



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“ESTUDIO DE IDENTIFICACIÓN DE *Giardia spp.*,
EN PERROS (*Canis familiaris*) DE LA ZONA
CENTRO DE VALLE DE BRAVO”

TESIS

PRESENTA:

ALONDRA VIRIDIANA CARBAJAL FABELA

ASESORES:

M.V.Z ESP. CERT. DESIDERIO RODRÍGUEZ VELÁZQUEZ

M. en C. TRINIDAD BELTRÁN LEÓN



ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN.	. vi
I. INTRODUCCIÓN.	. 1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.	. 2
1. Agente infeccioso.	. 3
2. Taxonomía.	. 4
3. Especies.	. 4
4. Ciclo biológico.	. 4
5. Etapas del ciclo biológico.	. 6
6. Signos clínicos.	. 6
7. Diagnóstico.	. 6
8. Tratamiento.	. 8
9. Prevención.	. 9
10. Vacuna.	.10
III. JUSTIFICACIÓN.	.11
IV. HIPÓTESIS.	.13
V. OBJETIVO GENERAL.	.14
VI. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.	.14
VII. MATERIAL.	.15
1. Material biológico.	.15

2.	Materiales de campo.	.15
3.	Materiales de oficina.	.15
4.	Materiales de laboratorio.	.15
VIII.	MÉTODO.	.17
1.	Recolección de las muestras de heces.	.18
2.	Toma y registro de datos.	.19
3.	Método de concentración por flotación con sulfato de zinc al 33%.	.20
4.	Método directo.	.21
5.	Análisis e interpretación.	.23
5.1	Identificación de <i>Giardia spp.</i> , en perros de la zona centro de Valle de Bravo.	.24
5.2	Identificación de <i>Giardia spp.</i> , por edad y sexo en perros de la zona centro de Valle de Bravo.	.24
5.3	Identificación de <i>Giardia spp.</i> , con dos métodos de diagnóstico de laboratorio en perros de la zona centro de Valle de Bravo.	.24
XI.	LÍMITE DE ESPACIO.	.26
X.	LÍMITE DE TIEMPO.	.28
XI.	RESULTADOS / DISCUSIÓN.	.29
1.	Identificación de <i>Giardia spp.</i> , de la muestra total.	.29
2.	Recolección de heces frescas para identificar la presencia de <i>Giardia spp.</i> , en perros (<i>Canis familiaris</i>) de la zona centro de Valle de Bravo.	.30
3.	Recolección de heces con cucharilla de plástico contenidas en recipiente de plástico con tapa hermética para identificar la presencia de <i>Giardia spp.</i> , en perros (<i>Canis familiaris</i>) de la zona centro de Valle de Bravo.	.32

4. Identificación de <i>Giardia spp.</i> , de acuerdo a la edad en perros de la zona centro de Valle de Bravo.34
5. Identificación de <i>Giardia spp.</i> , de acuerdo al sexo en perros de la zona centro de Valle de Bravo.35
XII. CONCLUSIONES.37
XIII. SUGERENCIAS.38
XIV. LITERATURA CITADA39
XV. ANEXOS.42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estadíos <i>Giardia spp.</i> 3
Figura 2: Ciclo Biológico de <i>Giardia spp.</i> , y principales reservorios. 5
Figura 3. Muestra de heces recolectada del recto del perro en recipiente de plástico con tapa hermética.18
Figura 4. Muestra de heces recolectada del recto del perro en recipiente de plástico con tapa hermética.19
Figura 5. Muestra de heces recolectada con hisopo rectal.19
Figura 6. Registro de las muestras de heces en la libreta de campo.20
Figura 7. Muestra de heces centrifugada.21
Figura 8. Muestra de heces mezclada con 1.25 ml o ¼ del tubo con solución fisiológica.21
Figura 9. Muestra en centrifugación.22
Figura 10. Preparación de portaobjetos..22
Figura 11. Sobrenadante recolectado en los portaobjetos con apoyo del asa de micromel.23
Figura 12. Muestras observadas en el microscopio.23
Figura 13. Mapa de la Cabecera Municipal de Valle de Bravo.27
Figura 14. Tabla de apoyo para cálculo del tamaño de una muestra por niveles de confianza. (2008).43

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Muestra de heces (Hisopado rectal) de perros de la zona centro de Valle de Bravo.31
Cuadro 2. Heces frescas (Toma de muestra con cucharilla de plástico) de perros de la zona centro de Valle de Bravo.33

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Identificación de <i>Giardia spp.</i> , en perros de la zona centro de Valle de Bravo..29
Gráfica 2. Identificación de <i>Giardia spp.</i> , de acuerdo a la edad en perros de la zona centro de Valle de Bravo.34
Gráfica 3. Identificación de <i>Giardia spp.</i> , de acuerdo al sexo (casos positivos) en perros de la zona centro de Valle de Bravo.36

RESUMEN

El presente estudio se realizó en perros de la zona centro de la cabecera municipal de Valle de Bravo para identificar la presencia del parásito *Giardia spp.*, que es un protozooario que ingiere el perro a través de quistes, los cuales son liberados en el intestino delgado causando infección al fijarse en las vellosidades intestinales. Este estudio fue realizado en las Campañas de Esterilización canina por la Fundación LIVA (Liga Vallesana para los Derechos de los Animales A.C.); durante el mes de Septiembre del 2015; donde se recolectaron 66 muestras de heces de perros utilizando dos métodos para la identificación de este parásito; método de concentración por flotación con sulfato de zinc al 33% y por el método directo.

Una vez analizados los resultados se identificaron 67% positivos y 33% negativos. Se observó una mayor presencia de *Giardia spp.*, en perros menores de un año de edad en la cabecera municipal de Valle de Bravo zona centro.

Es importante resaltar que de los métodos utilizados para el diagnóstico de *Giardia spp.*, el método de concentración por flotación con sulfato de zinc al 33% fue el más eficaz para detección de protozoarios ya que de 35 muestras; 27 resultaron positivas (77%) y solamente ocho muestras (23%) fueron negativas. Lo que indica que hay gran número de perros con presencia de *Giardia spp.*, fomentando la transmisión de este parásito hacia otros perros y que tiene importancia a nivel salud pública.

I. INTRODUCCIÓN

Los problemas gastrointestinales causados por parásitos son de las consultas más habituales en las clínicas veterinarias. Muchas de estas enfermedades son zoonóticas, como la giardiosis; que constituye una parasitosis de gran importancia epidemiológica y clínica por su alta patogenicidad en animales y humanos (Cordero del Campillo et al., 1999).

La Giardiosis es una enfermedad parasitaria del hombre y de algunos animales, provocada por el protozoo flagelado *Giardia spp.*, localizado en el tracto intestinal; causante de enfermedad diarreica. Los animales de compañía son capaces de transmitir una serie de enfermedades zoonóticas a sus propietarios, incluyendo la Giardiosis, pero la magnitud de este riesgo no es bien conocida; porque actualmente se clasifica en genotipos de la A a la G. Siendo la A y B infectantes para el hombre (Fonte y Ali, 2010).

En otros países, se han identificado el 10% en perros adultos bien cuidados, ascendiendo a 36–50% en cachorros y hasta el 100% en animales de criaderos (Barr y Bowman, 1994). En los exámenes de heces es recomendable tener en cuenta la detección de *Giardia spp.*, para evitar riesgos en la salud de los perros y en la salud humana al momento de estar en contacto con animales infectados con este parásito.

Debido a que los animales, en este caso los perros, representan una fuente de contagio para los humanos; el propósito de este estudio se realizó con la finalidad de identificar la presencia de *Giardia spp.*, en perros de la zona centro de Valle de Bravo; utilizando dos métodos de diagnóstico de laboratorio para la detección de este parásito intestinal que llega a poner en riesgo la vida del conocido fiel compañero.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

La Giardiosis es una parasitosis frecuente en los perros, con una especial relevancia en colectivos como perreras, criaderos, residencias, etc. Estudios epidemiológicos han reflejado prevalencias que alcanzan hasta el 100% en perros que viven en colectividades (Barr y Bowman, 1994). Se trata de una de las parasitosis que tiene una mayor incidencia en los animales más jóvenes, especialmente en cachorros de entre 6 y 12 semanas de edad (Díaz *et al.*, 1996).

La enfermedad está causada por protozoos del género *Giardia spp.*, un flagelado que parasita el intestino delgado y, en menor grado, el intestino grueso (Guilford, 1996) de distintos vertebrados (peces, anfibios, reptiles, aves y mamíferos, entre los que se incluye el hombre).

En su ciclo biológico la enfermedad se presenta en dos fases: la vegetativa o trofozoito y la de resistencia o quiste que constituye la fase infectiva. La transmisión se produce vía oro-fecal, por contacto directo, por alimentos o agua contaminados. Por acción del ácido gástrico y enzimas pancreáticas, de cada quiste se liberan dos trofozoitos que se localizan en el epitelio intestinal tapizando las microvellosidades, especialmente el duodeno y yeyuno (Guilford, 1996).

Después, se rodean de una pared quística y se eliminan con las heces, por lo general entre 1-2 semanas post-infección, de forma intermitente. En ocasiones, en casos de parasitaciones intensas, se pueden encontrar trofozoitos en las heces, pero no sobreviven a las condiciones ambientales. Los quistes pueden sobrevivir durante meses en el medio ambiente bajo condiciones de frío y humedad (Barr y Bowman, 1994).

La diarrea constituye la manifestación clínica más relevante y puede tener un curso agudo, crónico e intermitente. Las heces aparecen esteatorreicas,

malolientes y de color pálido. Los animales afectados pueden presentar pérdida de peso y retraso en el crecimiento (Barr y Bowman, 1994). En ocasiones, se puede observar diarrea de intestino grueso con presencia de mucosidad y sangre fresca. En, la mayoría de las infecciones en perros adultos cursan de forma asintomática.

La eliminación de quistes de *Giardia spp.*, se produce de manera continua; por lo que para el diagnóstico se toman varias muestras de heces en un período de 3-5 días. La concentración por flotación con sulfato de zinc al 33% está considerada como el método diagnóstico coprológico de elección, especialmente si se lleva a cabo en 3-5 días alternos (Decock *et al.*, 2003). Según Irwins, 2002; la sensibilidad de la flotación en sulfato de zinc es del 70% cuando se realiza una sola vez y del 95% si el análisis se repite en un plazo de 3-5 días.

1. Agente infeccioso

Es un protozoario de aspecto piriforme, provisto de ocho flagelos y un par de ventosas que provocan graves lesiones en la mucosa intestinal de sus hospederos (Araujo *et al.*, 2004) (González, 2008). Caracterizada por dos fases o estadios: (Figura 1)

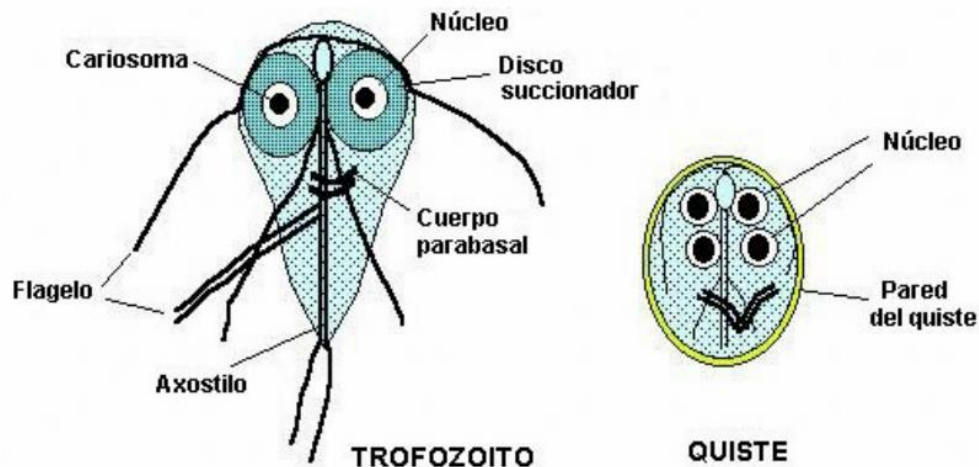


Figura 1: Estadios *Giardia spp.* (ASM Digital Image Collection del Castillo).

2. Taxonomía

Phylum: Protozoa

Clase: Esporozoasida

Orden: Protomonadina

Género: *Giardia*

Especie: *Giardia intestinalis* o *Giardia duodenalis*

(González, 2008).

3. Especies

Giardia intestinalis (*G. duodenalis*, *G. lamblia*) infecta a un rango muy amplio de vertebrados, incluyendo al perro y al gato; actualmente clasificados en genotipos de la A a la G según la especificidad por el hospedero. El genotipo A se ha descrito en perros, gatos, primates, humanos, ganado y roedores; mientras que el genotipo B sólo en raras ocasiones. Los genotipos C y D se han aislado del perro mientras que el genotipo E de algunos animales de granja (vacas, carneros, cerdos); el F se ha aislado de muestras de gato y otros animales y el G de ratas. Finalmente, los genotipos A y B son los que infectan principalmente al hombre (Guía Esccap No. 6, 2013) (Fonte y Ali, 2010).

4. Ciclo biológico

La Giardia spp., tiene un ciclo biológico directo, con la producción asexual de trofozoitos (formas activas y móviles) que se adhieren a las células epiteliales en el intestino delgado en las que evolucionan a quistes (formas de resistencia) que llegan en gran número a las heces junto con las que serán liberados de forma intermitente.

La ingestión de estos quistes reinicia el ciclo de este protozoo. El periodo de prepatencia es de 4-16 días y el periodo de patencia suele ser de varias semanas o incluso meses. La excreción de los quistes se ha observado tanto en animales

5. Etapas del ciclo biológico

- 1.- Perro ingiere quiste.
 - 2.- Se libera en el intestino y se transforma en trofozoito.
 - 3.- Se multiplica.
 - 4.- En intestino grueso se transforman en quistes.
 - 5.- El perro lo elimina de dos maneras:
 - En trofozoito que se desintegra.
 - Quiste que contaminará agua y alimentos (Figura 2)
- (González, 2008).

6. Signos clínicos

Comúnmente asintomática. Diarrea aguda, crónica e intermitente.

En la mayoría de los casos, la infección es subclínica, pero en el caso de animales inmunocomprometidos y en cachorros y gatitos coinfectados con otros patógenos digestivos (virus o bacterias), la *Giardia spp.*, puede causar diarreas con moco intermitentes o bien diarreas persistentes con esteatorrea, anorexia, vómitos, pérdida de apetito y apatía (Zarate., 2003).

7. Diagnóstico

Los quistes ovoides excretados con las heces miden 8-17 x 7-10 μm (micrómetro), y pueden observarse directamente en las heces en fresco o tras un proceso de concentración por flotación. Es importante tener en cuenta que éstos se deforman si se lleva a cabo una flotación con solución salina.

En las heces recién eliminadas por los animales con signos clínicos, los quistes pueden detectarse con una forma piriforme y un tamaño de 9-21 x 5-12 μm (micrómetro). Debido a la excreción intermitente se recomienda recolectar las heces durante 3-5 días para incrementar la posibilidad de detección de los

mismos. La detección de antígeno de *Giardia spp.*, en muestras fecales es posible mediante la utilización de pruebas de inmunodiagnóstico rápido que se comercializan en la actualidad, si bien los resultados obtenidos no son comparables debido a la gran variabilidad antigénica entre individuos. La técnica de inmunofluorescencia directa es muy sensible y se utiliza en muchos laboratorios de referencia.

Algunos de estos son:

- Frotis fecal directo.

Método diagnóstico rápido, económico, fácil que requiere poca cantidad de muestra de heces; pero con una sensibilidad y especificidad limitada. (Sixtos, 2005).

- Sulfato de zinc.

Ideal para el diagnóstico de quistes y protozoos con buena sensibilidad y especificidad permitiendo gran cantidad de heces para su diagnóstico (Sixtos, 2005) (Benbrook y Sloss, 1965).

- Método cuantitativo en cámara de Mac Master.

Determina el número de huevos por gramo de heces. También utilizada para la observación de larvas de nematodos y ooquistes de coccideas (Sixtos, 2005).

- Test de ELISA para diagnóstico de coproantígenos.

Técnica de laboratorio que identifica pequeñas partículas (antígenos), y gérmenes que causan enfermedades (Sixtos, 2005) (WebConsultas Healthcare, 2016).

- Test SNAP *Giardia*

Inmunoensayo enzimático rápido, lo que permite a la clínica obtener un diagnóstico sencillo y exacto en sólo ocho minutos. Teniendo una sensibilidad de 92% y una especificidad de 99% (IDEXX laboratorios, Inc., 2003).

Una ventaja que presenta es que se necesita una única muestra.

8. Tratamiento

El Metronidazol es un fármaco antiguo para el tratamiento de la Giardiosis canina. Actúa como antibacteriano y protozoocida. Se utiliza una dosis de 22-25 mg/kg, dos veces al día durante cinco días) (Plumb y Pharm, 2006) (Sumano y Ocampo, 2006).

En épocas recientes, algunos derivados benzimidazólicos (albendazol, mebendazol, fenbendazol) demostraron elevada eficacia contra la *Giardia spp.* El albendazol para la Giardiosis; se recomienda administrar cada 12 horas: 25 mg/kg durante dos días. El fenbendazol, es usado actualmente para este tratamiento; 50-55 mg/kg, una vez al día durante cinco días por vía oral. El tratamiento se puede repetir mientras los signos clínicos o la excreción de quistes persistan. El fenbendazol está registrado para el tratamiento de la Giardiosis en perros en la mayoría de los países (Plumb y Pharm, 2006) (Sumano y Ocampo, 2006).

Otros fármacos sensibles a la Giardiosis son la combinación de Febantel/Pirantel/Praziquantel a una dosis de 15 mg/kg, 14.4 mg/kg y 5 mg/kg respectivamente, una vez al día durante tres días. Este tratamiento está registrado en varios países fuera de la comunidad europea (Plumb y Pharm, 2006) (Sumano y Ocampo, 2006).

Muchas veces los tratamientos no son eficaces debido a que son frecuentes las reinfecciones, coinfecciones u otras enfermedades latentes o bien por no completarse el tratamiento antiparasitario. Las resistencias a los antiparasitarios se han descrito en casos aislados de humanos. El éxito del tratamiento está ligado a la fuerte presión de reinfección a partir del ambiente contaminado. Por tanto, es imprescindible aplicar medidas suplementarias: la utilización de baños en el perro (productos con clorhexidina digluconato) al inicio y al final del tratamiento antiparasitario para contribuir a la reducción de las reinfecciones (*Binda et al., 2003*).

9. Prevención

Para prevenir la infección de esta enfermedad en los perros es conveniente:

- Bañar a los animales para eliminar los restos fecales de quistes.
 - Utilizar utensilios limpios para el alimento y el agua.
 - Limpiar y desinfectar el ambiente; así como el espacio de descanso del perro.
 - Retirar y destruir las heces.
 - Aunque no hay desinfectantes registrados para eliminar los quistes de las superficies, algunos estudios indican que éstos pueden eliminarse con compuestos de amonio cuaternario.
-
- Una buena higiene del animal es imprescindible para evitar la diseminación de los quistes.
 - Es conveniente realizar una prueba *in situ* de la presencia de quistes en caso de que algún cachorro llegue a un hogar si en él ya existen otros animales.
 - En los animales con diarrea y los animales clínicamente sanos se recomienda colocarlos en cuarentena y estar bien diagnosticados, en especial aquellos que provienen de criaderos o albergues.

Según Papini *et al.*, 2009; enfatiza que hay un alto riesgo de transmisión de perro a perro de *Giardia* spp., y ocurre en las zonas comunes donde las altas cantidades de heces de perros infectados se dejan acumular en el suelo.

10.- Vacuna

La vacunación ayuda a interrumpir la diseminación de quistes al medio ambiente y por ende la posibilidad de contagio; logrando reducir la transmisión zoonótica de esta parasitosis de importancia en salud pública (Delgado, 2007).

Hay un laboratorio que maneja esta vacuna contra el parásito *Giardia lamblia* la cual es una vacuna líquida inactivada que previene la enfermedad y diseminación causada por la infestación provocada por *Giardia lamblia* en caninos sanos.

La dosis recomendada es de 1 ml por vía subcutánea; donde el programa de vacunación sugerido debe comenzar a las 8 semanas de edad, repitiendo la dosis a las 2 o 4 semanas. En animales mayores a ocho semanas, se debe aplicar dos dosis con intervalo de 2 o 4 semanas. Recomendándose la revacunación anual con una dosis. Debe evitarse la vacunación de cachorros parasitados, debilitados o de hembras preñadas.

La producción de anticuerpos ha sido demostrada en animales vacunados, donde éstos tienen un efecto citolítico sobre los quistes o inactivación de los trofozoitos durante el proceso de desenquistamiento. La variabilidad en la prevalencia de esta parasitosis, probablemente se explique por la transmisión zoonótica de tal manera que la vacunación en animales podría prevenir la transmisión intraespecies. Otra ventaja importante de la vacunación es desde el punto de vista epidemiológico, ya que podría utilizarse en regiones endémicas donde hay malas condiciones sanitarias, así como evitar el efecto patogénico de ésta, no sólo a nivel de la mucosa intestinal, sino también del efecto producido por sus toxinas. Si bien es cierto, la vacuna ha sido acreditada en Estados Unidos de América, por lo que fue necesario agregarla a la línea de vacunas existentes para perros, para ayudar a los veterinarios en la prevención de esta enfermedad; disminuyendo la incidencia y gravedad clínica por las afecciones gastroentéricas del proceso patológico de la *Giardia spp* (Jiménes-Cardoso *et al.*, 2002) (Olson *et al.*, 1998).

III. JUSTIFICACIÓN

Debido al estrecho contacto de los perros con sus dueños, surge la posibilidad de presentarse una infección cruzada por lo que es importante determinar la presencia de *Giardia spp.*, en las mascotas ya que constituye el aumento en las posibilidades de contagio hacia sus propietarios; el cual es un agente causal de diversos cuadros gastrointestinales y diarreicos.

El mayor riesgo de contraer la enfermedad por este protozooario ocurre en perros que no han llevado un seguimiento en su esquema de desparasitación por falta de compromiso de parte de los dueños en preservar su salud; y por el contacto con perros infectados donde hay mayor oportunidad de transmisión directa e indirectamente del parásito; porque al ser un agente agresivo a nivel gastrointestinal favorece recaídas de los pacientes al quedar como portadores asintomáticos.

Los perros que presentan *Giardia spp.*, promueven un riesgo zoonótico; por lo que se hace necesario el establecimiento de programas educativos para prevenir la posibilidad de contagio.

En general un buen estado sanitario, nutricional e inmunológico previene en cierta medida la aparición de la parasitosis. De igual manera situaciones de estrés y/o procesos patológicos favorecen el asentamiento del parásito y su posterior desarrollo (Belligotti, 2006).

En Valle de Bravo no existen antecedentes de reportes de contagio de *Giardia spp.*, debido a que suele pasar desapercibido y catalogarse como una enfermedad gastrointestinal. Por lo que este estudio se realizó para diagnosticar la presencia de este protozooario e informar a las clínicas veterinarias sobre la presencia de este parásito y poder presentar una alternativa al médico veterinario y a los propietarios de los perros para prevenir, identificar y controlar dicha enfermedad.

La importancia de este estudio desarrollará un mayor conocimiento de esta parasitosis, previniendo la propagación de la misma hacia otros perros proporcionando la información de los resultados a las autoridades sanitarias para disminuir el problema detectado por medio de campañas de salud animal; así como la difusión en escuelas sobre este parásito que permita la identificación del mismo; ya que el fin del médico veterinario es lograr mantener la salud de los seres humanos a través de una buena salud animal.

IV. HIPÓTESIS

La presencia de *Giardia spp.*, en perros de la zona centro de Valle de Bravo es mayor al 25%.

V. OBJETIVO GENERAL

Identificar el protozoario de *Giardia spp.*, en perros de la zona centro de Valle de Bravo.

VI. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar la presencia del parásito *Giardia spp.*, en perros de Valle de Bravo, zona centro a través del método de concentración por flotación con sulfato de zinc al 33% y por el método directo.
- Identificar la presencia de *Giardia spp.*, por edad y sexo en perros de la zona centro de Valle de Bravo.
- Dar a conocer los resultados de este estudio a propietarios y clínicas veterinarias sobre la presencia del parásito *Giardia spp.*; en perros de la zona centro de Valle de Bravo.

VII. MATERIAL

1. Material biológico

- 66 muestras de heces obtenidas de perros de la zona centro de Valle de Bravo.

2. Materiales de campo

- Recipientes de plástico con tapa hermética.
- Refrigerantes.
- Hielera.

3. Materiales de oficina

- Registros.
- Computadora conectada a internet.
- Etiquetas para identificación.
- Plumón.
- Bolígrafo.
- Libreta de registro.
- Cámara fotográfica.
- Calculadora.
- Impresora.

4. Materiales de laboratorio

- Hisopos.
- Tubos de ensayo.
- Centrifugadora.
- Portaobjetos.
- Cubreobjetos.
- Guantes estériles.
- Microscopio óptico.
- Solución de sulfato de zinc al 33%.

- Solución fisiológica.
- Cucharilla de plástico recolectora de heces.
- Asa de micromel.
- Cronómetro.
- Recipiente con agua y cloro.
- Encendedor para desinfección de cucharilla.

VIII. MÉTODO

Durante las Campañas de Esterilización canina regidas por la Fundación LIVA (Liga Vallesana para los Derechos de los Animales A.C.); realizadas en el mes de Septiembre del 2015; se recolectaron 66 muestras de heces antes de la cirugía de una población de perros de 3367 (INEGI., 2010) para obtener información con respecto a la presencia de *Giardia spp.*

Para calcular el tamaño de muestra se realizó a través de la siguiente fórmula (Fernández, 1996)

$$n = \frac{N * Z^2 * p * (1 - p)}{(N - 1) * e^2 + Z^2 * p * (1 - p)}$$

Dónde:

p= Prevalencia esperada (0.25).

q= (1-p).

e= Precisión (10%).

n = Número muestra requerida (perros para análisis de heces).

N = Población total de perros en la zona de estudio.

Z = Número de unidades de desviaciones estándar de la distribución de la muestra, correspondiente al nivel de confianza deseado (1.96 al 95%).

El nivel de confianza indica que tan probable es el parámetro de la población. Y representa a su vez el porcentaje de intervalos que incluirían el parámetro de población si se tomaran muestras de la misma población una y otra vez.

$$n = \frac{3367 * 1.96^2 * 0.25 * 0.75}{(3367 - 1) * 0.10^2 + 1.96^2 * 0.25 * (1 - 0.25)}$$

$$n = \frac{3367 * 3.8416 * 0.1875}{3366 * 0.01 + 3.8416 * 0.25 * 0.75}$$

$$n = \frac{2425}{34.4} = 70$$

Obteniendo que el tamaño de muestra es de 70 perros.

1. Recolección de las muestras de heces

Se recolectaron 66 muestras de heces en fresco del recto (20-30 gr.) con guantes estériles e hisopados rectales de los perros que defecaron durante las campañas de esterilización canina que se realizaron en Valle de Bravo, Estado de México por la Fundación LIVA (Liga Vallesana para los derechos de los animales A.C.).

Estas muestras de heces fueron colocadas en recipientes de plástico con tapa hermética, en una hielera con anticongelantes y la etiqueta correspondiente del nombre de la mascota, edad y sexo.



Figura 3. Muestra de heces recolectada del recto del perro antes de cirugía en recipiente de plástico con tapa hermética.



Figura 4. Muestra de heces recolectada del recto del perro antes de cirugía en recipiente de plástico con tapa hermética.



Figura 5. Muestra de heces recolectada con hisopo rectal.

2. Toma y registro de datos

- Se registraron las muestras de heces de acuerdo a sexo y edad de los perros, en la libreta de campo.
- Las muestras de heces fueron llevadas al laboratorio del "Hospital Veterinario Valle".
- Para la identificación del parásito *Giardia spp.*, las muestras se analizaron a través de dos técnicas de laboratorio (Método de concentración por flotación con sulfato de zinc al 33% y método directo).
- Los resultados están plasmados en un registro de control y consulta en esta investigación.

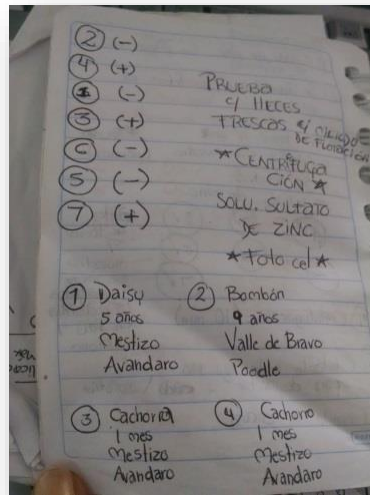


Figura 6. Registro de las muestras de heces en la libreta de campo.

3. Método de concentración por flotación con sulfato de zinc al 33%

Cada muestra de heces recolectada con hisopos directamente del recto y guantes estériles se mezcló con 1.25 ml ($\frac{1}{4}$ del tubo) de sulfato de zinc al 33% en un tubo de ensayo. La muestra fue centrifugada durante dos minutos a 2300 rpm (Piekarski, Gerhard, 1959); y con apoyo de un asa de micromel se recolectó el sobrenadante que se encontraba en el tubo de ensayo. Antes de tomar cada muestra se enjuagó el asa de micromel en agua con cloro y se calentó hasta observar que tomara una coloración rojo-naranja para desinfectarla entre las diferentes muestras. Este procedimiento fue realizado con cada muestra obtenida en las Campañas de Esterilización; registrándose los resultados obtenidos en la observación de las muestras de heces (Beboya, 1996).

Posteriormente se prepararon los portaobjetos para ser identificados con una etiqueta. El sobrenadante recolectado fue colocado en el portaobjetos para poder ser observado en el microscopio óptico con el objetivo (40X); finalizando con el registro de los resultados obtenidos de las muestras (Farell., 1984) Mediante este método es posible detectar la mayoría de los huevos o larvas (Beboya, 1996).



Figura 7. Muestra de heces centrifugada.

4. Método directo

Para realizar este método cada muestra de heces (1-2 gramos de heces frescas) contenidas en los recipientes de plástico con tapa hermética se recolectaron con una cucharilla de plástico y se mezclaron en un tubo de ensayo con solución fisiológica (1.25 ml - $\frac{1}{4}$ del tubo).



Figura 8. Muestra de heces mezclada con 1.25 ml o $\frac{1}{4}$ del tubo con solución fisiológica.

Se identificó cada tubo de ensayo con una etiqueta. Posteriormente se centrifugó la muestra de heces en el tubo de ensayo a 2300 rpm durante dos minutos (Piekarski y Gerhard, 1959). Concluido el tiempo de centrifugación de cada muestra con apoyo de un asa bacteriológica se recolectó el sobrenadante que se encontraba en el tubo de ensayo.



Figura 9. Muestra en centrifugación.

Se prepararon los portaobjetos para ser identificadas con una etiqueta.



Figura 10. Preparación de los portaobjetos.

El sobrenadante recolectado fue colocado en un portaobjeto con su cubreobjeto para ser observado en el microscopio óptico con el objetivo (40X). Registrando los resultados obtenidos de las muestras (Farell, 1984) (Beboya, 1996).



Figura 11. Sobrenadante recolectado en los portaobjetos con apoyo del asa de micromel.



Figura 12. Muestras observadas en el microscopio.

5. Análisis e interpretación

Una vez realizados los análisis de laboratorio de las muestras de heces, los resultados cuantitativos del parásito *Giardia spp.*, fueron transcritos a la computadora para luego ser procesados a la tabulación respectiva.

Para la presentación del estudio se utilizaron cuadros estadísticos y porcentajes previamente elaborados, seguidos de la interpretación textual complementándose con los gráficos estadísticos que facilitan mejor la observación e interpretación.

El presente estudio de investigación permitirá identificar el parásito *Giardia spp.*, contenidos en las heces de los perros de la cabecera municipal de Valle de Bravo, Estado de México, zona centro. Datos que servirán para que las autoridades sanitarias conozcan e informen a la población sobre los riesgos de contraer esta enfermedad parasitaria, que ocasionan severos traumas a nivel gastro-intestinal en animales y humanos.

5.1 Identificación de *Giardia spp*

Se buscó la presencia de *Giardia spp.*, en 66 muestras de heces, colectadas de los perros que fueron llevados a las Campañas de Esterilización; es decir las muestras de heces (recolectadas con hisopo directamente del recto) procesadas con solución sulfato de zinc al 33% y las muestras de heces frescas (recolectadas con cucharilla de plástico).

La información de las variables edad y sexo se representaron en gráficas con porcentajes.

5.2 Identificación de *Giardia spp.* por edad y sexo

Para identificar la presencia de *Giardia spp.*, por edad y sexo, se consideró la

muestra total (n=66). Así como los resultados fueron representados en gráficas para su interpretación por medio de la visualización.

5.3 Identificación de *Giardia spp.*, con dos métodos de diagnóstico de laboratorio

Para identificar *Giardia spp.*, la muestra total (n=66) se dividió en dos grupos. El grupo uno contó con un tamaño de muestra de (n=35) perros, de los cuales se tomó muestras de heces (hisopado rectal) para identificar *Giardia spp.*, a través del método de concentración por flotación con sulfato de zinc al 33%. Para el caso del grupo dos (n=31) las muestras se obtuvieron a partir de heces frescas contenidas en los recipiente de plástico con tapa hermética. Para este análisis se consideraron las siguientes variables: edad, sexo y detección de *Giardia spp.*, (positivo o negativo).

IX. LÍMITE DE ESPACIO

El estudio se realizó en la cabecera municipal Valle de Bravo. Que cuenta con 73 localidades y una población de 61 599 habitantes (INEGI, 2010). La población registrada de perros en Valle de Bravo de la zona centro; es de 3367. Cifra que abarca la Avenida Juárez, El Frontón, Santa María Ahuacatlán, Valle Centro, Boulevard Juan Herrera y Piña, El Barrio de Guadalupe, Palo Verde, Colonos y Avenida Toluca. (Datos otorgados por: El Centro de Salud "El Manguito", Jurisdicción Sanitaria de Valle de Bravo, 2015).

Sus coordenadas geográficas son de longitud mínima, 99°57'34" y 100°15'54"; de latitud mínima 19°04'37" y 19°17'28". La cabecera municipal alcanza 1 830 metros sobre el nivel del mar. El municipio de Valle de Bravo está rodeado por montañas; donde existen tres presas: Tiloxtoc, Colorines y Valle de Bravo. Esta última tiene una superficie de 21 kilómetros cuadrados y forma parte del Sistema Hidroeléctrico "Miguel Alemán", que proveía de energía eléctrica al centro de la República, actualmente pertenece a la Comisión de Aguas del Valle de México y se utiliza para abastecer de agua potable a la región centro del Estado de México y zona metropolitana de la ciudad de México. Esta presa es alimentada por los ríos: Malacatepec, Valle de Bravo, Tiloxtoc, Temascaltepec e Ixtapan del Oro, por los ríos de Tuxpan y Zitácuaro (H. Ayuntamiento de Valle de Bravo. Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México, Estado de México. Valle de Bravo, 2015).

El clima en el municipio es templado subhúmedo con lluvias en verano; En general, la temperatura media anual es de 18° C y oscila entre los 9.4° y 24.5° C, las lluvias se presentan de junio a septiembre y se prolongan, en ocasiones hasta octubre. Los meses más calurosos son: marzo, abril, mayo, y junio.

X. LÍMITE DE TIEMPO

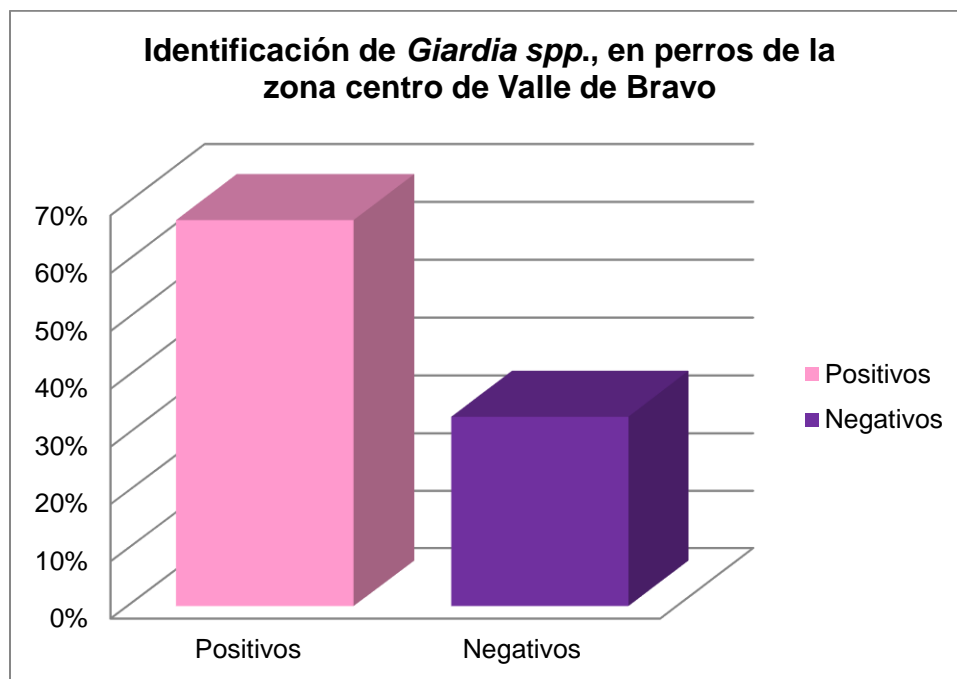
MES	ABR – AGOS 2015	SEP 2015	OCT – ENE 2015-2016	FEB – MAY 2016	JUN – AGOS 2016	SEP 2016
ACTIVIDAD						
Revisión de Literatura	♣	♣	♣	♣	♣	♣
Revisión Protocolo de Tesis	♣	♣	♣			
Aprobación de Protocolo	♣	♣				
Recolección de Muestras para estudio		♣				
Análisis de resultados e integración de la tesis	♣	♣	♣	♣	♣	
Revisión Tesis		♣	♣	♣	♣	
Autorización tesis					♣	
Examen Profesional						♣

XI. RESULTADOS / DISCUSIÓN

1. Identificación de *Giardia spp.*, de la muestra total

La identificación de *Giardia spp.*, en la cabecera municipal de Valle de Bravo en la zona centro fue del 67% representado en la Gráfica 1; y menos de la mitad de la muestra 33% fueron casos negativos. Por lo que tendría que existir un control de esta parasitosis para evitar su impacto en la salud pública (Guía Esccap No. 6, 2013). Lo que confirma la hipótesis. Así mismo, según la CDC (Centers for Disease Control and Prevention), 2015, este parásito tiende a complicarse con el tiempo si no son atendidos los perros ya que presenta un ciclo biológico directo y el hospedero puede infectarse al ingerir el quiste de *Giardia spp.* Lo cual indica un riesgo mayor para la población humana; porque al ser una zoonosis favorece el contagio de los perros hacia los humanos por la convivencia diaria entre el propietario y su mascota.

Gráfica 1. Identificación de *Giardia spp.*, en perros de la zona centro de Valle de Bravo.



Datos originales.

2. Recolección de heces frescas para identificar la presencia de *Giardia spp.*, en perros (*Canis familiaris*) de la zona centro de Valle de Bravo

Para determinar la presencia de *Giardia spp.*; en hembras y machos, con la recolección de heces frescas; la muestra total (n=66) fue dividida en 35 muestras que se desglosan en el Cuadro 1. Donde se observa que hay 27 casos positivos y 8 casos negativos. Entre los cuales se detectaron mayor número de hembras positivas a *Giardia spp.*; (21 casos) en comparación de los machos (6 casos); con respecto a la edad hay mayor contagio del parásito en perros mayores de un año de edad; notándose que en los perros menores de un año de edad no hubo identificación del parásito para este estudio.

Cuadro 1. Muestras de heces (Hisopado rectal) de perros de la zona centro de Valle de Bravo.

Edad	Sexo		Detección de <i>Giardia spp.</i>
	H	M	
1 mes	X		+
1 mes		X	+
1 mes		X	+
1 mes	X		+
1 ½ mes	X		+
2 meses	X		-
2 meses		X	+
2 meses		X	+
3 meses	X		+
1 año	X		+
2 años		X	-
2 años	X		-
3 años	X		+
3 años	X		+
3 años		X	-
3 años	X		+
3 años	X		+
3 años	X		+
3 años		X	-
3 años		X	-
4 años	X		+
5 años	X		+
5 años	X		+
5 años	X		+
5 años	X		+
5 años		X	-
6 años	X		+
7 años		X	+
8 años	X		+
8 años	X		+
9 años	X		+
10 años		X	+
12 años	X		+
12 años	X		+

3. Recolección de heces con cucharilla de plástico contenidas en recipiente de plástico con tapa hermética para identificar la presencia de *Giardia spp.*, en perros (*Canis familiaris*) de la zona centro de Valle de Bravo

La identificación de *Giardia spp.*; en hembras y machos, con la recolección de heces con cucharilla de plástico se muestra en el cuadro 2, donde las 31 muestras restantes del total (n=66) se observa que hay 17 casos positivos y 14 casos negativos. Lo cual nos dice que hay más hembras negativas (10 casos) en comparación de los machos (cuatro casos). Y la edad en la cual se identifica el parásito es en perros mayores de un año de edad; teniendo que la edad en la cual el parásito no se identificó fue en perros menores de un año de edad para este estudio.

**Cuadro 2. Heces frescas (Toma de muestra con cucharilla de plástico)
de perros de la zona centro de Valle de Bravo.**

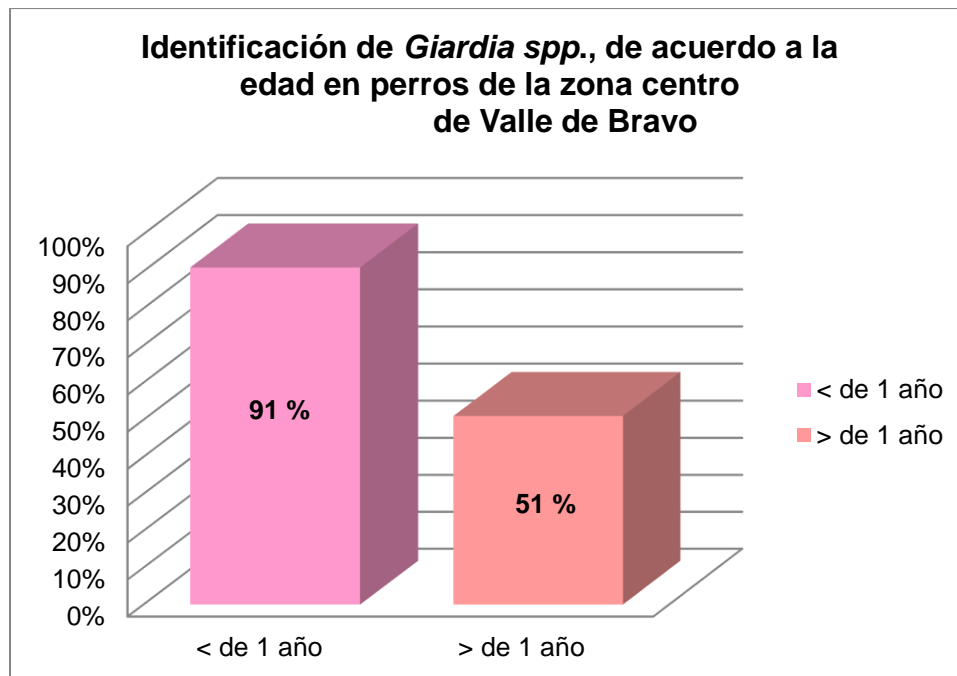
Edad	Sexo		Detección de <i>Giardia spp.</i>
	H	M	
1 mes		X	+
1 mes	X		+
2 meses		X	+
2 meses		X	+
3 meses	X		+
5 meses		X	+
7 meses		X	+
7 meses		X	+
8 meses		X	-
8 meses	X		+
8 meses	X		+
9 meses		X	+
10 meses	X		+
1 año		X	+
1 año 1 mes	X		-
1 año 2 meses	X		-
1 años 6 meses	X		-
1 año 9 meses	X		-
2 años	X		-
2 años	X		+
2 años		X	+
3 años	X		+
3 años	X		-
4 años	X		-
6 años		X	-
7 años	X		-
7 años	X		+
8 años		X	-
9 años	X		-
10 años		X	-
11 años	X		-

Los resultados obtenidos con estas dos técnicas se resalta que el método de concentración por flotación con sulfato de zinc al 33 % mostró mayor número de casos positivos que el método directo.

4. Identificación de *Giardia spp.*, de acuerdo a la edad en perros de la zona centro de Valle de Bravo

Para la evaluación de esta variable se clasificó a los perros en dos categorías de edad; menores de un año de edad y perros mayores de un año de edad. Los resultados se muestran en la gráfica 2. Como se aprecia en la misma, se encontró que en perros comprendidos menores de un año de edad el 91% de los casos son positivos y en perros mayores de un año de edad 51% de los casos son positivos.

Gráfica 2. Identificación de *Giardia spp.*, de acuerdo a la edad en perros de la zona centro de Valle de Bravo.



Datos originales.

El que se obtengan estos resultados en perros menores y mayores de un año de edad es debido a dos aspectos importantes:

En los perros comprendidos menores de un año de edad se debe a que en esta etapa de vida del perro es cuando se hace presente con mayor frecuencia esta parasitosis porque influye el estado inmunológico del cachorro el cual es expuesto al ambiente haciendo más vulnerable al parásito *Giardia spp.*, por la actividad propia del perro en esta edad en el conocimiento de su entorno que conlleva al contacto y convivencia con otros perros que le permiten su desarrollo y crecimiento.

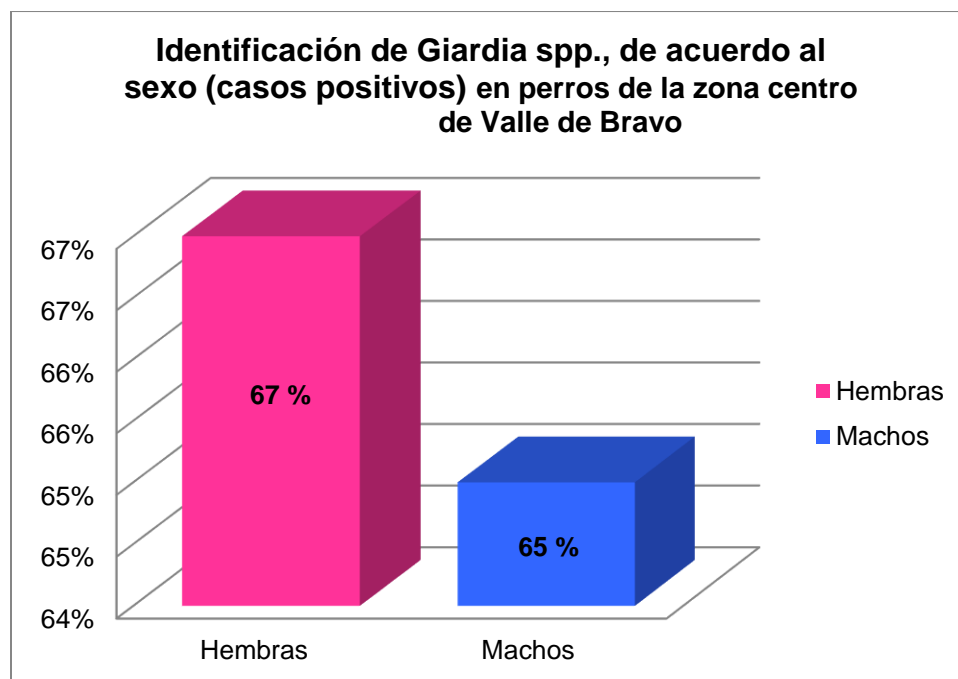
Y en los perros comprendidos mayores de un año de edad la observación de este protozooario es que los propietarios en esta zona no han llevado un esquema de desparasitación completo de los perros; descubriendo que en edad adulta se presente esta parasitosis. Lo que difiere con lo reportado con Díaz et al. 1996, que es más común que se manifieste en cachorros.

5. Identificación de *Giardia spp.*, de acuerdo al sexo en perros de la zona centro de Valle de Bravo.

Para evaluar esta variable se clasificó a los perros en dos grupos; uno de hembras y otro de machos, para establecer la predilección de sexo, cuyos resultados se representan en la gráfica 3.

En hembras se detectaron 67%; (29 casos positivos) y en machos 65%; (15 casos positivos). De igual forma de 14 casos negativos de hembras corresponden al 33% y de ocho casos negativos de machos corresponden al 35%.

Gráfica 3. Identificación de *Giardia spp.*, de acuerdo al sexo (casos positivos) en perros de la zona centro de Valle de Bravo.



Datos originales.

Con respecto al parásito *Giardia spp.*, se corrobora que de acuerdo al estudio realizado por Barr y Bowman, 1994; este parásito no hace distinción de sexo. Indicando la certeza de dicho argumento.

XII. CONCLUSIONES

- Con la realización del estudio se identificó la presencia de este protozooario existente en perros de la zona centro de Valle de Bravo; obteniendo de 44 casos positivos (67%) a *Giardia spp.*
- De los métodos diagnósticos utilizados en el presente estudio se identificaron 77% positivas por el método de concentración por flotación con sulfato de zinc al 33% y 55% positivas por el método directo lo que nos indica que ambos métodos resultaron útiles para el diagnóstico de *Giardia spp.*
- Se recomendó a la Fundación LIVA que en las campañas de esterilización canina, mientras los propietarios esperan la recuperación de su mascota reciban información sobre la desparasitación y en específico de la *Giardia spp.*, ya que como se observó en el resultado del estudio, llega a estar presente hasta un 67% de la población de perros en Valle de Bravo.

XIII. SUGERENCIAS

- De acuerdo a estos resultados se recomienda realizar un muestreo a todos los perros domiciliados y no domiciliados para conocer la prevalencia de la enfermedad.
- Dar a conocer la información obtenida en este estudio para fomentar el compromiso del dueño responsable de que al momento de la adquisición de un perro se tenga la responsabilidad de mantener en excelente estado de salud a su mascota para evitar la ingesta e infección por el parásito *Giardia spp.*, que se encuentra en las heces y que ocasiona un impacto en la salud pública.
- Fomentar la realización y seguimiento del esquema de desparasitación para evitar infestaciones parasitarias.
- Se recomienda la utilización de métodos preventivos dentro del plan profiláctico de las mascotas, debido a la importancia zoonótica que esta enfermedad presenta.
- Fomentar en los propietarios recoger las heces de los perros con recolectores especiales para evitar el contacto directo, ya que estas son el principal medio de transmisión.
- Difundir información a través de folletos o carteles en clínicas veterinarias con respecto a la higiene; como el lavarse las manos con agua y jabón después de manipular las heces.

XIV. LITERATURA CITADA

- 1.- Araujo T. W., Chávez V. A., Casas A. E. y Falcón P. N. (2004): Prevalencia de Giardia spp. En Canis familiaris de los Distritos de la Provincia Constitucional del Callao. Rev. Inv. Vet. Perú, 15 (2): 145-150.
- 2.- Barr S. C. y Bowman D. D. (1994): Giardiasis in dogs and cats. Comp. Cont. 16 (5): 603-10.
- 3.- Beboya M. (1996): Introducción al laboratorio de salud animal; Quito, Ecuador, SESA. 230 p.
- 4.- Belligotti V. (2005): Giardiasis por Giardia lamblia. <http://www.foyel.com>, (17 de Marzo de 2016).
- 5.- Benbrook E. y Sloss M. (1965): Examen fecal para el diagnóstico de los parásitos: Parasitología Clínica Veterinaria. 1, 14-23.
- 6.- Binda J. A., Moriena R. A. y Álvarez J. D. (2003): *Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), Provincia de Corrientes, Argentina. Revista Veterinaria, 14 (2): 88-89.*
- 7.- CDC (Centers for Disease Control and Prevention. (2015): Parasites–Giardia. <http://www.cdc.gov/parasites/giardia/general-info.html>, (15 de Marzo de 2016).
- 8.- Centro de Salud “El Manguito”, Jurisdicción Sanitaria de Valle de Bravo (2015).
- 9.- Cordero del Campillo M., Rojo V. F. A., Martínez F. A. R., Sánchez A. C., Hernández R. S., Navarrete L-C. I., Díez B. P, Quiroz R. H. y Carvalho V. M. (1999): Parasitología Veterinaria. 935 p.
- 10.-Decock C., Cadiergues M., Larcher M., Vermot S. y Franc M. (2003): Comparison of two techniques for diagnosis of giardiasis in dogs, 10 (1): 70-72.
- 11.- Delgado C. I. V. (2007): *Evaluación de la efectividad de la vacuna Giardia Vax en cachorros de Canis domesticus.* Tesis Licenciatura, Universidad de El Salvador. Facultad de Ciencias Agronómicas. Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia. <http://ri.ues.edu.sv/information.html>, (05 de Marzo de 2015).
- 12.- Díaz V., Campos M., Lozano J., Mañas I. y González J. (1996): Aspects of animal giardiosis in Granada province (southern Spain). Vet Parasitol. 64: 171-6.

- 13.- Fonte G. L. y Ali A. S., (2010): Giardiasis ¿Una zoonosis? Revista Cubana de Higiene y Epidemiología. Vol. 48. No. 2. Ciudad de la Habana.
- 14.- Fernández S. P. (1996): Determinación del tamaño muestral. Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística. Complejo Hospitalario Universitario de A. Coruña. <https://www.fisterra.com/mbe/investiga/9muestras/9muestras2.asp>, (7 de Septiembre de 2016).
- 15.- González N. (2008): Actualización bibliográfica acerca de algunos aspectos relacionados con la giardiasis como entidad parasitaria. REDVET (Revista electrónica de veterinaria). Vol. IX. No. 2.
- 16.- Guía Esccap No. 6 (Consejo Europeo para el Control de la Parasitosis de los Animales de Compañía). (2013): Control de Protozoos Intestinales en Perros y Gatos. http://www.esccap.org/uploads/docs/3sbvfy71_ESCCAP_Guide_6_spanish_version_def.pdf, (10 de Agosto de 2015).
- 17.- Guilford W. (1996): Strombeck DR.: Gastrointestinal Tract infections, Parasites and Toxicoses. En: Strombeck's Small Animal Gastroenterology, Philadelphia, WB Saunders. Pp. 411-432.
- 18.- H. Ayuntamiento de Valle de Bravo. (2015): Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México, Estado de México. Valle de Bravo. <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM15mexico/municipios/15110a.html>, (22 de Septiembre de 2015).
- 19.- <http://www.monografias.com/trabajos60/tamano-muestra-archivistica/tamano-muestra-archivistica2.shtml>
- 20.- IDEXX Laboratories Inc. (2003): Test SNAP *Giardia* para perros y gatos. Estados Unidos. http://www.idexx.es/saludanimal/test/giardia_canino. (10 de Junio de 2016).
- 21.- INEGI. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2010): Información Nacional, por entidad Federativa y Municipios. <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx?e=15>. (07 de Junio de 2016).
- 22.- Irwins P. J. (2002): Companion animal parasitology: a clinical perspective, 32 (5): 581-93.

- 23.- Jiménez-Cardoso E., Eligio-García L. y Cortés-Campos A. (2002): Evaluación de la capacidad inmunogénica de la vacuna Giardia-vax, utilizando un modelo experimental de giardiasis en jerbos (*Meriones unguiculatus*). Veterinaria México. Vol 33. Núm. 1 pp. 49-54 Universidad Nacional Autónoma de México.
- 24.- Montoya O. L. M. y Roldán A. L. M. (2007): Prevalencia de Giardiasis en perros de Medellín con un Laboratorio de Referencia. Medicina y Clínica Veterinaria. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad CES. Colombia.
- 25.- Ochoa C. R. C. (2011): Estudio de la prevalencia de Giardia spp. En caninos (*Canis familiaris*) atendidos en las clínicas veterinarias de la Ciudad de Loja. Tesis de Título de Médico Veterinario Zootecnista. Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables. Universidad Nacional de Loja.
- 26.- Olson, M. E., Morck D. W. y Ceri H. (1998): Preliminary data on the efficacy of Giardia vaccine in puppies. www.fortdodge.com, (02 de Julio de 2016).
- 27.- Papini R., Marangi M., Mancianti F. y Giangaspero A. (2009): Occurrence and cyst burden of Giardia *duodenalis* in dog faecal deposits from urban green areas: Implications for environmental contamination and related risks. *Preventive Veterinary Medicine.*, 92: 158-162.
- 28.- Piekarski y Gerhard. (1959): Tratado de Parasitología. Madrid, Aguilar.
- 29.- Plumb C., y Pharm D. (2006): Manual de Farmacología Veterinaria. Ciudad Autónoma de Buenos Aires-República Argentina. Pp.880. ISBN: 950-555-297-1.
- 30.- Sixtos C. (2005): Laboratorios Virbac. Salud Animal. Animales de Compañía. Procedimientos y técnicas para realización de estudios coproparasitológicos. Publicación Trimestral: 1-8.
- 31.- Sumano L. y Ocampo C. (2006): Farmacología Veterinaria. Pp. 1082.
- 32.- WebConsultas Healthcare, S.A, (2016): ELISA. <http://www.webconsultas.com/pruebas-medicas/elisa-13695>. (5 de Junio de 2016).
- 33.- Zárate R. D. A. (2003): Prevalencia de Giardia spp en caninos (*Canis Familiaris*) de los Distritos del Cono Sur de Lima Metropolitana. Tesis: Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Mayor de San Marco.

XV. ANEXOS

Para calcular el tamaño de muestra se realizó a través de la siguiente fórmula:

$$n = \frac{N * Z^2 * p * (1 - p)}{(N - 1) * e^2 + Z^2 * p * (1 - p)}$$

Dónde:

p= Prevalencia esperada (0.25).

q= (1-p).

e=10% (0.01).

n = Número muestra requerida (perros para análisis de heces).

N = Población total de perros en la zona de estudio.

Z = Número de unidades de desviaciones estándar de la distribución de la muestra, correspondiente al nivel de confianza deseado (1.96 al 95%).

El nivel de confianza indica que tan probable es el parámetro de la población. Y representa a su vez el porcentaje de intervalos que incluirían el parámetro de población si se tomaran muestras de la misma población una y otra vez.

Figura 14. Tabla de apoyo para cálculo del tamaño de una muestra por niveles de confianza.
(2008).

TABLA DE APOYO AL CALCULO DEL TAMAÑO DE UNA MUESTRA POR NIVELES DE CONFIANZA									
Certeza	95%	94%	93%	92%	91%	90%	80%	62.27%	50%
Z	1.96	1.88	1.81	1.75	1.69	1.65	1.28	1	0.6745
Z ²	3.84	3.53	3.28	3.06	2.86	2.72	1.64	1.00	0.45
e	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09	0.10	0.20	0.37	0.50
e ²	0.0025	0.0036	0.0049	0.0064	0.0081	0.01	0.04	0.1369	0.25

Obtenido de: <http://www.monografias.com/trabajos60/tamano-muestra-archivistica/tamano-muestra-archivistica2.shtml>

$$n = \frac{3367 * 1.96^2 * 0.25 * 0.75}{(3367 - 1) * 0.10^2 + 1.96^2 * 0.25 * (1 - 0.25)}$$

$$n = \frac{3367 * 3.8416 * 0.1875}{3366 * 0.01 + 3.8416 * 0.25 * 0.75}$$

$$n = \frac{2425}{34.4} = 70$$

Obteniendo que el tamaño de muestra es de 70 perros.