

**UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**  
**INSTITUTO DE PATOLOGÍA ANIMAL**

**COMPARACIÓN DE DOS TÉCNICAS COPROLÓGICAS PARA EL DIAGNÓSTICO  
DE ENDOPARÁSITOS DEL PERRO**

Memoria de Título presentada como parte  
de los requisitos para optar al TÍTULO DE  
MÉDICO VETERINARIO.

**JORGE ANTONIO AGUIRRE IBÁÑEZ**

**VALDIVIA – CHILE**

**2006**

**PROFESOR PATROCINANTE**

Dr. Gerold Sievers P.

Nombre

Firma

**PROFESORES CALIFICADORES**

Dra. Carolina Gallardo M.

Nombre

Firma

Dr. Gustavo Monti

Nombre

Firma

**FECHA DE APROBACIÓN: 02 de junio del 2006.**

*...A mi querida Madre*

## ÍNDICE

Capítulo	Página
1. RESUMEN.....	1
2. SUMMARY.....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	6
5. RESULTADOS.....	9
6. DISCUSIÓN.....	15
7. BIBLIOGRAFÍA.....	18
8. ANEXOS.....	21
9. AGRADECIMIENTOS.....	24

## 1. RESUMEN

Con el propósito de determinar la eficiencia de las técnicas coprológicas de sedimentación-flotación (Teuscher) y MIFC (Merthiolate-Iodine-Formaline-Concentration) para el diagnóstico de parásitos gastrointestinales del perro (*Canis familiaris*), se analizó simultáneamente con ambas técnicas, materia fecal de 84 perros de la ciudad de Valdivia de ambos sexos, distintas edades y razas.

El 73,4% de las muestras estaban positivas a algún tipo de parásito gastrointestinal. Mediante ambas técnicas se detectaron huevos de *Toxocara*, *Uncinaria*, *Trichuris* y *Capillaria*, y ooquistes de *Sarcocystis*. Con la técnica de sedimentación-flotación se detectó además, cápsulas ovígeras de *Dipylidium* y ooquistes de *Isospora*, y una cantidad significativamente ( $p < 0,05$ ) más elevada de huevos y ooquistes que con la técnica MIFC.

Se concluye que la técnica de sedimentación-flotación es más eficiente para diagnosticar los endoparásitos intestinales del perro.

**Palabras claves:** Técnicas, diagnóstico, coproparasitario, perro.

## 2. SUMMARY

### COMPARISSON OF TWO COPROLOGIC TECHNIQUES FOR THE DIAGNOSIS OF DOG ENDOPARASITES.

The purpose of this study was to determine the efficiency of the coprologic techniques sedimentation-flotation (Teuscher) and the MIFC test (Merthiolate-Iodine-Formaline-Concentration) for the diagnosis of gastrointestinal parasites in dogs (*Canis familiaris*). Feces of 84 dogs (both sexes, different ages and races) from de city of Valdivia, were analized simultaneously using both coprologic techniques.

73.4% of the samples tested were positive for some type of parasite. Both techniques detected *Toxocara*, *Uncinaria*, *Trichuris* and *Capillaria* eggs, and *Sarcocystis* oocysts. The sedimentation-flotation technique also detected *Dipylidium* egg packets and *Isospora* oocysts, and a significantly ( $p < 0.05$ ) higher quantity of eggs and oocysts than with the MIFC technique.

It was concluded that the sedimentation-flotation technique was more efficient for the diagnosis of the dog intestinal endoparasites.

**Key words:** Coprologic, diagnosis, techniques, dog.

### 3. INTRODUCCIÓN

El perro (*Canis familiaris*) es un carnívoro considerado como el mejor compañero del hombre. Recientes estudios concluyen que la domesticación del perro se produjo hace aproximadamente 100.000 años. Fue la primera especie animal domesticada por el hombre basándose en una relación de mutuo beneficio (Wayne y col 1997). Pero, debido al estrecho contacto y unión con el hombre, se producen muchas zoonosis que pueden afectar un importante número de individuos. Los agentes de las enfermedades zoonóticas se distribuyen en forma cosmopolita y también pueden afectar a un gran número de especies animales (Schantz 1983).

Dentro de las zoonosis provocadas por el perro, están las de origen parasitario. Por consiguiente, el estudio de la epidemiología y desarrollo de dichos parásitos es de vital importancia (Martín 1980), porque además de ser un gran problema para la salud humana, constituyen un factor que produce ingentes pérdidas a la producción pecuaria (San Martín 2000). Ello hace que la identificación de los parásitos sea un área donde el profesional Médico Veterinario no debe cometer errores (Barriga 2002).

Los parásitos que se pueden encontrar en el aparato digestivo del perro, de los cuales algunos son causantes de importantes zoonosis, se pueden diagnosticar coprológicamente los siguientes:

**Nematodos:** las especies *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina* tienen importancia tanto en salud del perro como en salud pública (Georgi y Georgi 1994), produciendo el síndrome de *larva migrans visceral* (Noemí y Rugiero 1998). Otros nemátodos importantes en los cánidos son los anquilostómideos, entre los cuales se describen las especies, *Ancylostoma caninum*, *Ancylostoma braziliense* y *Uncinaria stenocephala* (Soulsby 1987). Este mismo autor señala que la especie más patógena en el perro es el *Ancylostoma caninum*, cuyas larvas infectantes en el ser humano pueden atravesar la piel, provocando el síndrome de *larva migrans cutanea*. El orden Trichinellida presenta *Trichuris vulpis* y *Capillaria sp.* como nematodos de importancia veterinaria (Barriga 2002) y *Trichinella spiralis* que puede afectar al perro, pero que no tiene importancia zoonótica en Chile país por no existir el hábito de consumir su carne. Otros nemátodos encontrados en Chile son *Strongyloides stercoralis* y *Filariodes osleri*.

**Cestodos:** dentro de ellos están *Echinococcus granulosus*, *Dipylidium caninum*, *Multiceps Multiceps*, *Taenia hydatigena*, *Diphyllobothrium latum* y *Multiceps serialis*.

**Protozoos:** dentro del Phylum Sarcomastigophora destacan los géneros *Giardia* y *Entamoeba*, parásitos del intestino delgado que circunstancialmente producen enteritis aguda, intermitente o crónica (Torres y col 1974, Gorman y col 1989, Alcaíno y Gorman 1998). En el Phylum *Apicomplexa*, los géneros de mayor importancia son: *Sarcocystis*, *Isospora*, *Eimeria*, *Cryptosporidium*, *Neospora* y *Toxoplasma* (Cabello 2002).

Otra parasitosis que es posible diagnosticar coprológicamente en perros es *Linguatula serrata*, perteneciente al filum pentastomida.

Las técnicas de diagnóstico se dividen en directas o indirectas, según consista en detectar los parásitos mismos (adultos, larvas o huevos) o, las modificaciones humorales o tisulares que estos produzcan (eosinofilia, anticuerpos, etc.).

Dentro de las técnicas directas están los exámenes coprológicos, que a pesar de sus muchas limitaciones, son técnicas prácticas y de mucha utilidad. Son numerosas y se describen detalladamente en muchos textos de estudios y manuales especializados (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food 1978, Thienpont y col 1979).

Al escoger una técnica se debe tener en consideración la sensibilidad, la simplicidad y la identificación de un amplio número de formas parasitarias. Ello, con la menor cantidad de procesos y, que en lo posible, arroje resultados cuantitativos (Teuscher 1965). La sensibilidad de una técnica es necesaria porque, además de identificar los animales enfermos, debe descubrir los animales portadores sanos. Cabe destacar que en las enfermedades crónicas se necesita una prueba sensible para detectar un pequeño número de huevos de parásitos. Además, muchas veces es útil detectar los portadores subclínicos y aplicarles un antiparasitario adecuado con el fin de evitar la contaminación del medio con los huevos (quimioprofilaxis).

La simplicidad de una técnica es importante, especialmente para reducir el tiempo de preparación cuando es necesario hacer muchos exámenes. Sin embargo, se debe tener en cuenta, que no debe sacrificarse la sensibilidad porque siempre es necesario detectar el máximo de formas parasitarias (Araya 1967).

Para el examen microscópico de las heces en busca de parásitos no existe una técnica única; tampoco hay una técnica óptima para un objetivo determinado. Por ello es útil combinar varias técnicas. La fiabilidad de los resultados de un examen depende también de la experiencia del investigador y la preparación de los técnicos (Kaminsky 1978).

Las técnicas de diagnóstico coprológico de los parásitos se basan en tres principios: sedimentación, flotación y migración activa de las formas parasitarias fuera de la materia fecal (Sievers 2005). Además se pueden mencionar los frotis de heces directos y teñidos (frotis salino directo, frotis grueso de Kato, frotis teñido con hematoxolina férrica, frotis teñidos con colorante tricrómico) y las muestras fecales que se someten a un proceso de conservación (frotis fecal en PVA (alcohol polivinílico), muestras conservadas en solución de Schaudinn,

muestras conservadas con MIF (mertiolato-yodo-formol), solución de formalina) (Chester 1986).

La técnica de Teuscher (1965) es una modificación de la técnica de Faust y col (1938) y es una combinación de sedimentación y flotación. Es una técnica coproscópica muy sensible y utilizada rutinariamente en el Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Austral de Chile, que demuestra casi todas las formas parasitarias de los parásitos del tracto digestivo de muchas especies de animales, especialmente de los rumiantes. Parece ser la mejor técnica para la detección simultánea de huevos de nematodos, cestodos, trematodos y ooquistes de protozoos, evitando con ello la ejecución de otras técnicas especiales para determinadas formas parasitarias. Sin embargo, no es una técnica apropiada para diagnosticar larvas de nematodos (Araya 1967, Valenzuela y col 1984).

La técnica de MIF fue introducida por Saperó y col (1951) y descrita más detalladamente por Saperó y Lawless (1953) que utilizaron como líquido de dilución la preparación MIF (mertiolato-yodo-formol) más lugol. A esta técnica se le agregó una centrifugación de la muestra que permitió mejorar su eficiencia diagnóstica, transformándose en técnica MIFC (Blagg y col 1955).

En el presente estudio se implementó la técnica comercial (BIOSEPAR ®) basada en la técnica MIFC, que se utiliza rutinariamente en muchas clínicas veterinarias europeas. Es una técnica de fijación, tinción y concentración que permite diagnosticar huevos de helmintos y formas vegetativas de protozoos (quistes y ooquistes) gastrointestinales en materia fecal de carnívoros y primates. Esta técnica se comparó con la técnica de sedimentación-flotación (Teuscher 1965) que es utilizada rutinariamente en el Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Austral de Chile.

**Hipótesis:** Con las técnicas de sedimentación-flotación y MIFC se pueden diagnosticar todos los parásitos gastrointestinales del perro.

## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

En este trabajo se utilizó muestras de materia fecal de 84 perros provenientes de la ciudad de Valdivia infectados naturalmente con parásitos. A cada perro se determinó sexo, edad, peso y procedencia (Anexo1). La edad se obtuvo de acuerdo a los datos proporcionados por los propietarios, y cuando no fue posible, se determinó a través de cronometría dentaria (Sisson y Grossman 1982).

### Obtención de las muestras

Las muestras de material fecal se extrajeron directamente del recto de cada perro mediante el uso de guante de examen clínico y/o se recogieron como muestras frescas del piso de los caniles. Las muestras fecales se guardaron en bolsas de polietileno debidamente identificadas y se procesaron en el Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Austral de Chile mediante las técnicas de sedimentación-flotación descrita por Teuscher (1965) y la técnica MIFC (Blagg y col 1955) en una versión comercial (BIOSEPAR ®), el mismo día de su obtención. Cuando esto no fue posible, fueron almacenadas en refrigeración (4°C) por un período no mayor a 2 días.

Cabe destacar que tanto la técnica de sedimentación-flotación, como la técnica MIFC son de carácter cualitativo, es decir, determinan la presencia o ausencia de formas parasitarias. Sin embargo, para la realización de éste trabajo fue necesario uniformar y luego cuantificar la cantidad de material fecal analizada con el fin de poder comparar las técnicas.

### Material utilizado:

Para la técnica de sedimentación-flotación: Mortero y tamiz con embudo, vasos de precipitado de 250 ml, tubos de ensayo de 13 ml, gradilla, solución saturada de sulfato de zinc, solución de lugol, balanza de precisión (Sartorius, 1413), centrífuga de mesa (Haereus, Christ), bomba de vacío, microscopio óptico (Zeiss, Laborlux 11), portas y cubreobjetos.

Para la técnica MIFC: Consiste en un kit comercial (BIOSEPAR ®) que se basa en la técnica MIFC (Merthiolate-Iodine-Formaline-Concentration) para procesar muestras fecales de carnívoros y primates. Los materiales que incluyen el kit comercial son:

1) Un frasco con solución MF	Tintura de merthiolato	1:1000	200 ml
	Formaldehido	38%	25 ml
	Glicerina		5 ml
	Agua destilada		250 ml

- 2) Un frasco con etilacetato
- 3) Un frasco con solución lugol
 

Yoduro de potasio	10,0 g
Yodo cristalizado	5,0 g
Agua destilada	100 ml
- 4) Un "tubo 1" (de muestreo), de plástico de 15 ml que posee una tapa rosca a la cual se encuentra adicionada una cuchara que permite tomar una muestra de aproximadamente 1 gr de materia fecal.
- 5) Un "tubo 2" (de procesamiento), también de plástico con forma cónica de 10 ml con una tapa de doble rosca que tiene un cedazo central con forma de cilindro.
- 6) Además se utilizó una centrífuga (Haereus, Christ ), un microscopio óptico (Zeiss, Laborlux 11), gotarios, porta y cubreobjetos.

### **Procesamiento previo de las muestras:**

- a) Cada muestra fecal se homogenizó macerándola dentro de las bolsas de polietileno usadas como contenedoras. Las bolsas estaban previamente siliconizadas para impedir que los huevos de parásitos se adhirieran a ella. En los casos de heces de mucha consistencia se adicionó algo de agua (de la llave), para “ablandarlas” y así lograr una buena homogenización.
- b) Luego, para la realización de las dos técnicas, se pesó respectivamente 1 g de la materia fecal homogenizada.

### **Procedimiento técnica de sedimentación-flotación:**

- 1) Un gramo de material fecal se maceró con algo de agua en un mortero.
- 2) La suspensión obtenida se tamizó hacia un vaso de 250 ml con abundante agua.
- 3) Se dejó sedimentar por 20 minutos y luego se vertió el sobrenadante inclinando el vaso.
- 4) El sedimento se pasó a un tubo de ensayo de 13 ml y se dejó sedimentar por 5 minutos.
- 5) Se extrajo el sobrenadante con una bomba de vacío hasta dejar 2 ml o menos de sedimento y luego se agregó solución saturada de sulfato de zinc (densidad = 1,38) hasta 1 cm debajo del borde superior del tubo. El sobrenadante fue eliminado.
- 6) Se homogenizó la suspensión invirtiendo suavemente el tubo dos o tres veces y luego se centrifugó a 1000 r.p.m. (revoluciones por minuto) por 5 minutos.
- 7) Al tubo de ensayo con la muestra centrifugada se agregó solución saturada de sulfato de zinc hasta formar un menisco. Luego se colocó un cubreobjetos sobre el tubo y se dejó reposar durante 5 minutos para que las formas parasitarias se adosaran a la cara inferior del cubreobjetos.
- 8) El cubreobjetos, con la gota de suspensión en su cara inferior, se retiró y se colocó sobre un portaobjetos para ser observada al microscopio a un aumento de 10x y 40x.
- 9) Al tubo con la muestra centrifugada se agregó nuevamente unas gotas de solución saturada de sulfato de zinc y se colocó un cubreobjetos para producir una segunda flotación que, igualmente, se observó al microscopio.
- 10) La totalidad de las formas parasitarias encontradas en los dos cubreobjetos se contaron y se diferenciaron.

### **Procedimiento técnica MIFC:**

- 1) En el "tubo 1" (de muestreo), se colocó 1 g de la muestra fecal con 10 ml de la solución MF (ver arriba).
- 2) Se homogenizó bien la muestra dentro del "tubo 1" y se agregó 1 ml de etil-acetato y se atornilló al "tubo 2" (de procesamiento).
- 3) Se invirtió los dos tubos atornillados y se dejó que la suspensión del "tubo 1" pasara al "tubo 2" a través del cedazo que se encuentra entre ambos tubos. Este proceso demoró entre 20 a 40 minutos.
- 4) Luego se separan ambos tubos y el "tubo 2" con la suspensión se le agregó 1 ml de etil-acetato. Esta suspensión se vació a un tubo de centrifuga de 13 ml, con el fin de poder centrifugarse a 1600 r.p.m. durante 1 minuto en la centrifuga existente en el laboratorio.
- 5) Después del centrifugado se formaron varias capas de diferentes densidades.
- 6) Mediante un gotario se llevó capa a capa del sedimento del "tubo 2" a un portaobjetos. La mitad de este contenido fue teñido con la solución de lugol, para poder visualizar bien las estructuras del protozoo *Giardia spp.*
- 7) Se revisó la totalidad del sedimento (tres capas) al microscopio y se contaron e identificaron todas las formas parasitarias encontradas.

### **Identificación de las formas parasitarias:**

Las formas parasitarias encontradas en las heces de los perros se identificaron en base a las descripciones de Dubey (1976), Dunn (1978), Thienpont y col (1979), Georgi (1980) Soulsby (1987), Mehlhorn y col (1993) y Hendrix (1999).

### **Análisis estadísticos de los resultados:**

Los análisis se realizaron mediante el programa computacional estadístico Statistix 8. (2003). Se evaluó la normalidad de los datos mediante el test Shapiro-Wilk y la homosedasticidad de varianza con el test para igualdad de varianzas de Statistix 8.; para cumplir con estos supuestos los valores de los huevos de *Toxocara*, *Uncinaria*, *Trichuris*, *Capillaria*, *Dipylidium*, *Sarcocystis* e *Isoospora* se transformaron a su logaritmo. Los promedios del logaritmo de los recuentos de huevos se compararon con la prueba "t" de Student.

## 5. RESULTADOS

De las 84 muestras de heces de perros examinadas, 65 (73,4%) y 59 (70,2%) resultaron positivas a formas parasitarias a través de técnica de sedimentación-flotación y la técnica MIFC respectivamente.

En la tabla 1 se observa que la mayor parte de las muestras estaban positivas a huevos de nematodos, seguidos por ooquistes de protozoos y huevos de cestodos. Mediante la técnica de sedimentación-flotación se encontraron regularmente más muestras positivas. Frente al grupo de los cestodos sólo se encontraron cápsulas ovígeras mediante la técnica de sedimentación-flotación.

En la tabla 2, se observan las asociaciones de formas parasitarias encontradas en las heces de los perros. En la mayor parte de las heces se encontró una o dos formas de parásitos. Mediante la técnica MIFC se encontró más muestras con una y menos muestras con dos o tres formas parasitarias. Tetraparasitismo se diagnosticó solo con la técnica de sedimentación-flotación.

En la tabla 3 se muestran las cantidades de huevos y ooquistes (h/o) diferenciados en las muestras fecales de perros mediante las dos técnicas. Se diagnosticaron 7 géneros de parásitos gastrointestinales. Exceptuando *Dipylidium* e *Isospora* todas las especies se diagnosticaron mediante ambas técnicas. Si se consideran las cantidades totales de huevos y ooquistes, se diagnosticaron casi seis veces más con la técnica de sedimentación-flotación.

Para comparar los promedios de recuentos de los distintos tipos de huevos por las dos técnicas, mediante una prueba paramétrica, se transformaron los datos a su logaritmo para cumplir con los supuestos de normalidad y homoscedasticidad (Anexo 2).

En relación al promedio de recuentos de huevos y ooquistes encontrados con ambas técnicas, hubo diferencia significativa ( $p < 0,05$ ), lo que se visualiza al analizar su distribución mediante los gráficos de cajas y bigotes. En las figuras 1, 2, 3, 4, 5 y 6 se presentan los resultados para *Toxocara*, *Uncinaria*, *Trichuris*, *Capillaria*, *Dipylidium* y *Sarcocystis* respectivamente. En el caso de *Dipylidium* sólo se graficó mediante la técnica de sedimentación-flotación, ya que técnica MIFC no arrojó recuento de cápsulas ovígeras. Para el género *Isospora* tampoco fue posible su graficación debido a la baja cantidad de ooquistes diagnosticados mediante la técnica de sedimentación-flotación y el nulo diagnóstico mediante la técnica MIFC.

Al observar los diagramas de cajas y bigotes se visualiza que por medio de la técnica de sedimentación-flotación se diagnosticaron un mayor número de huevos y ooquistes de protozoos. Cabe destacar en el caso de *Toxocara*, *Uncinaria*, *Capillaria* y *Sarcocystis* que el 50% del número de huevos estaba sobre la mediana lograda con la técnica MIFC.

**Tabla 1:** Número (N°) y porcentaje (%) de muestras fecales de perros con formas parasitarias de nematodos, cestodos y ooquistes de protozoos diagnosticadas mediante las técnicas de sedimentación-flotación y MIFC.

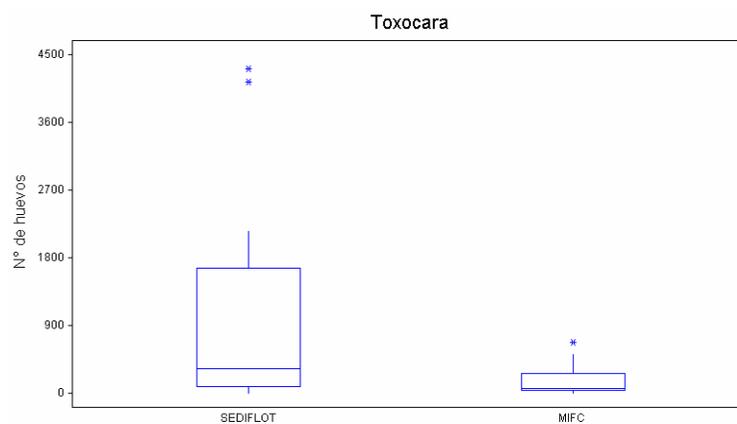
Clase	Técnicas			
	Sedimentación-flotación		MIFC	
	N°	%	N°	%
<b>Nematoda</b>	63	75,0	57	67,9
<b>Cestoda</b>	7	8,3	0	0,0
<b>Sporozoa</b>	8	9,5	5	6,0

**Tabla 2:** Cantidad de muestras de heces de perros con una, dos o más formas parasitarias diagnosticadas mediante las técnicas de sedimentación-flotación y MIFC.

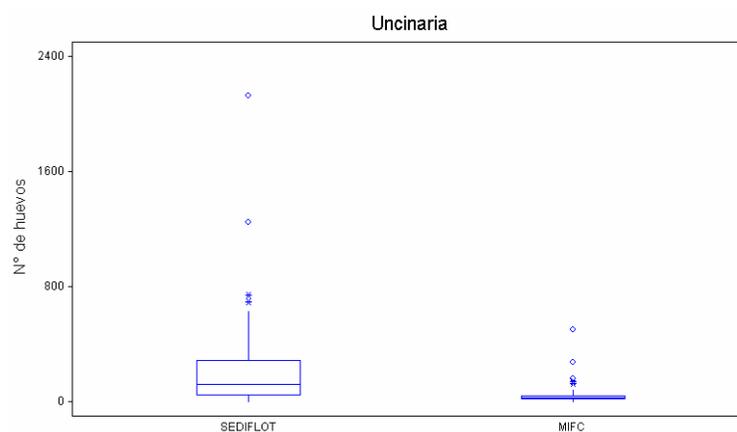
Asociaciones	Técnica	
	Sedimentación-flotación	MIFC
	N° de muestras	N° de muestras
<b>Monoparasitismo</b>	31	37
<b>Biparasitismo</b>	25	18
<b>Triparsitismo</b>	7	4
<b>Tetraparasitismo</b>	2	0

**Tabla 3:** Cantidades de muestras positivas (N°) y de huevos y ooquistes (h/o) identificados por medio de las técnicas de sedimentación-flotación y MIFC, en heces de perros.

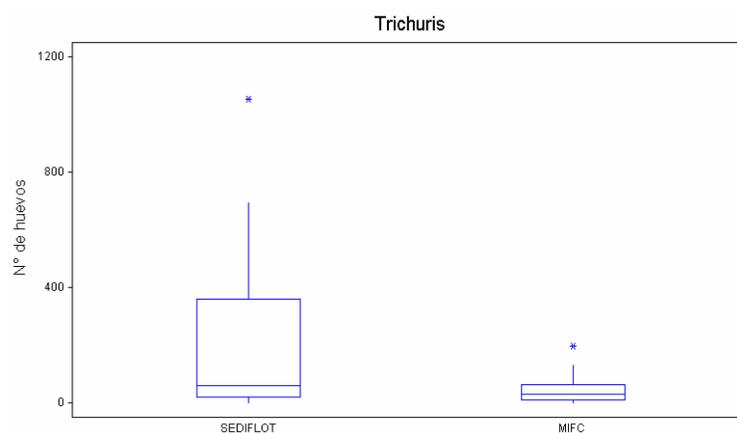
Clase	Género	Técnica			
		Sedimentación-flotación		MIFC	
		N°	h/o	N°	h/o
Nematoda	<i>Toxocara</i>	20	20114	19	3252
	<i>Uncinaria</i>	44	11490	38	2151
	<i>Trichuris</i>	22	4713	16	754
	<i>Capillaria</i>	9	212	7	36
Cestoda	<i>Dipylidium</i>	7	61	0	0
Sporozoa	<i>Sarcocystis</i>	7	612	5	51
	<i>Isospora</i>	1	7	0	0
<b>Totales</b>		<b>110</b>	<b>37209</b>	<b>67</b>	<b>6244</b>



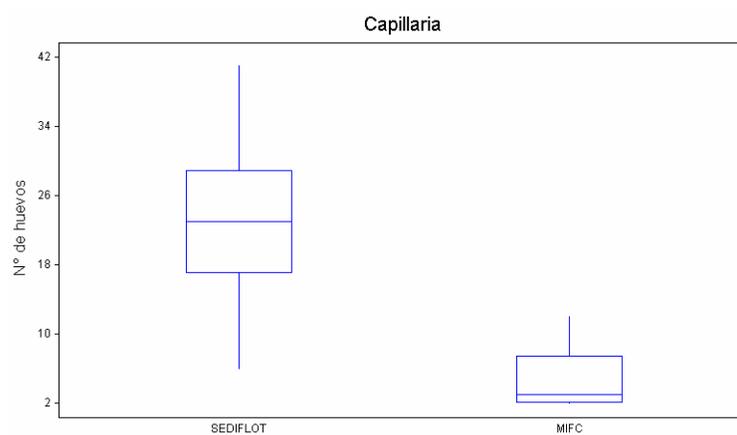
**Figura 1:** Distribución de conteos de huevos de *Toxocara*, utilizando la técnica de sedimentación-flotación (SED/FLOT) y técnica MIFC, mostrado mediante diagrama de cajas y bigotes.



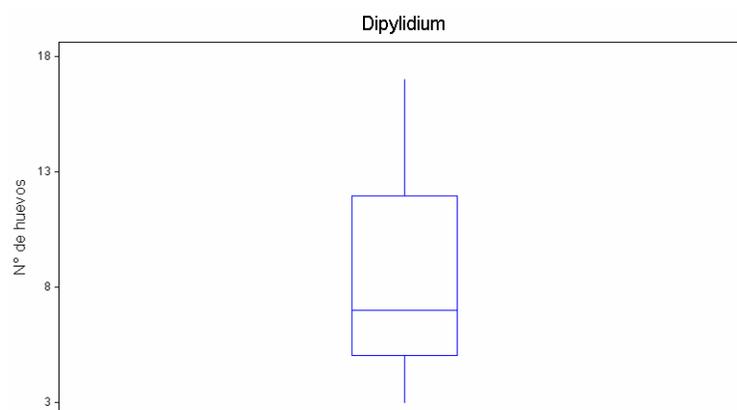
**Figura 2:** Distribución de conteos de huevos de *Uncinaria*, utilizando la técnica de sedimentación-flotación (SED/FLOT) y técnica MIFC, mostrado mediante diagrama de cajas y bigotes.



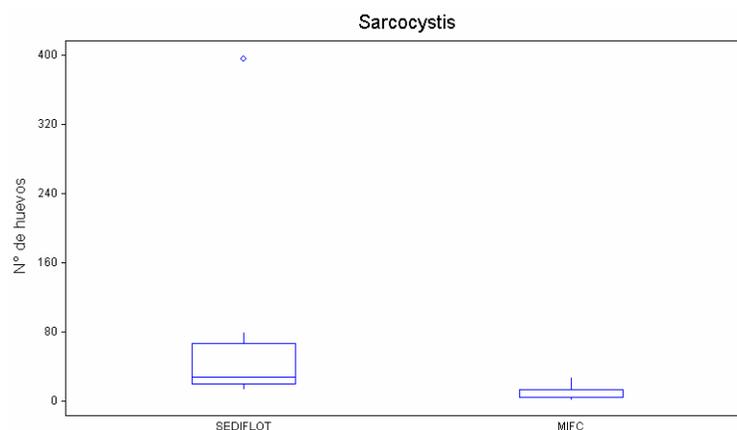
**Figura 3:** Distribución de conteos de huevos de *Trichuris*, utilizando la técnica de sedimentación-flotación (SED/FLOT) y técnica MIFC, mostrado mediante diagrama de cajas y bigotes.



**Figura 4:** Distribución de conteos de huevos de *Capillaria*, utilizando la técnica de sedimentación-flotación (SED/FLOT) y técnica MIFC, mostrado mediante diagrama de cajas y bigotes.



**Figura 5:** Distribución de conteo de huevos de *Dipylidium*, utilizando la técnica de sedimentación-flotación (SED/FLOT), mostrado mediante diagrama de cajas y bigotes.



**Figura 6:** Distribución de conteos de huevos de *Sarcocystis*, utilizando la técnica de sedimentación-flotación (SED/FLOT) y técnica MIFC, mostrado mediante diagrama de cajas y bigotes.

## 6. DISCUSIÓN

Según los resultados obtenidos, la técnica de sedimentación-flotación es más eficiente en el diagnóstico de huevos de nematodos, cestodos y ooquistes de protozoos. Se observó regularmente más muestras positivas y subjetivamente un mayor número de huevos por campo microscópico, incluso en casos como *Toxocara*, *Uncinaria*, *Trichuris* y *Capillaria*, hasta seis veces más.

La mayor eficiencia de la técnica de sedimentación-flotación (Teuscher 1965), en el diagnóstico de formas parasitarias, puede ser atribuida a tres factores:

- a) Cantidad de líquido: en la técnica de sedimentación-flotación se utilizan hasta 250 ml de agua para aclarar la muestra; ello separa mejor los huevos y ooquistes del resto de la materia fecal. En cambio en la técnica MIFC sólo se utilizan 6 ml de una solución de formalina y éter MIF que tiene por principal función el fijar las formas parasitarias y en segundo término cumplir una función de dilución y, por lo tanto, probablemente no permite la separación eficiente de los huevos y ooquistes.
- b) Superficie de tamizado: dentro del proceso de la técnica de sedimentación-flotación se utiliza un embudo que posee un cedazo para separar los materiales groseros de las heces;

el tamiz tiene una superficie aproximada de 24 cm<sup>2</sup>, y el recipiente que es entregado comercialmente para realizar la técnica MIFC es menor 7,2 cm<sup>2</sup>, lo que probablemente incide en que la rejilla se tapa con mayor facilidad y no permite el paso expedito de las formas parasitarias al otro sector del recipiente.

- c) Cantidad de material obtenido después del procesamiento: En la técnica de sedimentación-flotación se revisa dos veces la cantidad de líquido adherido a un cubreobjetos donde se encuentran las formas parasitarias; la sumatoria de esas dos flotaciones realizadas con una solución saturada de sulfato de zinc, arroja una cantidad muy superior de formas parasitarias que las que se encuentran en las 2 gotas del sedimento que se obtienen mediante la técnica MIFC. Incluso, para poder comparar mejor las técnicas se revisó todo el contenido del tubo de procesamiento (tubo 2) y la sumatoria de las formas parasitarias encontradas en la misma muestra fecal nunca superó las encontradas mediante la técnica de sedimentación-flotación.

Los tres factores pueden incidir en la diferencia de la pesquisa de los huevos de nematodos, cestodos y ooquistes de protozoos mediante ambas técnicas.

Si bien es fácil e higiénica la toma de muestra fecal mediante el receptáculo entregado por la técnica MIFC (BIOSEPAR ®), e igualmente su posterior transporte, su procesamiento posterior en el laboratorio es laborioso, largo en el tiempo y en cierta medida peligroso porque utiliza éter que es inflamable e incluso tóxico.

Según Chester (1986), la técnica MIFC permite fijar y teñir adecuadamente los ooquistes y quistes de protozoos lo que en principio facilita y favorece su diagnóstico. Sin embargo, ello no favorece la separación y pesquisa de las formas parasitarias.

El aparente mayor hallazgo de monoparasitismos mediante la técnica MIFC no se debe a una mejor sensibilidad, sino por lo contrario, no fue capaz de pesquisar un bi o un triparasitismo que sí se logró mediante la técnica de sedimentación-flotación (tabla 1).

La cantidad de huevos y ooquistes de parásitos diagnosticados con la técnica MIFC es siempre mucho menor que los diagnosticados con la técnica de sedimentación-flotación. Esto también puede explicar el deficiente diagnóstico de los ooquistes de protozoos (tabla 2).

Para el caso de huevos de cestodos debe hacerse la salvedad de que el único cestodo diagnosticado fue *D. caninum* que tiene como característica la eliminación de cápsulas ovíferas que son formas parasitarias de un tamaño de 120 a 200 mμ, en cambio la mayor parte de los huevos de los otros cestodos miden entre 30 y 37 mμ (Thienpont y col 1979). Este tamaño de las cápsulas ovíferas probablemente haya sido un impedimento de importancia en el paso del pequeño cedazo utilizado en la técnica MIFC. Queda la duda si los huevos de los otros cestodos que tienen un tamaño inferior son diagnosticados con ambas técnicas.

Cuando el material fecal es procesado en cantidades exactas, es posible cuantificar los hallazgos y expresarlos en huevos y/o ooquistes por gramo de heces (Dunn 1972). En relación a la técnica MIFC, Dunn (1968), indica que es una técnica poco fiable para muestras que se

han conservado durante mas de unos días. En el presente estudio se utilizaron concientemente dos técnicas que conocidamente son cualitativas y no cuantitativas. Probablemente la técnica MIFC sirva para el diagnóstico de parasitosis moderadas o elevadas, con altas eliminaciones de huevos y/o ooquistes. En cambio, mediante la técnica de sedimentación-flotación se puede asegurar la presencia de un bajo número de huevos y ooquistes que pueden ser indicativos de parasitosis leves o subclínicas.

Al contar todos los huevos y ooquistes extraídos en muestras fecales de idéntica cantidad, fue posible poder realizar el análisis estadístico, encontrándose una diferencia significativa entre ambas técnicas ( $p < 0,05$ ), lo que refuerza la diferencia entre ambas.

Huevos de nematodos fueron diagnosticados con ambas técnicas. Esto confirma lo expresado por Teuscher (1965) en el sentido de que cualquier método simple puede determinar, en forma más o menos aceptable, huevos de nematodos.

En relación a la hipótesis planteada, con ambas técnicas no se pueden diagnosticar todos los parásitos gastrointestinales del perro.

## CONCLUSIONES:

- La técnica de sedimentación-flotación demostró mayor eficiencia en el diagnóstico de huevos de nematodos, cestodos y ooquistes de protozoos.
- Hubo una diferencia estadísticamente significativa entre las cantidades de huevos encontrados mediante ambas técnicas ( $p < 0,05$ ).
- Mediante la técnica MIFC no se diagnosticaron cápsulas ovígeras de *Dipylidium caninum* ni ooquistes de *Isospora*, lo que si fue posible mediante la técnica de sedimentación-flotación
- Con la técnica de sedimentación-flotación se logró diagnosticar tetraparasitismo.
- La técnica de sedimentación-flotación es el examen coprológico de elección para diagnosticar los parásitos del perro, siendo más sencilla y más sensible que la técnica MIFC.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- Alcaíno H, T Gorman. 1998. Enfermedades parasitarias transmitidas por el perro y el gato al hombre. En: Parasitología Médica. Atías, A. Edit. Mediterráneo, Santiago.
- Araya O. 1967. Evaluación de la técnica de Teuscher en el examen coprológico para el diagnóstico parasitario en el bovino. *Tesis licenciatura*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile.
- Barriga O. 2002. Las enfermedades parasitarias de los animales domésticos de la América latina. Editorial Germinal. Santiago.
- Blagg W, E Schloegel, N Mansour, G Khalaf. 1955. A New Concentration Technic for the Demonstration of Protozoa and Helminth Eggs in Feces. *Am J Trop Med Hyg* 4, 23-28.
- Cabello J. 2002. Estudio parasitario a través de muestras de material fecal de perros (*Canis familiaris*) provenientes de la ciudad de Valdivia, Chile. *Tesis licenciatura*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile.
- Chester P, R Clifton, E Wayne. 1986. Parasitología clínica. 2<sup>a</sup> edición. Salvat Editores SA Mallorca, Barcelona.
- Dubey J. 1976. A review of *Sarcocystis* of domestic animal and other coccidias of cats and dogs. *J Am Vet Med Ass* 169, 1061-1078.
- Dunn F L. 1968. The TIF direct smear as an epidemiological tool. *Bull. W. H. O.* 39, 439-449.
- Dunn F L. 1972. Intestinal parasitism in Malayan aborigines (Orang Asli). *Bull. W. H. O.* 46, 99-113.
- Dunn A M. 1978. Veterinary Helminthology. 2<sup>nd</sup> Ed. W. Heineman Medical Books L.t.d., London.
- Faust C, JSD'Antoni, V Odom, MJ Miller, C Pérez, W Sawitz, LF Thomen, JE Tobie, JH Walker. 1938. A critical study of clinical laboratory techniques for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in faeces. *Am J Trop Med* 18, 169-183.
- Georgi J. 1980. Parasitology for Veterinarians. 3<sup>rd</sup> Ed. W. B. Saunders Company. Philadelphia, London, Toronto.
- Georgi J, Georgi. 1994. Parasitología en Clínica Canina. Editorial Interamericana Mc.Graw-Hill, Ciudad de México.

- Gorman T, V Yáñez, H Alcaíno. 1989. Coccidias intestinales en caninos de la comuna de San Miguel. Región Metropolitana. Chile. *Av Cs Vet* 4, 57-62.
- Hendrix C. 1999. Diagnóstico Parasitológico Veterinario. Segunda Edición. Harcourt Brace. Madrid.
- Kaminsky R. 1978. Analysis of selected techniques for surveys of intestinal parasites. *East Afr Med J* 55, 45-53.
- Martín H. 1980. Estudio de la fauna helmintológica del perro (*Canis familiaris*) en el sector urbano de la Comuna de Máfil, Provincia de Valdivia, Chile. *Tesis licenciatura*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile.
- Mehlhorn H, D Düwel, W Raether. 1983. Manual de parasitología veterinaria. Editorial Grass – Iatros. Bogotá.
- Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. 1978. Manual of veterinary investigation laboratory techniques. 2<sup>nd</sup> edition. Weybridge.
- Noemí I, E Rugiero. 1998. Larvas Migrantes. En: Atías A. 1999. Parasitología Médica. Edit. Mediterráneo, Santiago.
- San Martín H. 2000. Determinación de la fauna parasitaria en perros (*Canis familiaris*) provenientes del programa de eutanasia voluntaria del Servicio de Salud Valdivia y la Ilustre Municipalidad de Valdivia. *Tesis licenciatura*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile.
- Sapero J, D Lawless, CPA Strome. 1951. An improved iodine-staining technique for routine laboratory diagnosis of intestinal protozoa. *Science* 114, 550-551.
- Sapero J, D Lawless. 1953. The MIF Stain-Preservation Technique for the identification of intestinal protozoa. *Am J Trop Med & Hyg* 2, 613-619.
- Schantz P. 1983. Emergent or newly recognized parasitic zoonoses. *The compendium on continuing education* 5, 163-172.
- Sisson S, J Grossman. 1982. Anatomía de los animales domésticos. 5<sup>a</sup> edición. Salvat Editores, Barcelona.
- Sievers G. 2005. Parasitología general. Apunte teórico. Facultad de Ciencias Veterinaria, Universidad Austral de Chile.
- Software Statistix 8. 2003. Start Soft Cop OK, Windows 2000.

- Soulsby E J L. 1987. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7ª Edición. Nueva Editorial Interamericana, Ciudad de México.
- Teuscher E. 1965. A new single method of examine faeces for the diagnosis of helminth diseases of rumiant. *Zentralb Veterinärmed* 12, 241-248.
- Thienpont D, F Rochette, O Vanparijs. 1979. Diagnose von Helmithosen durch koproscopische Untersuchung. Janssen Research Foundation. Beerse.
- Torres P, M Ramos, L Carrasco, M Neumann, R Franjola, N Navarrete, L Figueroa. 1974. Protozoos, helmintos y artrópodos parásitos del perro doméstico de Valdivia, Chile. *Bol Chil Parasitol* 29, 18-23.
- Valenzuela G, G Sievers, I Quintana. 1984. Técnicas de diagnóstico en parasitología animal. Apunte teórico. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.
- Wayne R, C Vila, P Savolaine, J Maldonado, I Amorin, J Rice, R Honeycutt, K Grandall, J Lunderberg. 1997. Multiple and ancient origins of the domestic dog. *Science* 276, 1687-1689.

## 8. ANEXOS

## Anexo 1

## FICHA DE EXAMEN PARASITOLÓGICO

N° \_\_\_\_\_

Propietario:

Dirección:

Fono:

Datos del paciente

Nombre:

Especie:

Raza:

Edad: 0-6 meses/6-12 meses/12 o más meses.

Sexo:

Peso:

Procedencia: urbano/rural

Fecha última desparasitación:

Producto:

## HALLAZGOS TÉCNICAS COPROPARASITARIAS

Clase	Especies	Técnicas	
		Sed/Flot Número	MIFC Número
Nematodos	<i>Toxocara spp</i>		
	<i>Uncinaria</i>		
	<i>Trichuris sp</i>		
	<i>Capillaria</i>		
Cestodos	<i>Strongyloides stercoralis</i>		
	<i>Taenia ssp. (huevos)</i>		
	<i>Dipylidium caninum</i>		
Pentastómidos	<i>Diphyllobothrium latum</i>		
Trematodos	<i>Linguatula serrata</i>		
Protozoos	<i>Cystoisospora</i>		
	<i>Sarcocystis</i>		
	<i>Giardia</i>		

## Anexo 2

Datos crudos y su transformación a su logaritmo para cumplir con los supuestos de normalidad y homosedasticidad. Programa computacional estadístico Statistix 8.

**Shapiro-Wilk Normality Test**

<b>Variable</b>	<b>N</b>	<b>W</b>	<b>P</b>
Toxteusch	20	0.7527	0.0002
Toxmifc	19	0.8090	0.0016
Uncteusch	44	0.6295	0.0000
Uncmifc	38	0.5617	0.0000
Tricteusch	22	0.7486	0.0001
Tricmifc	16	0.8094	0.0036
Capteusch	9	0.9925	0.9986
Capmifc	7	0.8209	0.0655
Dipyteusch	7	0.9256	0.5142
Dipymifc	0	M	M
Sarcteusch	7	0.5996	0.0003
Saremifc	5	0.8387	0.1613
Isospmifc	0	M	M
Isospteusch	1	M	M

**Shapiro-Wilk Normality Test (Logaritmo)**

<b>Variable</b>	<b>N</b>	<b>W</b>	<b>P</b>
Toxteusch	20	0.9572	0.4891
Toxmifc	19	0.9271	0.1532
Uncteusch	44	0.9775	0.5364
Uncmifc	38	0.9858	0.9018
Tricteusch	22	0.9632	0.5567
Tricmifc	16	0.9618	0.6945
Capteusch	9	0.8871	0.1862
Capmifc	7	0.8398	0.0989
Dipyteusch	7	0.9521	0.7485
Dipymifc	0	M	M
Sarcteusch	7	0.8823	0.2369
Saremifc	5	0.9453	0.7039
Isospteusch	1	M	M
Isospmifc	0	M	M

**Two-Sample T Tests for Toxteusc vs Toxmifc**

<b>Variable</b>	<b>Mean</b>	<b>N</b>	<b>Difference</b>
Toxmifc	171.16	19	
Toxteusch	1005.7	20	-834.54
Uncmif	56.605	38	
Uncteusc	261.14	44	-204.53
Tricmifc	47.125	16	
Tricteusch	214.23	22	-167.10
Capmifc	5.1429	7	
Capteusch	23.556	9	-18.413
Saremfic	6.0000	4	
Sarcteusch	34.714	7	-28.714

**Test for Equality of Variances**

<b>Genero</b>	<b>Datos "crudos"</b>	<b>Datos convertidos</b>
<i>Toxocara</i>	0.0000	0.2335
<i>Uncinaria</i>	0.0000	0.2353
<i>Trichuris</i>	0.0000	0.1757
<i>Capillaria</i>	0.0178	0.1961
<i>Sarcocystis</i>	0.0169	0.4602

## 9. AGRADECIMIENTOS

En reconocimiento y gratitud a:

- Dr. Gerold Sievers, profesor patrocinante, por su dedicación, sus consejos, valiosa ayuda académica, buena disposición y apoyo en la realización de mi Memoria.
- Dr. Gastón Valenzuela, docente del Instituto de Parasitología, por toda su colaboración y ayuda.
- Dra. Paula Gädicke, por su buena voluntad y disposición en la enseñanza del método utilizado para el análisis estadístico de los datos.
- Don Belisario Monsalve, “Don Beli”, por su buen humor, por su ayuda desinteresada en el trabajo de laboratorio y su valiosa amistad.
- Mi familia, especialmente a mi madre, por su cariño, constante incentivo y preocupación.
- Mis queridos “Opas” y a mi amigo Roberto Horzella por la amistad y cariño de estos años.
- Mis queridos amigos.
- Todas las personas, sin nombrar para no omitir a nadie, que de una u otra forma colaboraron desinteresadamente en la realización de este trabajo.