Dypilidium caninum* (0.8%), *Strongyloides stercoralis* (0.2%), *Spirocerca lupi* (0.2%), *Spirometra mansoni* (0.2%), *Cystoisospora* spp. (0.1%) y *Sarcocystis* spp. (0.1%).

**Cuadro 2.** Frecuencia de los parásitos gastrointestinales diagnosticados en caninos en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.

PGI	Laboratorio A		Laboratorio B	
	N	%	N	%
<b>Nemátodos:</b>				
<i>Trichuris vulpis</i>	33	7.9	10	1.2
Ancylostomatideos	128	30.5	111	13.7
<i>Toxocara canis</i>	24	5.7	13	1.6
<i>Strongyloides stercoralis</i>	2	0.5	0	0
<i>Spirocerca lupi</i>	2	0.5	0	0
<b>Protozoarios:</b>				
<i>Giardia</i> sp.	15	3.6	138	17.1
<i>Sarcocystis</i> spp.	1	0.2	0	0
<i>Cystoisospora</i> spp.	1	0.2	0	0
Coccidios	39	9.3	74	9.1
<b>Céstodos:</b>				
<i>Spirometra mansoni</i>	2	0.5	0	0
<i>Dipylidium caninum</i>	5	1.2	5	0.6

N: número de parasitados; %: frecuencia



**Figura 1.** Frecuencia de los parásitos gastrointestinales diagnosticados en caninos en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.

En el laboratorio A fueron evaluadas 434 muestras, de las cuales 420 eran de caninos (Cuadro 1). En este laboratorio, los PGI diagnosticados en caninos fueron: Ancylostomatideos (30.5%), Coccidios (9.3%), *Trichuris vulpis* (7.9%), *Toxocara canis* (5.7%), *Giardia* sp. (3.6%), *Dipylidium caninum* (1.2%); *Strongyloides stercoralis*, *Spirocerca lupi* y *Spirometra mansoni* (0.5%); y los coccidios *Cystoisospora* sp. y *Sarcocystis* sp. (0.2%) (Cuadro 2, Figura 1). En lo que respecta al laboratorio B, fueron evaluadas 852 muestras, de las cuales 809 eran de caninos (Cuadro 1). En este laboratorio, los PGI diagnosticados en caninos fueron: *Giardia* sp. (17.0%), Ancylostomatideos (13.7%), Coccidios (9.1%), *T. canis* (1.6%), *T. vulpis* (1.2%), *D. caninum* (0.6%) (Cuadro 2, Figura 1). Los resultados obtenidos demuestran que los PGI más frecuentes en el laboratorio A, en caninos, fueron los Ancylostomatideos (*Ancylostoma* sp. y/o *Uncinaria* sp.), mientras que en el laboratorio B lo fue *Giardia* sp. Lo reportado por el laboratorio A coincide con lo hallado

por Fontanarroza et al. (2006) en Buenos Aires, Argentina, donde el parásito más frecuente en caninos fue *Ancylostoma caninum*; lo encontrado en el laboratorio B con respecto a la prevalencia de *Giardia* sp. concuerda con lo reportado por Bugg et al. (1999) en Australia, donde este parásito fue el más frecuente en caninos. En un estudio realizado en nuestro país por Arguedas Zeledón (2006), los PGI identificados fueron *T. canis*, *G. duodenalis*, *Ancylostoma* spp., Coccidios, *T. vulpis*, *D. caninum* y *S. stercoralis*, y en otro estudio realizado en nuestro país por estudiantes de la carrera de Medicina Veterinaria de la UNA los parásitos diagnosticados fueron Ancylostomatideos, *Toxocara* spp., Coccidios, *T. vulpis* y *D. caninum*. *Giardia* sp. no fue diagnosticado en el estudio de Alvarado et al. (2007), probablemente por la falta de experiencia de los estudiantes para identificar dicho protozoario.

En estudios realizados en Costa Rica (Arguedas Zeledón, 2006), Estados Unidos (Kirkpatrick, 1988), Venezuela (Ramírez-Barrios et al., 2004), Argentina (Fontanarroza et al., 2006) y República Checa (Dubná et al., 2007), *T. canis* fue el PGI más frecuente. Sin embargo, es importante tomar en cuenta que las frecuencias encontradas en estos estudios poseen una gran variabilidad, relacionada con diferencias geográficas y climáticas, eliminación intermitente de algunos parásitos, diferencias en los métodos coproparasitológicos utilizados, posibilidad de infecciones prepatentes, el uso de distintos métodos de muestreo (muestra única o seriada), así como las facilidades veterinarias y la conciencia pública de la importancia de cuidar a las mascotas (Fontanarroza et al., 2006; Yacob et al., 2007).

En los resultados obtenidos por el laboratorio A se puede observar una mayor diversidad de PGI diagnosticados en caninos, lo que probablemente se debe a que este es un

laboratorio de docencia universitaria. Además, se observan dos modalidades de identificación respecto a los coccidios:

- La que se basa en las características de los ooquistes no esporulados, lo cual hace que la identificación quede en nivel de clase (Coccidia);
- La que se basa en las características morfológicas de los ooquistes esporulados, lo que permite la identificación, a veces, en nivel de género (*Cystoisospora* y *Sarcocystis*) (Cuadro 2, Figura 1).

### 3.2. PGI en felinos

De las 57 muestras de felinos, en 18 (31.6%) se identificó el parasitismo gastrointestinal (Cuadro 1). Lastimosamente, no hay estudios previos sobre los PGI de felinos en Costa Rica, por lo que este estudio arroja resultados de gran relevancia para los clínicos de esta especie.

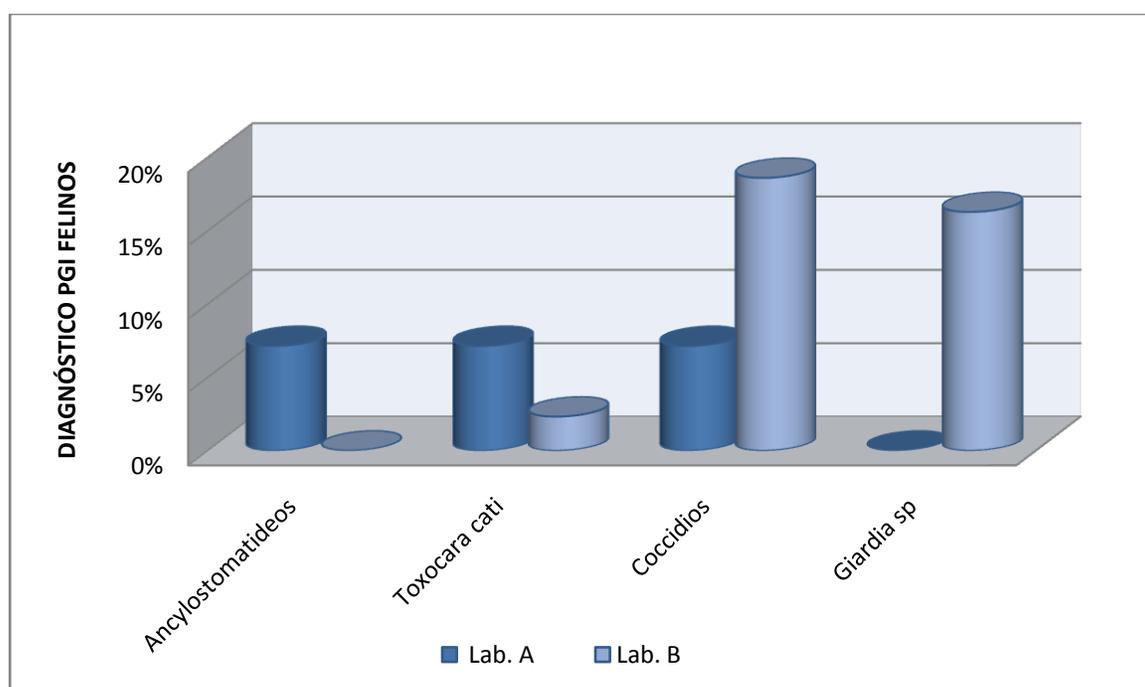
Los PGI diagnosticados en felinos, en ambos laboratorios, fueron: Coccidios (15.8%), *Giardia* sp. (12.3%), *Toxocara cati* (3.5%) y Ancylostomatideos (1.8%).

En el laboratorio A fueron evaluadas 434 muestras, de las cuales 14 eran de felinos (Cuadro 1). En este laboratorio, los PGI diagnosticados en los felinos fueron: Ancylostomatideos, *Toxocara cati* y Coccidios (7.1%) (Cuadro 3, Figura 2). Por otro lado, de las 852 muestras fecales evaluadas en el laboratorio B, 43 pertenecían a felinos (Cuadro 1). Los PGI diagnosticados en los felinos de este laboratorio fueron: Coccidios (18.6%), *Giardia* sp. (16.3%) y *Toxocara cati* (2.3%) (Cuadro 3, Figura 2).

**Cuadro 3.** Frecuencia de los parásitos gastrointestinales diagnosticados en felinos en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.

PGI	Laboratorio A		Laboratorio B	
	N	%	N	%
Ancylostomatideos	1	7.1	0	0
<i>Toxocara cati</i>	1	7.1	1	2.3
Coccidios	1	7.1	8	18.6
<i>Giardia</i> sp.	0	0	7	16.3

N: número de parasitados; %: frecuencia



**Figura 2.** Frecuencia de los parásitos gastrointestinales diagnosticados en felinos en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.

En Brasil, Labarthe et al. (2004) reportan que el PGI de mayor prevalencia en gatos es *Ancylostoma braziliense* (65.9%), seguido de *Dipilydium caninum* (52.6%), *Toxocara cati* (25.2%), *Toxascaris leonina* (11.9%), *Physaloptera praeputialis* (9.6%) y *A. tubaeforme* (8.9%). Calvete et al. (1998), en un estudio realizado en España, encontraron que el parásito más frecuente presentado en gatos es *T. cati* (55.2%), seguido de *A. tubaeforme* (29.3%) y *D. caninum* (20.7%). Al igual que lo comentado para los PGI de caninos, es importante, una vez más, recalcar la influencia de factores como: región geográfica, la frecuencia de cuidados veterinarios, hábitos de las poblaciones locales de animales, estación del año y la cantidad de muestras analizadas, además de la experiencia del examinador y el tipo de técnica utilizada (Calvete et al., 1998; Labarthe et al., 2004; Arguedas Zeledón, 2006). En Australia, McGlade et al. (2003) reportaron prevalencia del 80% de *Giardia* sp. en felinos. Sin embargo, se debe tener en cuenta que esta prevalencia fue obtenida con la prueba de PCR y no con las técnicas coproparasitológicas de rutina.

Se observa una menor diversidad de especies diagnosticadas en felinos en ambos laboratorios (Cuadro 3, Figura 2). Esto se debe probablemente a que los propietarios de felinos completamente domiciliados son los que llevan a sus animales a consulta veterinaria; por su parte, los dueños de gatos semi-domiciliados tienen pocas oportunidades de detectar alteraciones en sus animales, y por lo tanto, rara vez los llevan a consulta. Los felinos domiciliados tienen menor riesgo de infección por PGI que los semi-domiciliados.

### 3.3. PGI según la edad de los caninos

De las 420 muestras de caninos, evaluadas en el laboratorio A, 185 (44.0%) correspondían a caninos menores de 12 meses de edad, 247 (58.8%) a caninos mayores de 12 meses de edad y 63 (15.0%) a caninos cuya edad no fue reportada (Cuadro 4).

De las 185 muestras correspondientes a caninos menores de 12 meses de edad, 38 (9.0%) muestras resultaron positivas a Ancylostomatideos, 22 (5.2%) a Coccidios, 13 (3.1%) a *T. canis*, 13 (3.1%) a *Giardia* sp., 6 (1.4%) a *T. vulpis*, 1 (0.2%) a *D. caninum*, 1 (0.2%) a *S. stercoralis*, 1 (0.2%) a *Cystoisospora* spp. (Cuadro 4, Figura 3).

De las 247 muestras evaluadas, correspondientes a caninos adultos (mayores de 12 meses de edad), 73 (17.4%) muestras fueron positivas a Ancylostomatideos, 17 (4.0%) a *T. vulpis*, 15 (3.6%) a Coccidios, 7 (1.7%) a *T. canis*, 4 (1.0%) a *D. caninum*, 2 (5.0%) a *Giardia* sp.; 1 (0.5%) a *S. stercoralis* y a *Sarcocystis* spp. (Cuadro 4, Figura 4).

En relación a las 63 muestras de caninos cuya edad no fue reportada, 17 (4.0%) fueron positivas a Ancylostomatideos, 10 (2.4%) a *T. vulpis*, 4 (1.0%) a *T. canis*; 2 (0.5%) a Coccidios, *Spirocera lupi* y *Spirometra mansoni* (Cuadro 4, Figura 5).

**Cuadro 4.** Frecuencia de los parásitos gastrointestinales diagnosticados en caninos, según la edad, en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.

PGI	≤12 MESES				>12 MESES				EDAD NO REPORTADA			
	Laboratorio A		Laboratorio B		Laboratorio A		Laboratorio B		Laboratorio A		Laboratorio B	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Trichuris vulpis</i>	6	1.4	5	0.6	17	4.0	1	0.1	10	2.4	4	0.5
<i>Ancylostomatideos</i>	38	9.0	38	4.7	73	17.4	36	4.4	17	4.0	37	4.6
<i>Toxocara canis</i>	13	3.1	10	1.2	7	1.7	0	0	4	1.0	3	0.4
<i>Dipylidium caninum</i>	1	0.2	2	0.2	4	1.0	3	0.4	0	0	0	0
Coccidios	22	5.2	51	6.3	15	3.6	3	0.4	2	0.5	20	2.5
<i>Giardia</i> sp.	13	3.1	78	9.6	2	0.5	26	3.2	0	0	34	4.2
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1	0.2	0	0	1	0.2	0	0	0	0	0	0
<i>Cystoisospora</i> spp.	1	0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Spirocerca lupi</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0.5	0	0
<i>Spirometra mansoni</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0.5	0	0
<i>Sarcocystis</i> spp.	0	0	0	0	1	0.2	0	0	0	0	0	0
<b>TOTAL POR EDAD</b>	<b>185</b>		<b>311</b>		<b>247</b>		<b>262</b>		<b>63</b>		<b>290</b>	
<b>TOTAL MUESTRAS</b>	<b>420</b>		<b>809</b>		<b>420</b>		<b>809</b>		<b>420</b>		<b>809</b>	

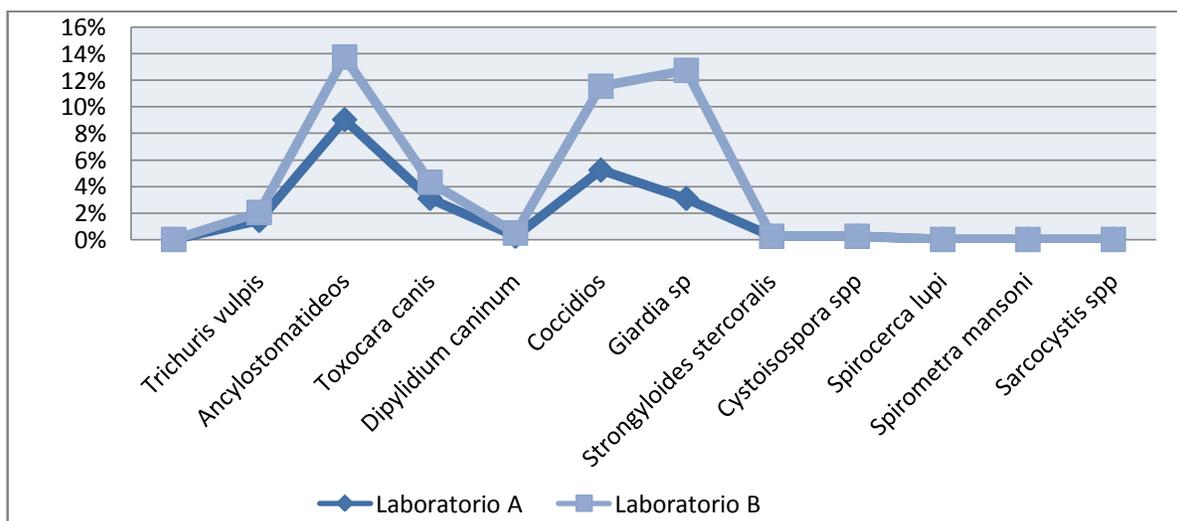
N: Número de parasitados; %: Frecuencia

En el laboratorio B, fueron evaluadas 809 muestras de caninos, de las cuales 311 (38.4%) pertenecían a caninos menores de 12 meses de edad, 262 (32.4%) a caninos mayores de 12 meses de edad y 290 (35.8%) a caninos cuya edad no fue reportada (Cuadro 4).

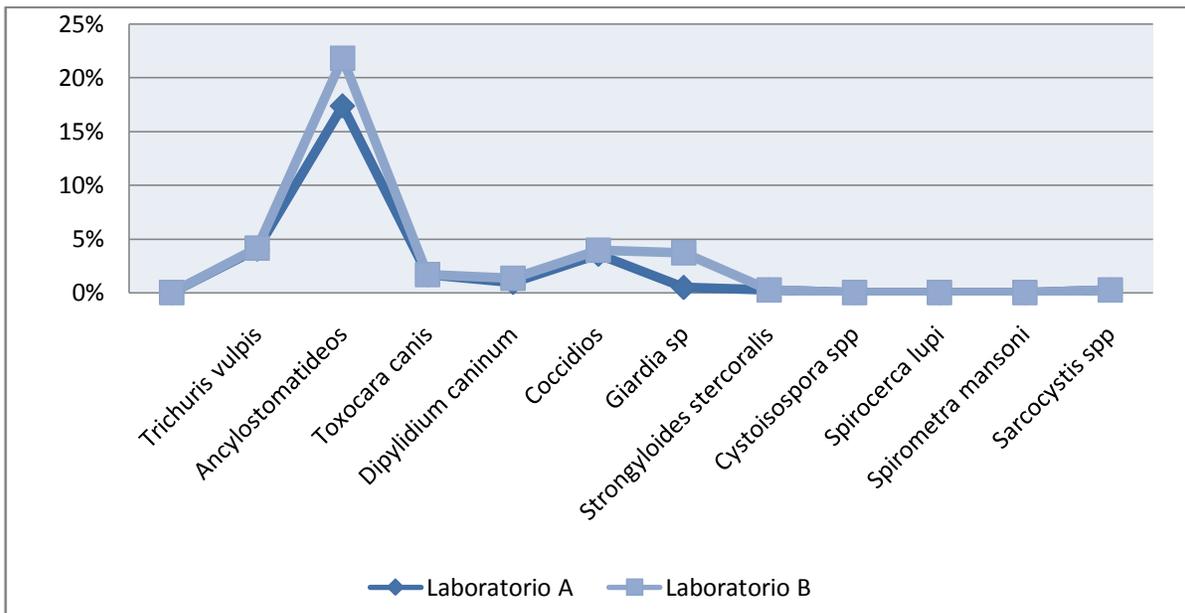
De las 311 muestras correspondientes a caninos cachorros (menores de 12 meses de edad), 78 (9.6%) muestras resultaron positivas a *Giardia* sp., 51 (6.3%) a Coccidios, 38 (4.7%) a Ancylostomatideos, 10 (1.2%) a *T. canis*, 5 (0.6%) a *T. vulpis* y 2 (0.2%) a *D. caninum* (Cuadro 4 y Figura 3).

En cuanto a las 262 muestras de caninos adultos (mayores de 12 meses de edad), 36 (4.4%) muestras fueron positivas a Ancylostomatideos, 26 (3.2%) a *Giardia* sp.; 3 (0.4%) a *D. caninum* y Coccidios (Cuadro 4 y Figura 4).

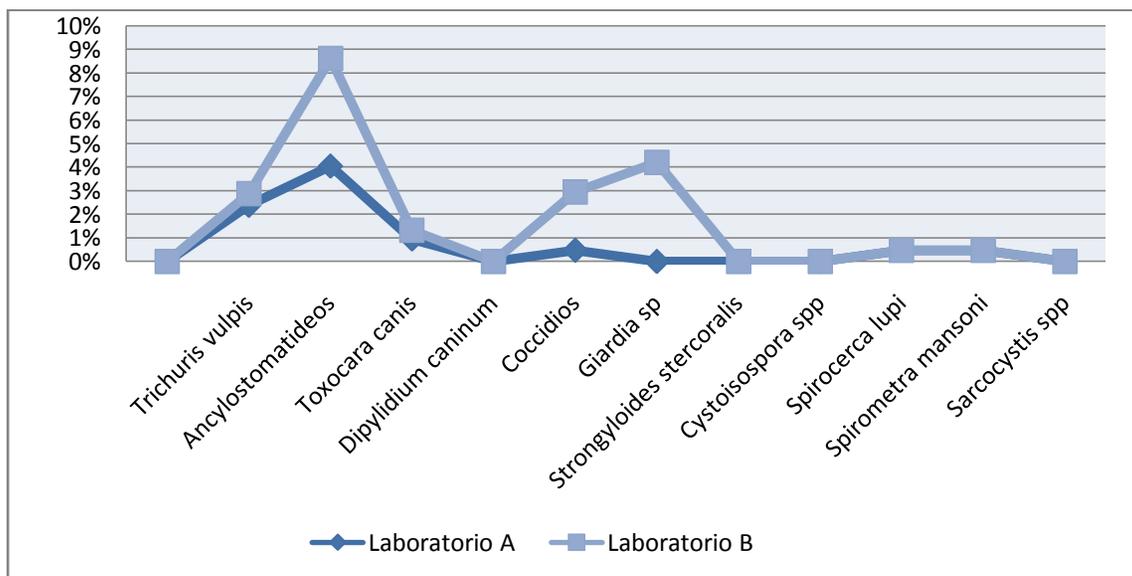
De las 290 muestras correspondientes a caninos cuya edad no fue reportada, 37 (4.6%) muestras fueron positivas a Ancylostomatideos, 34 (4.2%) a *Giardia* sp., 20 (2.5%) a Coccidios, 4 (0.5%) a *T. vulpis* y 3 (0.4%) a *T. canis* (Cuadro 4 y Figura 5).



**Figura 3.** Frecuencia de los parásitos gastrointestinales diagnosticados en caninos cachorros (menores de 12 meses) en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.



**Figura 4.** Frecuencia de los parásitos gastrointestinales diagnosticados en caninos adultos (mayores de 1 año) en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.



**Figura 5.** Frecuencia de los parásitos gastrointestinales diagnosticados en caninos de edad no reportada en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.

De acuerdo a la literatura, los PGI más frecuentes en los cachorros caninos son *T. canis* y los Ancylostomatideos, debido a la transmisión transplacentaria y transmamaria de estos nemátodos (Bugg et al., 1999; Barriga, 1991; Schantz, 1999; Fontanarrosa et al., 2006), y al hecho de que la inmunidad es usualmente adquirida con la edad, probablemente a consecuencia de una o varias exposiciones al parásito (Ramírez-Barríos et al., 2004; Fontanarrosa et al., 2006). Asimismo, la infección por *Giardia* sp. es significativamente más alta en cachorros que en adultos, esto debido a que los perros desarrollan resistencia a este parásito como consecuencia de previas exposiciones y/o maduración del sistema inmune (Kirkpatrick, 1987; Oliveira-Sequeira et al., 2002).

En un estudio realizado en cachorros caninos, comercializados en tiendas de mascotas en el área metropolitana de Costa Rica, se reportó una alta prevalencia de Coccidios; lo que según la autora probablemente se debe a que los ooquistes de estos protozoarios son muy resistentes a condiciones ambientales así como a algunos desinfectantes. Los animales muestreados en dicho estudio habían sido previamente desparasitados con productos antihelmínticos, lo que quizás determinó bajas prevalencias de helmintos (Calderón, 2008).

En cuanto a la relación de *T. canis* con el hospedero, disminuye gradualmente la posibilidad de que el parásito pueda culminar con éxito su ciclo de vida conforme aumenta la edad del hospedero, esto debido a la resistencia desarrollada con la edad. Sin embargo, algunos autores han documentado que perros adultos pueden adquirir la infección y eliminar huevecillos al ambiente, a pesar de la respuesta humoral (Oliveira-Sequeira et al., 2002; Rubel et al., 2003). En un estudio realizado por Fontanarrosa et al (2006) en Argentina, especies como *A. caninum* y *T. vulpis* tendieron a aumentar su prevalencia conforme aumentaba la edad del hospedero, mientras que la prevalencia de parásitos como *T. canis*,

*Sarcocystis* spp, *Cystoisospora* spp. y *Giardia* sp. tuvieron la tendencia a disminuir conforme aumentaba la edad del hospedero (Fontanarroza et al., 2006).

### 3.4. PGI según la edad de los felinos

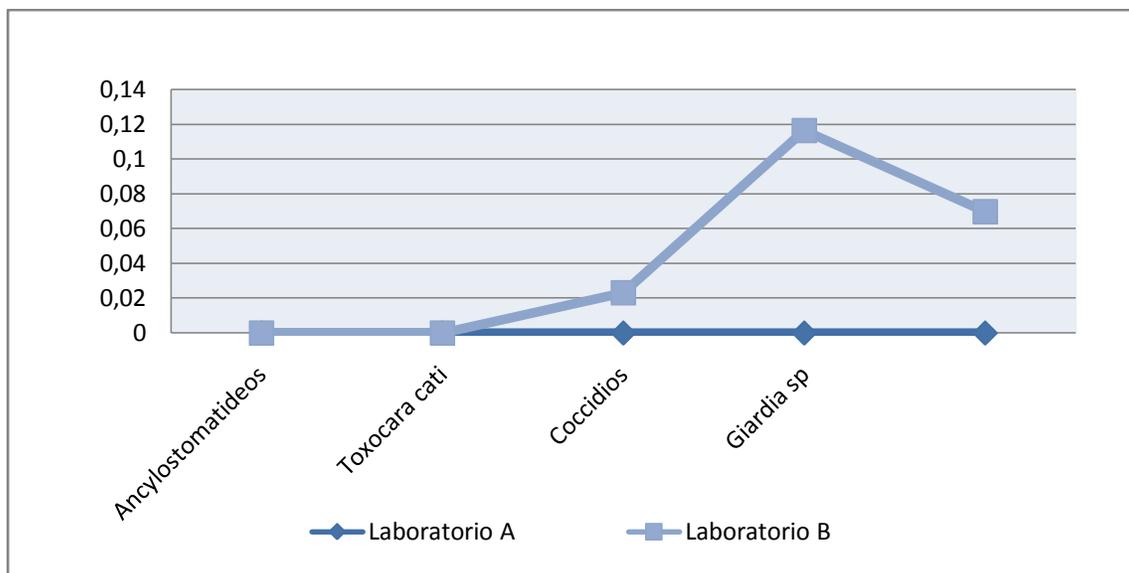
En el laboratorio A, fueron evaluadas 14 muestras de felinos, de las cuales, 5 (35.7%) pertenecían a felinos menores de 12 meses de edad, 6 (42.8%) a felinos mayores de 12 meses de edad y 3 (21.4%) muestras pertenecían a felinos cuya edad no fue reportada (Cuadro 5). En ninguno de los felinos menores de 12 meses se diagnosticó PGI; mientras que en los felinos con más de 12 meses se diagnosticó un 7.1% positivos a Coccidios, y en los de edad no reportada se identificó un 7.1% con Ancylostomatideos y *T. cati* (Cuadro 5).

En lo que respecta al laboratorio B, fueron evaluadas 43 muestras de felinos, de las cuales 17 (39.5%) correspondían a felinos menores de 12 meses de edad, 9 (20.9%) a felinos mayores de 12 meses de edad y 19 (44.2%) a felinos cuya edad no fue reportada (Cuadro 5). De las 17 muestras correspondientes a felinos cachorros, 5 (11.6%) muestras fueron positivas a Coccidios, 3 (7.0%) a *Giardia* sp. y 1 (2.3%) de las muestras fue positiva a *T. cati* (Cuadro 5, Figuras 7). De las 9 muestras correspondientes a felinos adultos, 2 (4.7%) muestras fueron positivas a Coccidios y 1 (2.3%) a *T. cati* y *Giardia* sp. (Cuadro 5, Figura 8). Asimismo, de las 19 muestras correspondientes a felinos de edad no reportada, 3 (7.0%) fueron positivas a *Giardia* sp. y 1(2.3%) positiva a Coccidios (Cuadro 5, Figura 9).

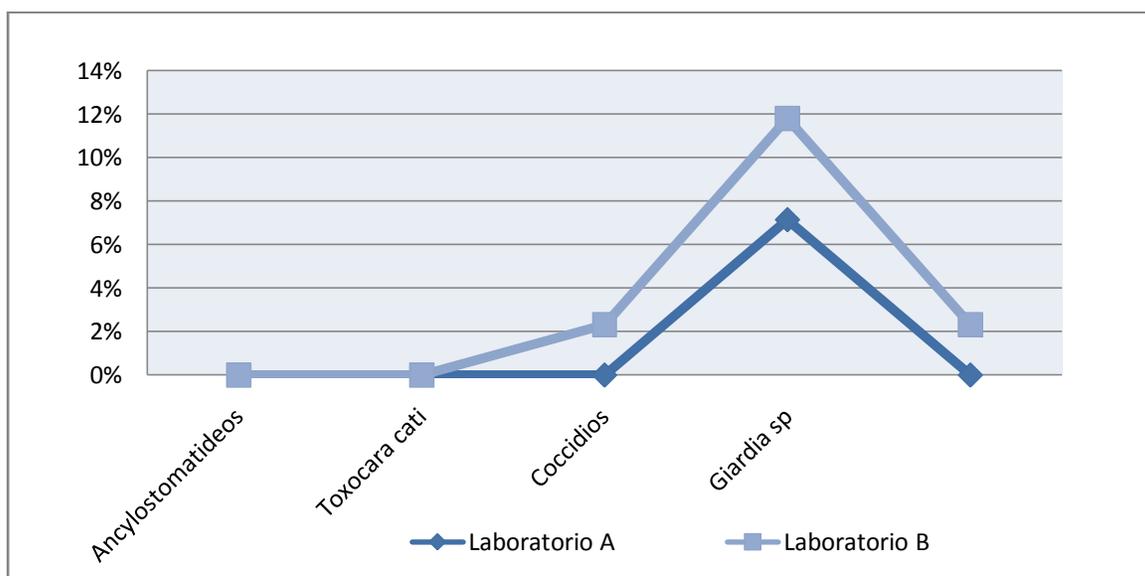
**Cuadro 5.** Frecuencia de parásitos gastrointestinales diagnosticados en felinos, según la edad, en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.

PGI	≤12 MESES				>12 MESES				EDAD NO REPORTADA			
	Laboratorio A		Laboratorio B		Laboratorio A		Laboratorio B		Laboratorio A		Laboratorio B	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Ancylostomatideos	0	0	0	0	0	0	0	0	1	7.1	0	0
<i>Toxocara cati</i>	0	0	1	2.3	0	0	1	2.3	1	7.1	0	0
Coccidios	0	0	5	11.6	1	7.1	2	4.7	0	0	1	2.3
<i>Giardia</i> sp	0	0	3	7.0	0	0	1	2.3	0	0	3	7.0
<b>TOTAL POR EDAD</b>	<b>5</b>		<b>17</b>		<b>6</b>		<b>9</b>		<b>3</b>		<b>19</b>	
<b>TOTAL MUESTRAS</b>	<b>14</b>		<b>43</b>		<b>14</b>		<b>43</b>		<b>14</b>		<b>43</b>	

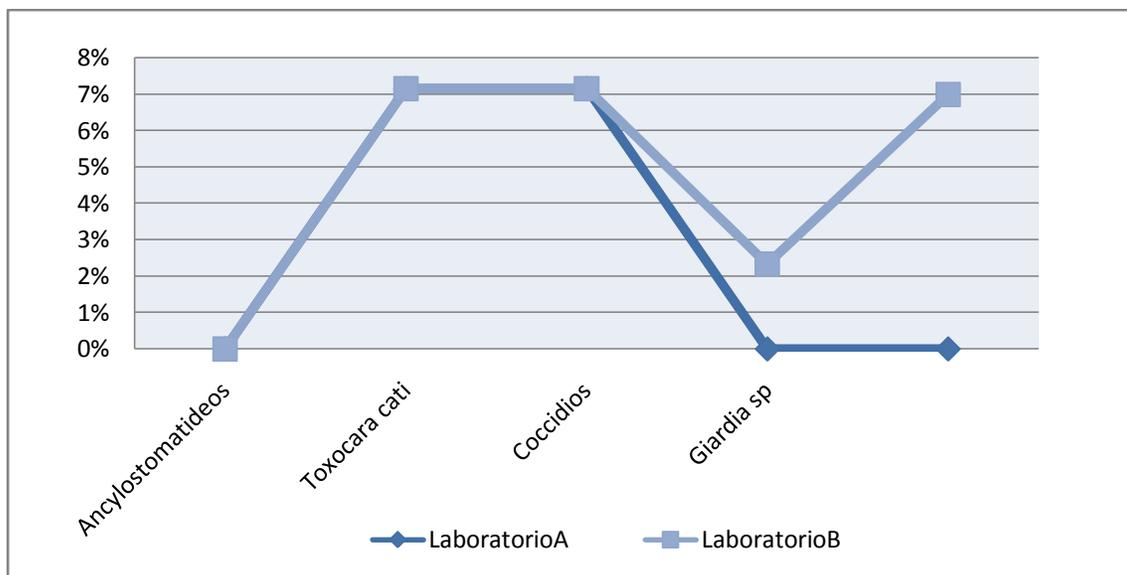
N: Número de parasitados; %: Frecuencia



**Figura 6.** Frecuencia de los parásitos gastrointestinales diagnosticados en felinos cachorros (menores de 12 meses) en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.



**Figura 7.** Frecuencia de los parásitos gastrointestinales diagnosticados en felinos adultos (mayores de 12 meses) en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.



**Figura 8.** Frecuencia de los parásitos gastrointestinales diagnosticados en felinos de edad no reportada en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.

Estudios realizados en Brasil, Australia y Estados Unidos indican que la prevalencia de *Giardia* sp. es mayor en gatos menores de 6 meses (Kirkpatrick, 1988; Nolan & Smith, 1995; Mcglade et al., 2003; Tzannes et al., 2008). Esto concuerda con los datos obtenidos por el Laboratorio B en el cual este protozooario fue diagnosticado en gatos de los tres grupos de edad. En los Estados Unidos se reportaron prevalencias de *Giardia* sp. en rangos que van de 2.4% a 7.3% y de Coccidios en rangos de 2.9% a 6.7% (De Santis-Kerr et al., 2006). En este mismo estudio, los gatitos tuvieron la mayor prevalencia de *Giardia* sp. y Coccidios, y conforme fue aumentando la edad fue disminuyendo la prevalencia de estos parásitos (De Santis-Kerr et al., 2006). Tzannes et al. (2008) reportaron el parasitismo por *Giardia* sp. en gatos cachorros y adultos utilizando la prueba de PCR.

### 3.5. PGI según la técnica coproparasitológica

En lo que respecta a técnicas utilizadas por ambos laboratorios para el diagnóstico de PGI en caninos, se obtuvo la siguiente información: en el laboratorio A fueron evaluadas 420 muestras de caninos de las cuales 407 (96.9%) fueron procesadas utilizando la técnica de flotación y 120 (28.6%) muestras fueron procesadas utilizando la técnica de microscopía directa (Cuadro 6). Por su parte, en el laboratorio B fueron evaluadas 809 muestras de caninos, de las cuales 804 (99.4%) fueron procesadas utilizando la técnica de flotación y 224 (27.7%) la técnica de microscopía directa (Cuadro 6).

**Cuadro 6.** Resultados de las técnicas coproparasitológicas utilizadas para el diagnóstico de PGI en caninos y felinos en dos laboratorios del área metropolitana de Costa Rica, de Julio del 2005 a Julio del 2007.

Laboratorio/Especie	Flotación			Microscopía Directa			Total		
	E	P	%	E	P	%	E	P	%
<b>Laboratorio A</b>									
Caninos	407	175	43.0	120	40	33.3	420	215	51.2
Felinos	12	3	25.0	4	0	0.0	14	3	21.4
<b>Total</b>	<b>419</b>	<b>178</b>	<b>42.5</b>	<b>124</b>	<b>40</b>	<b>32.3</b>	<b>434</b>	<b>218</b>	<b>50.2</b>
<b>Laboratorio B</b>									
Caninos	804	295	36.7	224	85	37.9	809	380	47.0
Felinos	43	15	34.9	12	6	50.0	43	21	48.8
<b>Total</b>	<b>847</b>	<b>310</b>	<b>36.6</b>	<b>236</b>	<b>91</b>	<b>38.6</b>	<b>852</b>	<b>401</b>	<b>47.1</b>

(E) número de evaluados; (P) número de parasitados; (%) frecuencia.

En lo que respecta a técnicas utilizadas por ambos laboratorios para el diagnóstico de PGI en caninos, se obtuvo la siguiente información: en el laboratorio A fueron evaluadas 420 muestras de caninos de las cuales 407 (96.9%) fueron procesadas utilizando la técnica de flotación y 120 (28.6%) muestras fueron procesadas utilizando la técnica de microscopía directa (Cuadro 6). Por su parte, en el laboratorio B fueron evaluadas 809 muestras de

caninos, de las cuales 804 (99.4%) fueron procesadas utilizando la técnica de flotación y 224 (27.7%) la técnica de microscopía directa (Cuadro 6).

En relación a los felinos, se obtuvo la siguiente información en el laboratorio A: fueron evaluadas 14 muestras de felinos de las cuales 12 (85.7%) fueron procesadas utilizando la técnica de flotación y 4 (28.6%) la técnica de microscopía directa (Cuadro 6). Por su parte, en el laboratorio B, de las 43 muestras de felinos evaluadas: 43(100%) fueron procesadas utilizando la técnica de flotación y 12 (27.9%) lo fueron utilizando la técnica de microscopía directa (Cuadro 6).

Estos resultados demuestran que la técnica de elección para el diagnóstico de PGI de caninos y felinos, en ambos laboratorios, es la flotación. Probablemente esto se debe a que las técnicas de flotación (con solución hipersaturada de azúcar o con sulfato de zinc) están indicadas para detectar estadios parasitarios de bajo peso específico como los huevos de nemátodos y céstodos, así como los quistes/ooquistes de protozoarios (Kirkpatrick, 1988; Zajac et al., 2002; Táparo et al., 2006; Hernández, 2007a; Oliveira, 2007).

**Cuadro 7.** Resultados de las técnicas coproparasitológicas, utilizadas en el laboratorio A, para el diagnóstico de PGI en caninos y felinos, de Julio del 2005 a Julio del 2007.

Especie/PGI	Flotación		Microscopía Directa	
	N	%	N	%
<b>Caninos:</b>				
<i>Trichuris vulpis</i>	33	18.9	5	12.5
Ancylostomatideos	126	72.0	23	57.5
<i>Toxocara canis</i>	22	12.6	7	17.5
<i>Dipylidium caninum</i>	5	2.9	1	2.5
Coccidios	37	21.1	13	32.5
<i>Giardia</i> sp.	15	8.6	9	22.5
<i>Strongyloides stercoralis</i>	2	1.1	1	2.5
<i>Cystoisospora</i> spp.	1	0.6	1	2.5
<i>Spirocerca lupi</i>	2	1.1	1	2.5
<i>Spirometra mansoni</i>	2	1.1	0	0
<i>Sarcocystis</i> spp.	1	0.6	0	0
<b>Total muestras evaluadas</b>	<b>407</b>		<b>120</b>	
<b>Total muestras parasitadas</b>	<b>175</b>		<b>40</b>	
<b>Total muestras de caninos</b>	<b>420</b>		<b>420</b>	
<b>Felinos:</b>				
Ancylostomatideos	1	33.3	0	0
<i>Toxocara cati</i>	1	33.3	0	0
Coccidios	1	33.3	0	0
<i>Giardia</i> sp.	0	0	0	0
<b>Total muestras evaluadas</b>	<b>12</b>		<b>4</b>	
<b>Total muestras parasitadas</b>	<b>3</b>		<b>0</b>	
<b>Total muestras de felinos</b>	<b>14</b>		<b>14</b>	

N: Número de evaluados; %: Frecuencia

En el laboratorio A, de las 407 muestras de caninos que fueron procesadas con la técnica de flotación, en 175 (43.0%) se detectaron PGI de los cuales en 126 (72.0%) se detectaron Ancylostomatideos, en 37 (21.1%) Coccidios, en 33 (18.9%) *T. vulpis*, en 22 (12.6%) *T. canis*, en 15 (8.6%) *Giardia* sp., en 5 (2.9%) *D. caninum*; en 2 (1.1%) *Spirometra mansoni*, *S. stercoralis* y *Spirocerca lupi*, y en 1 (0.6%) *Sarcocystis* spp. y *Cystoisospora* spp. (Cuadro 7). De las 120 muestras procesadas por microscopía directa, en

40 (33.3%) se detectaron PGI de los cuales en 23 (57.5%) se detectaron Ancylostomatideos, en 13 (32.5%) Coccidios, en 9 (22.5%) *Giardia* sp., en 7 (17.5%) *T. canis*, en 5 (12.5%) *T. vulpis* y en 1 (2.5%) *S. stercoralis*, *D. caninum*, *Cystoisospora spp* y *Spirocerca lupi* (Cuadro 7).

En el laboratorio A, de las 12 muestras de felinos que fueron procesadas utilizando la técnica de flotación en 3 (25%) se detectaron PGI de los cuales en 1 (33.3%) se detectaron Ancylostomatideos, *T. cati* y Coccidios (Cuadro 7). Las muestras analizadas mediante microscopía directa fueron 4 y todas fueron negativas a parásitos (Cuadro 7).

**Cuadro 8.** Resultados de las técnicas coproparasitológicas, utilizadas en el laboratorio B, para el diagnóstico de PGI en caninos y felinos, de Julio del 2005 a Julio del 2007.

Especie/PGI	Flotación		Microscopía Directa	
	N	%	N	%
<b>Caninos:</b>				
<i>Trichuris vulpis</i>	10	3.4	2	2.4
Ancylostomatideos	111	37.6	31	36.5
<i>Toxocara canis</i>	13	4.4	3	3.5
<i>Dipylidium caninum</i>	5	1.7	2	2.4
Coccidios	73	24.7	24	28.2
<i>Giardia</i> sp.	137	46.4	40	47.1
<i>Strongyloides stercoralis</i>	0	0	0	0
<i>Cystoisospora</i> spp.	0	0	0	0
<i>Spirocerca lupi</i>	0	0	0	0
<i>Spirometra mansonii</i>	0	0	0	0
<i>Sarcocystis</i> spp.	0	0	0	0
<b>Total muestras evaluadas</b>	<b>804</b>		<b>224</b>	
<b>Total muestras parasitadas</b>	<b>295</b>		<b>85</b>	
<b>Total muestras de caninos</b>	<b>809</b>		<b>809</b>	
<b>Felinos:</b>				
Ancylostomatideos	0	0	0	0
<i>Toxocara cati</i>	1	6.7	1	16.7
Coccidios	8	53.3	2	33.3
<i>Giardia</i> sp.	7	46.7	4	66.7
<b>Total muestras evaluadas</b>	<b>43</b>		<b>12</b>	
<b>Total muestras parasitadas</b>	<b>15</b>		<b>6</b>	
<b>Total muestras de felinos</b>	<b>43</b>		<b>43</b>	

N: Número de evaluados; %: Frecuencia

En el laboratorio B, de las 804 muestras caninas que fueron procesadas con la técnica de flotación, en 295 (36.7%) fueron detectados PGI de los cuales en 137(46.4%) se detectó *Giardia* sp., en 111 (37.6%) Ancylostomatideos, en 73 (24.7%) Coccidios, en 13 (4.4%) *T. canis*, en 10 (3.4%) *T. vulpis* y en 5 (1.7%) *Dipylidium caninum*. Para *S. stercoralis*, *Cystoisospora* spp., *Spirocerca lupi*, *Spirometra mansonii* y *Sarcocystis* spp no se encontró ninguna muestra positiva (Cuadro 8). De las 224 muestras procesadas por microscopía

directa en 85 (37.9%) fueron detectados PGI de los cuales en 40 (47.1%) fue positivo a *Giardia* sp., en 31 (36.5%) Ancylostomatideos, en 24 (28.2%) Coccidios, en 3 (3.5%) *T. canis* y en 2 (2.4%) *T. vulpis* y *D. caninum*. Para *S. stercoralis*, *Cystoisospora* spp., *Spirocerca lupi*, *Spirometra mansoni* y *Sarcocystis* spp no se encontró ninguna muestra positiva (Cuadro 8).

De las 43 muestras de felinos procesadas mediante la técnica de flotación en 15 (34.9%) se detectaron PGI de los cuales en 8 (53.3%) fueron positivas a Coccidios, en 7 (46.7%) *Giardia* sp. y en 1 (6.7%) *T. cati*. Para los Ancylostomatideos no se encontró ninguna prueba positiva (Cuadro 8). De las 12 muestras que fueron evaluadas por medio de microscopía directa en 6 (50.0%) se detectaron PGI de los cuales en 4 (66.7%) fueron positivas a *Giardia* sp., en 2 (33.3%) a Coccidios y 1 (16.7%) a *T. cati*. Para los Ancylostomatideos no se encontró ninguna prueba positiva (Cuadro 8).

Según los datos anteriores se evidencia que las técnicas utilizadas para el diagnóstico de los PGI en ambos laboratorios fueron el de flotación y la microscopía directa, quizás porque son confiables, rápidas y de bajo costo (Hernández, 2007a y 2007b; Oliveira, 2007). No obstante, es importante aclarar que hay diferencias en cuanto a la solución de flotación utilizada en ambos laboratorios: en el laboratorio A se utiliza una solución hipersaturada de azúcar (densidad 1.3), mientras que en el laboratorio B se utiliza una solución de NaCl (cloruro de sodio). Para el diagnóstico de los PGI en caninos y felinos, las principales técnicas coproparasitológicas utilizadas son las de flotación (con solución hipersaturada de azúcar, cloruro de sodio o sulfato de zinc), centrifugación, sedimentación y el examen directo; las cuales son de bajo costo, de fácil ejecución y altamente sensibles en lo que respecta a la detección de quistes u ooquistes de protozoarios, así como de huevos y larvas de helmintos (Kirkpatrick, 1988; Zajac et al., 2002; Táparo et al., 2006; Hernández, 2007a).

La recomendación para utilizar una u otra técnica depende del peso específico de los estadios parasitarios, y aunque la técnica de sedimentación es recomendada para los estadios de alto peso específico, como los huevos de tremátodos y algunos nemátodos como *S. lupi* (Sloss et al., 1994; Zajac et al., 2002; Hernández, 2007a; Oliveira, 2007), en este estudio, *S. lupi* fue diagnosticado en el laboratorio A por medio de la técnica de flotación.

Los métodos recomendados para la recuperación de quistes y/o trofozoítos de *Giardia* sp. son la flotación con sulfato de zinc (Kirkpatrick, 1988) y la microscopía directa (De Santis Kerr et al., 2006; Hernández, 2007a y 2007b; Oliveira, 2007), aunque este último sea menos sensible que la flotación debido a la poca cantidad de heces que es utilizada; además, la cantidad y variedad de detritos fecales puede confundir a los examinadores menos experimentados, dificultando el diagnóstico (Hernández, 2007a y 2007b; Oliveira, 2007). Aunque la flotación con sulfato de zinc ha demostrado ser excelente para la recuperación de quistes de *Giardia* sp., esta podría distorsionarlos, dificultando su diagnóstico (Truant et al., 1981; Kirkpatrick, 1988; De Santis et al., 2006). Los quistes y trofozoítos de *Giardia* sp. son difíciles de detectar e identificar; de aquí deriva la importancia de la experiencia del personal encargado, factor a tomar en cuenta a la hora de interpretar los resultados obtenidos en los laboratorios de diagnóstico (Hernández, 2007b; Oliveira, 2007).

#### 4. CONCLUSIONES

1. Las especies de PGI identificados en caninos en ambos laboratorio fueron: Ancylostomatideos, *Giardia* sp., Coccidios, *Trichuris vulpis*, *Toxocara canis*, *Dypilidium caninum*, *Strongyloides stercoralis*, *Spirocerca lupi*, *Spirometra mansoni*, *Cystoisospora* spp. y *Sarcocystis* spp.
2. En el Laboratorio A, los PGI identificados en los caninos fueron Ancylostomatideos, Coccidios, *Trichuris vulpis*, *Toxocara canis*, *Giardia* sp., *D. caninum*, *Strongyloides stercoralis*, *Spirocerca lupi*, *Spirometra mansoni*, *Cystoisospora* spp. y *Sarcocystis* spp.; mientras en el laboratorio B lo fueron *Giardia* sp., Ancylostomatideos, Coccidios, *Toxocara canis*, *Trichuris vulpis* y *D. caninum*.
3. En ambos laboratorios, los PGI identificados en felinos fueron: Coccidios, *Giardia* sp., *Toxocara cati* y Ancylostomatideos. Por primera vez se reportan los PGI de felinos domésticos en Costa Rica.
4. En el Laboratorio A, los PGI identificados en felinos fueron Ancylostomatideos, *T. cati* y Coccidios; mientras en el laboratorio B lo fueron Coccidios, *Giardia* sp. y *T. cati*.
5. En el laboratorio A, los Ancylostomatideos fueron los PGI más frecuentes en caninos cachorros, adultos y de edad no reportada; mientras que los Coccidios, Ancylostomatideos y *T. cati* lo fueron en felinos adultos y de edad no reportada.
6. A su vez, en el laboratorio B, *Giardia* sp., Ancylostomatideos y Coccidios fueron los PGI más frecuentes en caninos cachorros, adultos y de edad no reportada; mientras que los Coccidios y *Giardia* sp. lo fueron en felinos cachorros, adultos y de edad no reportada.

7. En ambos laboratorios, las técnicas coproparasitológicas de elección son la flotación y la microscopía directa. Sin embargo, como solución de flotación, el laboratorio A utiliza una solución hipersaturada de azúcar; mientras que en el laboratorio B se utiliza una solución de cloruro de sodio.
8. Tanto en el laboratorio A como en el laboratorio B, se logró detectar helmintos y protozoarios en caninos y felinos utilizando ambas técnicas.
9. En el laboratorio A se identificó una variedad mayor de PGI en caninos que en el Laboratorio B.
10. Los resultados obtenidos demuestran discrepancias en ambos laboratorios, lo que podría deberse a diferencias en las técnicas coproparasitológicas utilizadas, el tipo de muestreo (muestras únicas o seriadas) o a que se trataba de muestras diferentes.

## 5. RECOMENDACIONES

- Promover la realización de más estudios de PGI en felinos domésticos en Costa Rica, muestreando una población más representativa de estos animales.
- Analizar en un estudio futuro las mismas muestras en ambos laboratorios, utilizando las mismas técnicas coproparasitológicas y la misma solución de flotación, con el fin de obtener resultados comparables.
- Impartir cursos de educación continua a técnicos de laboratorio y médicos veterinarios para formarlos/actualizarlos respecto al diagnóstico de PGI.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarado, G., Brown, M., Córdoba, A.L., Corella, K., Hagnauer, I., Quesada, A., Oliveira, J. 2007. Diagnóstico y control de los parásitos gastrointestinales de mascotas (perros y gatos) en Costa Rica. *Bol. Parasitol.* 8:4-5.
- Antolová, D., Reiterova K., Miterpakova, M., Stanko, M., Duvinsky, P. 2004. Circulation of *Toxocara* spp, in suburban and rural ecosystems in the Stovak Republic *Vet. Parasitol.* 126: 317-324.
- Arguedas, D.Z. 2006. Prevalencia de *Toxocara canis* en perros atendidos en una clínica veterinaria en San José, Costa Rica, durante el período de 2002 al 2004. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional, Heredia, C.R.
- Barriga O.O. 1991. Rational control of canine toxocariasis by the veterinary practitioner. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 198:216-221.
- Bugg, R.J, Robertson, I.D., Elliot, A.D., Thompson, R.C.A. 1999. Gastrointestinal parasites of Urban Dogs in Perth, Western Australia. *The Veterinary Journal*, 157:295-301.
- Calvete, C., Lucientes, J., Castillo, J., Estrada, R., Gracia, M., Peribáñez, M., Ferrer, M. 1998. Gastrointestinal helminth parasites in stray cats from the mid-Ebro Valley, Spain. *Veterinary Parasitol*, 75: 235-240.
- Camacho Sandoval, Jorge. 2008. Entrevista con Jorge Camacho Sandoval. Ph.D. *Bioestadística y Mejora Genética Animal*. Alajuela, C.R. 20 Noviembre.
- De Santis-Kerr, A., Raghavan, M., Gkickman, N., Caldanaro, R., Moore, G., Lewis, H., Schantz, P., Glickman, L. 2006. Prevalence and risk factors for *Giardia* and *coccidia* species of pets cats in 2003-2004. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 8: 292-301.
- Dubná, S., Langrová, I., Nápravník, J., Jankovská, J., Vadlejch, J., Pekár, S., Fechtner, J. 2007. The prevalence of intestinal parasites in dogs from Prague, rural areas, and shelters of Czech Republic. *Veterinary Parasitology*, 145:120-128.
- Fisher, M. 2001. Endoparasites in the dog and cat. 1. Helminths. *In Pract.* 23:462-471.
- Fontanarrosa, M., Vezzani, D., Basabe, J., Eiras, D. 2006. An epidemiological study of gastrointestinal parasites of dogs from Southern Greater Buenos Aires (Argentina): age, gender breed, mixed infections, and seasonal and spatial patterns. *Vet. Parasitol.* 136:283-295.
- Harvey, J.B., Roberts, J.M., Schantz, P.M. 1991. Survey of veterinarian`s recommendations for treatment and control of intestinal parasites in dogs: public health implications. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 199:702-707.

- Hernández, J. 2007a. Manual de técnicas parasitológicas. Universidad Nacional, Costa Rica.
- Hernández, J. 2007b. Entrevista con el técnico de laboratorio Jorge Hernández. Laboratorio de Parasitología de la Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional. Heredia, C.R. 8 Feb.
- Kirkpatrick, C.E. 1988. Epizootiology of endoparasitic infections in pet dogs and cats presented to a veterinary teaching hospital. *Vet. Parasitol.* 30:113-124.
- Kornblatt, A.N. & Schantz, P.M. 1980. Veterinary and public health considerations in canine roundworm control: a survey of practicing veterinarians. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 177:1212-1215.
- Labarthe, N., Serrão, M.L., Ferreira, A.M., Almeida, N., Guerrero, J. 2004. A survey of gastrointestinal helminths in cats of the metropolitan region of Rio de Janeiro, Brasil. *Veterinary Parasitology*, 123: 133-139.
- McGlade, T.R., Robertson, I.D., Elliot, A.D., Read, C., Thompson, R.C.A. 2003. Gastrointestinal parasites of domestic cats in Perth, Western Australia. *Vet. Parasitol.* 117: 251-262.
- Nolan, T., Smith, G. 1995. Time series analysis of the prevalence of endoparasitic infections in cats and dogs presented to a veterinary teaching hospital. *Veterinary Parasitology*, 59: 87-96.
- Oliveira, J.B. 2007. Entrevista con la Dra Jaqueline Bianque de Oliveira, profesora de la Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias de la Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional. Heredia, C.R. 8 Feb.
- Oliveira-Sequeira, T.C.G., Amarante, A.F.T., Ferrari, T.B., Nunes, L.C. 2002. Prevalence of intestinal parasites in dogs from São Paulo State, Brazil. *Vet. Parasitol.* 103:19-27.
- Ramírez-Barrios, R.A., Barboza, G., Muñoz, J., Angulo, F., Hernández, E., González, F., Escalona, F. 2004. Prevalence of intestinal parasites in dogs under veterinary care in Maracaibo, Venezuela. *Vet. Parasitol.* 121:11-20.
- Romero Zúñiga, J.J. 2008. Entrevista con el Dr Juan José Romero Zúñiga, profesor de la Cátedra de Epidemiología de la Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional. Heredia, C.R. 8 May.
- Rubel, D., Zunino, G., Santillán, G., Wisnivesky, C. 2003. Epidemiology of *Toxocara canis* in the dog population from two areas of different socioeconomic status, Greater Buenos Aires, Argentina. *Veterinary Parasitology*, 115: 275-286.
- Schantz, P.M. 1994. Of worms, dogs and human hosts: Continuing challenges for veterinarians in prevention of human disease. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 204:1023-1028.

- Schantz, P.M. 2002. Zoonotic ascarids and hookworms: the role for veterinarians in preventing human disease. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.* 24:47-52.
- Sloss, M.W., R. L. Kemp & A. M. Zajac. 1994. *Veterinary clinical parasitology*. 6a Ed. Iowa State University Press, United States.
- Soulsby, E.J.L. 1986. *Parasitología y enfermedades parasitarias*. 7ª Ed. Nueva Editorial Interamericana Distrito Federal, México.
- Stehr-Green, J.K, Murray G., Schantz, P.M., Wahlquist, S.P. 1987. Intestinal parasites in pets store puppies in Atlanta. *Am. J. Public Health* 77:345-346.
- Stull, J.W., Carr, A.P., Chomel, B.B., Berghaus, R.D., Hird, D.W. 2007. Small animal deworming protocols, client education, and veterinarian perception of zoonotic parasites in western Canada. *Can. Vet. J.* 48:269-276.
- Táparo, C.V., Perri, S.H.V., Serrano, A.C.M., Ishizaki, M.N., Costa, T.P., Amarante, A.F.T., Bresciani, K.D.S. 2006. Comparação entre técnicas coproparasitológicas no diagnóstico de ovos de helmintos e oocistos de protozoários em cães. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 15:1-5.
- Thrusfield, M., C. Ortega, I. de Blas, J.P. Noordhuizen, & K. Frankena. 2001. WIN EPISCOPE 2.0: improved epidemiological software for veterinary medicine. *Vet. Rec.* 148, 567-72.
- Tzannes, S., Batchelor, D., Graham, P., Pinchbeck, G., Wastling, J., German, A. 2008. Prevalence of *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Isospora* species infections in pet cats with clinical signs of gastrointestinal Disease. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10: 1-8.
- Visco, R.J., Corwin, R.M., Selby, L.A. 1977. Effect of age and sex on the prevalence of intestinal parasitism in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 170:837-935.
- Yacob, H.T., Ayele, T., Fikru, R., Basu, A.K. 2007. Gastrointestinal nematodes in dogs from Debre Zeit, Ethiopia. *Vetrinary Parasitology*, 148: 144-148.
- Zajac, A.M., Jonson, J. & King, S.E. 2002. Evaluation of importance of centrifugation as a component of zinc sulfate fecal flotation examinations. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 38:221-224.
- Zamora, L. 2008. Entrevista con el Dr. Luis Zamora, Médico Veterinario del Servicio Nacional de Salud Animal del Ministerio de Agricultura y Ganadería (SENASA-MAG). Heredia, Costa Rica. 16 de agosto del 2008.
- Zar, J. 1999. *Biostatistical analysis*. 4th. Ed. Prentice Hall, New Jersey. Pag 527