

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

**COMPARACIÓN DE CUATRO SISTEMAS DE MUESTREO DE TIERRA PARA
DETERMINAR CONTAMINACIÓN DE ÁREAS CON HUEVOS DE *Toxocara canis*.**

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

ANDREA CECILIA AMENÁBAR TORRES

VALDIVIA – CHILE

2006

PROFESOR PATROCINANTE

Dr. Gerold Sievers P.
Nombre

Firma

PROFESORES CALIFICADORES

Dr. René Franjola T.
Nombre

Firma

Dra. Carolina Gallardo M.
Nombre

Firma

FECHA DE APROBACIÓN: 5 de mayo de 2006

...a mis padres, hermana, Carlos y a mi
hija Monserrat.

ÍNDICE

Capítulo	Página
1. RESUMEN.....	1
2. SUMMARY.....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	6
5. RESULTADOS.....	8
6. DISCUSIÓN.....	14
7. BIBLIOGRAFÍA.....	17
8. ANEXOS.....	21
9. AGRADECIMIENTOS.....	24

1. RESUMEN

Se compararon cuatro sistemas de muestreo de tierra con el propósito de determinar cual es el más representativo de la contaminación de áreas con huevos de *Toxocara canis*. Entre diciembre del 2005 y marzo del 2006, se obtuvieron 96 muestras de 25g de tierra de 12 patios de casas particulares de la ciudad de Valdivia que tenían perras y cachorros, utilizando simultáneamente los cuatro sistemas de muestreo. Las muestras de tierra fueron procesadas en el Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Austral de Chile.

Todos los patios de casas particulares estaban contaminados con huevos de *T. canis*. Del total de muestras analizadas, 92 (95,8%) resultaron positivas a huevos de *T. canis*. De los cuatro sistemas empleados el que más difirió ($p = 0,13$) fue el sistema 1. Los sistemas 2, 3 y 4 no mostraron diferencias significativas entre si ($p > 0,15$). Se decide seleccionar el sistema 4 como el más representativo, por ser el que más se acercó al 100% de los huevos recuperados.

La mayor recuperación de huevos de *T. canis* se encontró en las casas con una perra con más de seis crías no desparasitadas y con libre acceso a la calle.

Palabras claves: *Toxocara canis*, huevos, muestreo, tierra.

2. SUMMARY

COMPARISON OF FOUR SOIL SAMPLING SYSTEMS TO DETERMINE THE CONTAMINATION OF AREAS WITH *Toxocara canis*. EGGS.

There were compared four soil sampling systems to determine which is the most representative of the contamination of areas with *Toxocara canis* eggs. Between December 2005 and March 2006, 96 samples were obtained of 25g of soil of 12 courtyards of Valdivia city that had bitches and puppies, using simultaneously all four sampling systems. The soil samples were processed in the Veterinary Parasitology Laboratory of the Universidad Austral de Chile.

All the courtyards were contaminated with *T. canis* eggs. Of the total of analyzed samples, 92 (95.8%) turned out to be positive to eggs of *T. canis*. Of the four used soil sampling systems the one that more differed ($p = 0.13$) it was the system 1. The systems 2, 3 and 4 did not show significant differences between them ($p > 0.15$). It is decided to select to select system 4 like the most representative, for being the one that more approached 100 % of the recovered eggs.

The greater eggs recovery of *T. canis* of find in the houses with one bitch with more than six puppies without antihelminthic treatment and free access to the streets.

Key words: *Toxocara canis*, eggs, soil, sampling system.

3. INTRODUCCIÓN

3.1. ANTECEDENTES GENERALES

El perro (*Canis familiaris*) desempeña un papel importante en la transmisión de diversos organismos patógenos para el hombre, destacando las zoonosis parasitarias. La importancia que tienen, justifica todos los esfuerzos destinados a aclarar sus aspectos epidemiológicos. La contaminación de los suelos de los parques y jardines por formas de dispersión parasitaria, constituye uno de los factores epidemiológicos más importantes para la transmisión de ciertas parasitosis (Toledo y col 1994). Entre ellas está la toxocariosis causada por los nemátodos *Toxocara canis* y *Toxocara cati*, parásitos de alta prevalencia en caninos y felinos (Degregorio y col 1997).

Las hembras del parásito adulto miden entre 9 y 18 cm de largo y los machos, entre 4 y 10 cm. El 99,4% de los perros recién nacidos, alrededor de 40% de los perros o perras menores de 6 meses y 20% de los perros mayores de 6 meses están infectados (Barriga 1988). En los cánidos mayores a 6 meses el parásito se encuentra en forma de larvas enquistadas en algún tejido de su organismo. Estas larvas en reposo dentro de una perra madre se activan durante las gestaciones, y migran a través de la placenta a los hígados de los fetos. El paso por los pulmones y la llegada al intestino tiene lugar sólo después del nacimiento de los cachorros (Mehlhorn y col 1993). Esta infección prenatal es la forma más común y la más importante para el parásito porque asegura su presencia en prácticamente todos los cachorros antes de nacer. Además, las larvas activadas pasan a la glándula mamaria de la perra y se agrega la infección lactogénica de los neonatos exentos de inmunidad. Los parásitos maduran rápidamente a adultos en el intestino de los cachorros, y a las 3 o 4 semanas de vida empiezan a aparecer masivamente los huevos del parásito en sus heces (Rommel y col 2000). Sprent y English (1958) describen que se pueden encontrar hasta 15.000 huevos por gramo de excrementos. El promedio de vida de *T. canis* en el intestino de los cachorros es de cerca de cuatro meses, luego la mayoría de los parásitos adultos son expulsados espontáneamente (Acha y Szyfres 2003). En este ciclo, son los cachorros desde las tres semanas de vida hasta los 6 a 7 meses de edad los principales eliminadores (contaminantes) del medio externo con huevos del parásito. Los huevos de *T. canis* son muy resistentes a los factores ambientales y pueden mantenerse viables por varios meses e incluso por años (Salinas y col 1987, Armstrong 2003). Estos huevos, casi esféricos, de 75 x 90 µm, tienen una capa mamelonada que originariamente contienen un cigoto (Thienpont y col 1979). Bajo condiciones favorables, de temperatura, humedad, oxígeno y en ausencia de luz solar directa, se desarrolla una larva en el interior de los huevos.

La alta prevalencia de *T. canis* en cachorros de perros y el gran número de huevos que éstos parásitos eliminan por medio de las heces, provocan una enorme contaminación del lugar en que se encuentran los cachorros. El hombre adquiere la infección por la ingestión accidental de los huevos larvados (L 3) del parásito (Castillo y col 2000); las larvas se liberan en su

estómago e intestino y por vía sanguínea se localizan en todos sus órganos, de preferencia el hígado y los pulmones, pero también cerebro, ojo, etc. Estas larvas causan inflamaciones granulomatosas crónicas que dan origen a un cuadro clínico llamado “larva migrante visceral”, prevalente sobre todo en los niños (Barriga 1988, 2002). La forma ocular es la más fácil de diagnosticar y se presenta generalmente en niños causando disminución progresiva de la visión o su pérdida repentina (Acha y Szyfres 2003). La enfermedad se ha diagnosticado en 48 países diferentes, con un total de 1900 casos humanos (Velarde y col 1999). Por ello se considera importante conocer, en los lugares donde confluye el hombre y los perros, el grado de contaminación del suelo con los huevos del parásito (Fonrouge y col 2000).

A nivel mundial, la mayoría de las investigaciones se refieren a la contaminación de parques, plazas, paseos públicos y aceras. Se encontraron prevalencias de huevos de *Toxocara sp* bajas de entre un 5% y un 20% (Dubin y col 1975, Pegg 1975, Viens 1977, Barriga 1988, Fonrouge y col 2000), medianas de 21% a 50% (Borg y Woodruff 1973, Dada y Lindquist 1979, Bozdech 1981, Deumer 1984, Toledo y col 1994, Velarde y col 1999, Mizgaska 2001) y altas de 51% a 100% (Düwel 1984, Uga, 1993, Costa Cruz y col 1994, Ruiz de Ybáñez y col 2001, Canese y col 2003).

En Chile, también se han realizado estudios tanto en áreas públicas, como en animales y humanos. Salinas y col (1987) examinó 28 muestras de tierra de diferentes zonas en la ciudad de Santiago, encontrando un 10,7% de muestras positivas. Una cifra similar fue encontrada en la ciudad de Temuco en donde se detectó un prevalencia de huevos de *T. canis* de un 12,4% en parques y plazas públicas (Armstrong 2003). Por otro lado, la infección en la población canina se constata en estudios coproparasitológicos, encontrándose 13,5 % de huevos de *Toxocara* en muestras fecales de 84 plazas y 12 parques públicos en la ciudad de Santiago (Castillo y col 2000). Estos resultados concuerdan con las prevalencias encontradas en perros de la misma ciudad, de 25% (Tagle 1962, Arias 1974), y de 23,18% (Alcaíno y Tagle 1970). En Valdivia, entre 10,7 y 13,5% de perros necropsiados tenían el parásito (Torres y col 1974, Oberg y col 1979). En poblaciones ribereñas de la cuenca del río Valdivia se señalan prevalencias de 19% a 65,1% para *T. canis* en perros y 70% para *T. cati* en gatos (Torres y col 1995).

Los datos antes expuestos indican el alto riesgo de las personas de adquirir la parasitosis al ingerir los huevos de *Toxocara*, sobre todo en los primeros años de la infancia, además el incremento del número de perros que son mantenidos como mascotas y la disminución del espacio en que son mantenidos aumentaría el contacto con el hombre (Barriga 1991).

En Santiago de Chile se encontró que la población humana adulta estaba serológicamente positiva a infección por *Toxocara sp* en un 8,3% (Herskovic y Astorga 1985). En Valdivia, 3,9% de los donantes de sangre de la ciudad y 12,1% de los donantes provenientes de otras localidades de la provincia, mostraron anticuerpos anti- *Toxocara* (Navarrete y Rojas 1998). Ésto sugiere que la infección puede estar ampliamente distribuida en el país y que tiene una importancia creciente e insospechada (Herskovic y Astorga 1985).

El control de la infección es difícil, de manera que esto se debe conseguir a través de la educación sobre el ciclo de vida de los parásitos e higiene y tratamientos antihelmínticos periódicos a las mascotas (Velarde y col 1999). La principal fuente de infección para el ser humano se produce por medio de la ingesta de tierra procedente de manos contaminadas, o por onicofagia y/o geofagia (Salinas y col 1987). La probabilidad de adquirir este parásito es alta, especialmente cuando se está en contacto con la tierra, los hábitos higiénicos son deficientes, el nivel sociocultural es bajo y la prevalencia de la infección en perros y gatos es elevada (Vásquez y col 1996).

3.2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

La presencia de los parásitos en los animales es relativamente fácil de comprobar a través de los huevos del parásito en sus heces, pero es mucho más complejo verificar la existencia de esos huevos fuera del material fecal en el medio ambiente.

En primer lugar, para la extracción cuantitativa de huevos de *T. canis* de muestras de tierra, se ha implementado y probado una técnica en el Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Austral de Chile, con la cual se obtuvo un 52% de recuperación de huevos de *T. canis* de 25 g de muestras de tierra de tipo "Trumao", que es el tipo de suelo más frecuente en la Xª Región (Concha 2005). Si bien, la cantidad de huevos recuperados es dependiente de factores como la técnica utilizada, la textura del suelo, la temperatura ambiental (Salinas y col 1987) y la humedad relativa (Dada y Lindquist 1979, Ruiz de Ybáñez y col 2000), también es necesario determinar la forma o el sistema en que se toma la muestra de tierra para que sea representativa de una superficie en la cual se desea comprobar la presencia o ausencia de huevos de *T. canis*.

En segundo lugar, después de haber implementado y probado cuantitativamente la técnica para extraer los huevos de *T. canis* de muestras de tierra, nació la duda de cual es el sistema de obtención de las muestras de tierra más apropiado. Al respecto se encontró el sistema descrito por Fonrouge y col (2000) para la toma de muestras de tierra en áreas públicas que, si bien es dependiente del azar, difícilmente puede ser representativo de la real contaminación existente en dichas áreas. Como existen sistemas de muestreo de pasto de potreros que determinan su contaminación con larvas de nemátodos parásitos, se eligieron tres de ellos (Lancaster 1970, Kloosterman 1971 y Sievers 1973) y se adaptaron para tomar muestras de tierra sobre una superficie determinada.

El objetivo del presente estudio fue determinar un sistema de muestreo que represente mejor la contaminación natural de una superficie de tierra con huevos de *T. canis*.

4. MATERIAL Y METODOS

El estudio fue realizado en la ciudad de Valdivia entre diciembre del 2005 y marzo del 2006. Se recolectaron muestras de tierra de 12 patios de casas particulares en que, como requisito, debían existir perras con cachorros. En cada uno de los 12 patios se determinó el área en que se encontraban preferentemente los cachorros y se aplicaron simultáneamente los siguientes cuatro sistemas de muestreo:

- Sistema 1: el área se dividió en 6 sectores iguales de los cuales se eligieron 2 al azar; luego en cada uno de los dos sectores elegidos se determinó, también al azar, 1 superficie de 100 cm² y se obtuvo toda la tierra hasta 2 a 3 cm de profundidad (Fonrouge y col 2000).
- Sistema 2: en el área a muestrear se distribuyeron 20 puntos de recolección sobre cada uno de dos recorridos en forma de “reloj de arena” perpendiculares entre si (Anexo 1). Este sistema se adaptó de un sistema para muestrear pasto de un potrero descrito por Lancaster (1970).
- Sistema 3: en el área a muestrear se distribuyeron 20 puntos de recolección sobre cada una de las dos diagonales, “X” (Anexo 2). Adaptación de un sistema para muestrear pasto de un potrero descrito por Kloosterman (1971).
- Sistema 4: en el área a muestrear se distribuyeron 20 puntos de recolección sobre cada uno de dos recorridos en “V” contrapuestos (Anexo 3). Adaptación de un sistema para muestrear pasto de un potrero descrito por Sievers (1973).

En cada punto de muestreo de los 3 últimos sistemas, se recogió con una cuchara metálica 2 a 3 g de tierra, formando una muestra acumulativa de aprox. 50 g en cada recorrido. Los 20 puntos de muestreo fueron determinados proporcionalmente al tamaño del área muestreada. Las 2 muestras acumulativas (a y b) de tierra obtenidas con cada sistema de muestreo fueron guardadas en bolsas autosellantes de polietileno (10 x 16 cm x 0,1 mm espesor) debidamente identificadas. Las muestras se procesaron en el Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Austral de Chile mediante la técnica de Horn y col (1990) modificada por Concha (2005).

Técnica modificada por Concha (2005): Todo el material de vidrio o de plástico que entró en contacto con huevos de *T. canis*, se cubrió con una leve capa de silicona. Las partes gruesas de las muestras de tierra se separaron mediante un cernidor metálico con una apertura de malla de 2 mm (también siliconizado previamente). De la tierra obtenida se pesaron 25 g mediante una balanza electrónica (Sartorius, 1413) y se colocaron en bolsas de plástico autosellantes. Los pasos de la técnica son los siguientes:

- Paso 01. A cada bolsa con 25 g de tierra tipo "Trumao", se le agregó 75 ml de solución de detergente industrial aniónico ácido Quix ® (8,3 ml detergente en 500 ml de agua).
- Paso 02. Las bolsas se sellaron, dejando en su interior una pequeña cantidad de aire.

- Paso 03. Las bolsas se lavaron durante 15 minutos en una máquina lavadora programada para lavar lana.
- Paso 04. El contenido de cada bolsa se vació en un tubo de centrifuga de 100 ml. Se agregó agua y con una cucharilla se homogenizó el contenido en forma manual.
- Paso 05. Se centrifugó 3 minutos a 750 G, y luego se eliminó el sobrenadante.
- Paso 06. Se agregó la solución de Sulfato de Zinc (densidad 1,38 a 25 °C) al sedimento y nuevamente se homogenizó en forma manual.
- Paso 07. Se dejó reposar 15 minutos para que flotaran los huevos de *T. canis*.
- Paso 08. Sobre el borde del tubo de centrifuga, se colocó un portaobjetos y se llenó el vaso con la solución de Sulfato de Zinc hasta que topó el portaobjetos.
- Paso 09. Pasados 30 minutos se extrajo mediante una pipeta parte de la suspensión del fondo del tubo de centrifuga hasta que se desprendió el menisco del portaobjetos.
- Paso 10. Se levantó e invirtió el portaobjetos, donde debían encontrarse adheridos los huevos de *T. canis*, y se cubrió la muestra con un cubreobjetos.
- Paso 11. Se colocó un segundo portaobjetos y se llenó nuevamente el tubo con solución de Sulfato de Zinc, para obtener una segunda flotación de los huevos de *T. canis*.
- Paso 12. Las 2 preparaciones se observaron al microscopio y se contaron los huevos encontrados que se expresaron en "huevos por 25 g de tierra" (hp25gt).

Análisis de los resultados

El análisis de los datos se realizaron con el programa Statistix 8 (2003). Se verificó la normalidad de los datos mediante el test Shapiro Wilk y la homoscedasticidad de varianzas con el test de Bartlett aplicado a cada sistema de muestreo. Los datos crudos no cumplieron los supuestos para utilizar estadística paramétrica, por lo que los valores de huevos de *T. canis* se transformaron a logaritmo, con lo que se cumplió la normalidad y homoscedasticidad. Luego se realizó un ANOVA de una vía para evaluar las diferencias en el promedio de recolección de huevos mediante los 4 sistemas de muestreo de tierra. Para determinar el nivel de confianza se utilizó el programa Win Episcope 2.0. 1998*. Para determinar entre que grupos estaban las diferencias se utilizó el test de Tukey. Además se utilizó la matriz de Pearson para medir la correlación de la recolección de huevos y evaluar resultados similares entre los sistemas.

Para poder elegir el sistema de muestreo a utilizar como el más representativo de la contaminación de un área con huevos de *T. canis*, se transformaron todos los datos obtenidos en cada patio a porcentaje, considerando el promedio como el 100%. El promedio del sistema que más se acercó al 100% se tomó como el más representativo.

Información adicional: Para cada propietario de cada una de las casas en que se muestrearon los patios se abrió una ficha en que se identificó nombre, dirección, animales, su manejo, características del lugar, etc. (Anexo 4).

* Win Episcope 2.0. 1998. Proyecto CONS I+D P50/98.

5. RESULTADOS

Se constató la presencia de contaminación ambiental con huevos de *T. canis* en todos los patios de casas particulares analizados. De 96 muestras procesadas, 92 (95,8%) resultaron positivas para *T. canis*, variando de 1 a 72 hp25gt.

En la Tabla 1 se puede observar que con el Sistema 2 (Lancaster) se obtuvo el mayor promedio de huevos (17,9 hp25gt) y con el Sistema 1 (Fonrouge) el menor número (6,2 hp25gt). De los cuatro sistemas se diferenció el Sistema 1 ($p = 0,13$). Los otros tres sistemas no se diferenciaron estadísticamente entre sí ($p > 0,15$). En la Figura 1, del gráfico de cajas y bigotes, se expresa la forma de la distribución de los recuentos de huevos de los diferentes sistemas. En él se corrobora la diferencia en cuanto al promedio de recuento y su dispersión respecto a los otros 3 sistemas de muestreo. Al realizar el ANOVA con los promedios obtenidos mediante los 4 sistemas en los 12 patios, se observaron diferencias significativas con un nivel de confianza de 87%. Si se aumentara el número de patios de casas particulares muestreados de 12 a 30 y se mantienen las diferencias en los promedios, se podría aumentar el poder de la prueba y alcanzar un nivel de confianza de un 95%.

Mediante el análisis de Tukey no se encontró diferencia entre los sistemas 2, 3 y 4 ($p = 0,15$). No se encontró correlación significativa ($p < 0,05$) entre el Sistema 1 y los otros tres sistemas. Entre los Sistemas 2 y 3 hay una alta correlación (0,9244), y se encontró una correlación moderada entre el Sistema 4 con los Sistemas 2 y 3 (0,6757 y 0,6566 respectivamente).

Bajo éstos análisis estadísticos se decide excluir el Sistema 1 por ser el que más difiere en el parámetro de la característica estudiada (contaminación natural de una superficie de tierra con huevos de *T. canis*).

En la Tabla 2 se presentan los 3 sistemas más homogéneos en cuanto el promedio de recuperación de huevos de *T. canis*. La dispersión de los valores con respecto al promedio fue menor con el Sistema 4.

En la Tabla 3 se presentan los resultados de la recuperación de huevos de *T. canis* expresados en porcentaje en relación al promedio obtenido en cada uno de los patios con los Sistemas 2, 3 y 4. El Sistema 4 fue el más cercano al 100%.

Según la información adicional incluida (Anexo 4), utilizando los 4 sistemas de muestreo de tierra, en las casas con 1 perra y con mayor número de crías (6 a 10) se encontró el promedio de huevos de *T. canis* más alto. Promedios considerablemente mayores se encontraron en las casas en que las camadas de cachorros no habían sido desparasitadas y en las casas en que los perros tenían libre acceso a la calle (Tabla 4).

Tabla 1

Huevos de *Toxocara canis* recuperados de 25 g de tierra (hp25gt) mediante cuatro sistemas de muestreo en 12 patios de casas.

		Pacios de casas particulares													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
		hp25gt												Promedio	E. E.
Sistema 1	a	11	2	4	13	1	2	9	1	5	16	3	2		
	b	13	10	5	35	1	1	8	0	4	0	3	0	6,2	7,7
Sistema 2	a	18	25	14	57	10	1	14	43	3	2	2	2		
	b	26	72	6	57	11	8	11	27	4	4	7	5	17,9	20,0
Sistema 3	a	20	21	35	17	4	6	6	13	2	5	6	2		
	b	21	34	3	52	9	6	1	38	4	0	4	3	13,0	14,0
Sistema 4	a	42	18	8	21	7	2	6	38	9	2	2	23		
	b	27	7	15	57	1	6	6	36	7	4	3	19	15,3	15,1
Promedios		22,3	23,6	11,3	38,6	5,5	4,0	7,6	24,5	4,8	4,1	3,8	7,0		
D.E.		9,7	22,1	10,6	19,4	4,3	2,8	3,9	17,4	2,3	5,1	1,8	8,8		

E.E. = Error Estándar

a y b = dos muestras acumulativas de cada uno de los sistemas de muestreo

Tabla 2

Huevos de *Toxocara canis* recuperados de 25 g de tierra (hp25gt) mediante los tres sistemas de muestreo que no se diferencian.

		Pacios de casas particulares													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
		hp25gt												Promedio	E.E.
Sistema 2	a	18	25	14	57	10	1	14	43	3	2	2	2	17,9	20,0
	b	26	72	6	57	11	8	11	27	4	4	7	5		
Sistema 3	a	20	21	35	17	4	6	6	13	2	5	6	2	13,0	14,0
	b	21	34	3	52	9	6	1	38	4	0	4	3		
Sistema 4	a	42	18	8	21	7	2	6	38	9	2	2	23	15,3	15,1
	b	27	7	15	57	1	6	6	36	7	4	3	19		
Promedios		25,7	29,5	13,5	43,5	7,0	4,8	7,3	32,5	4,8	2,8	4,0	9,0		
D.E.		8,7	22,6	11,5	19,1	3,8	2,7	4,5	10,9	2,6	1,8	2,1	9,4		

E.E. = Error Estándar

a y b = dos muestras acumulativas de cada uno de los sistemas de muestreo

Tabla 3

Porcentajes de huevos de *Toxocara canis* recuperados de 25 g tierra (%) mediante los tres sistemas de muestreo que más se asemejan relativos al promedio obtenido en cada uno de los 12 patios de casas particulares.

		Patios de casas particulares													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Prom.	E.E.
		%													
Sistema 2	a	70,1	84,7	103,7	131,0	142,9	20,7	190,9	132,3	62,1	70,6	50,0	22,2	108,8	56,4
	b	101,3	244,1	44,4	131,0	157,1	165,5	150,0	83,1	82,8	141,2	175,0	55,6		
Sistema 3	a	77,9	71,2	259,3	39,1	57,1	124,1	81,8	40,0	41,4	176,5	150,0	22,2	86,6	59,4
	b	81,8	115,3	22,2	119,5	128,6	124,1	13,6	116,9	82,8	0,0	100,0	33,3		
Sistema 4	a	163,6	61,0	59,3	48,3	100,0	41,4	81,8	116,9	186,2	70,6	50,0	255,6	104,5	59,1
	b	105,2	23,7	111,1	131,0	14,3	124,1	81,8	110,8	144,8	141,2	75,0	211,1		
Prom de hp25gt por patio		25,7	29,5	13,5	43,5	7,0	4,8	7,3	32,5	4,8	2,8	4,0	9,0		
% por patio		100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0		

E.E. = Error Estándar

a y b = dos muestras acumulativas de cada uno de los sistemas de muestreo

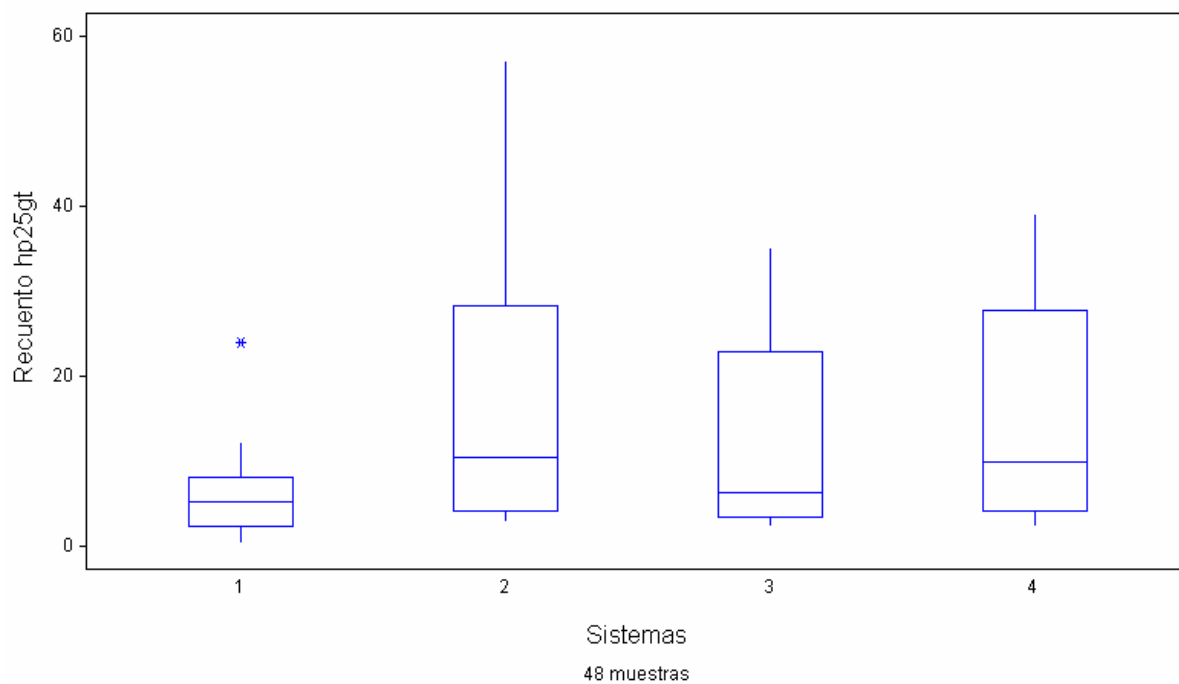


Figura N°1: Análisis descriptivo mediante gráfico de cajas y bigotes, del recuento de huevos de *Toxocara canis* en 25 g de tierra (hp25gt) en los 12 patios de casas particulares, mediante los cuatro sistemas de muestreo.

Tabla 4

Información adicional registrada en cada una de las casas y promedios de hp25gt de *Toxocara canis* mediante los 4 sistemas de muestreo.

Datos		N° casas	Prom hp25gt
N° perras adultas	1	8	14,7
	2	4	9,8
N° crías	1 a 5	4	13,8
	6 a 10	8	16,2
Edad crías en semanas	< 6	4	15,6
	8 a 12	5	16,3
	12 a 16	3	13,5
Camada desparasitada		4	4,2
Camada no desparasitada		8	17,5
Sin acceso a la calle		8	12,5
Con acceso a la calle		4	21,2

6. DISCUSIÓN

El método empleado extrae probadamente 52% de los huevos de *T. canis* de muestras de tierra (Concha 2005) y por ello puede considerarse como muy sensible para determinar la contaminación de un área.

De los cuatro sistemas empleados para evaluar la contaminación de tierra con huevos de *T. canis*, se observó que el Sistema 1 (Fonrouge y col 2000) es el que menos representa la contaminación de las áreas muestreadas (Tabla 1). Ello no concuerda con Armstrong (2003) que indica que después de hacer un chequeo en el que comparó diferentes sistemas para recuperar huevos de muestras de tierra, comprobó que el sistema descrito por Fonrouge y col (2000) lograba la mayor recuperación cuantitativa de los huevos, pero no hace mención de los otros sistemas. En el presente estudio con el Sistema 1 se obtuvo el menor número de muestras positivas con el promedio de huevos más bajo y el error estándar más alto. Adicionalmente hubo una marcada diferencia entre las cantidades de huevos encontradas entre las dos muestras acumulativas obtenidas en casi todas las áreas muestreadas; un ejemplo extremo es el hallazgo en el patio de la casa N° 10 en que, en una de las muestras había 16 hp25gt y la otra muestra estaba negativa. Como con este sistema sólo se muestrean dos puntos del área, es muy probable que se muestreó justo un lugar en que había defecado un cachorro y en el otro no. Desde el punto de vista estadístico el Sistema 1 se diferenció con un $p = 0,13$ de los otros tres sistemas. Para aumentar el poder de la prueba y tener mas probabilidad de obtener una diferencia significativa con una confiabilidad de 95% se estimó que debía aumentarse a lo menos a 30 el número de áreas muestreadas, pero se consideró que ello no tenía mucho sentido. Por todas las razones enumeradas se decidió descartar el Sistema 1 como apto para determinar la contaminación con huevos de *T. canis* de superficies de tierra.

Al analizar los Sistemas 2, 3 y 4 (que son los más similares), se observó que las diferencias entre los tres eran mínimas y que estadísticamente no había diferencia entre ellos ($p > 0,15$); para encontrar diferencias entre ellos se calculó que era necesario muestrear sobre 1800 áreas de tierra lo cual tiene menos sentido que aumentar el número de áreas para descartar el Sistema 1. Sin embargo, el Sistema 3, de las diagonales de Kloosterman (1971), fue el que logró la menor recuperación cuantitativa de huevos. Este sistema fue utilizado por Acevedo (1976) para muestrear praderas en búsqueda de larvas de nemátodos tricostrongilidos del bovino y encontró que era el sistema más representativo de la contaminación de las pasturas y que además, era el más sencillo y rápido de realizar. Por otro lado, con el Sistema 2 se recuperó en promedio la mayor cantidad de huevos. Esto se podría explicar porque los puntos de recolección privilegian los bordes del área muestreada (Anexo 1), y es probable que los cachorros prefieran los bordes de las áreas en que se encuentran para defecar. Este sistema se caracteriza además por ser complejo en la distribución de los puntos de muestreo sobre las áreas, lo que lo hace menos recomendable para usarlo en terreno.

Tras un análisis de conjunto de los resultados se decide seleccionar el Sistema 4 como el más representativo para establecer la contaminación natural de una superficie de tierra con

huevos de *T. canis*, pues es el que más se acerca al 100% del total de huevos recuperados (Tabla 3), tiene el menor error estándar (Tabla 2) y el trazado de los puntos de recolección es simple y rápido de realizar (Anexo 3).

Del total de 72 muestras de tierra acumulativas tomadas con los Sistemas 2, 3 y 4, sólo una estaba negativa a huevos de *T. canis*. El 100% de los patios estaban positivos, y en cuatro de ellos las cantidades encontradas de huevos fueron relativamente altas; esto último se trató de relacionar con la información adicional registrada en cada una de las casas en donde se recolectaron muestras (Anexo 4), y se constató que la mayor contaminación con huevos de *T. canis* (Tabla 4) se encontró en aquellas áreas (patios) en que tenían 1 perra adulta con un número superior a 6 crías menores de 6 meses que son las que más contaminan el ambiente con huevos del parásito (Barriga 1991). Igualmente coincidió que eran las casas en que las camadas no habían recibido un tratamiento antiparasitario. Según Boch y Supperer (1992) el tratamiento antihelmíntico más adecuado debe efectuarse antes de cumplir las 3 semanas de vida de los cachorros. Finalmente, los lugares muestreados en donde los perros tenían libre acceso a la calle presentaron mayores índices de contaminación; ello podría deberse al libre ingreso de perros vagos a dichos domicilios o a una mayor infección de las perras madres en los lugares públicos. Estos resultados apuntan a un problema de salud pública, y cabe preguntarse cual sería la cantidad de personas afectadas por la toxocariosis y cuales serían sus manifestaciones clínicas en la población. La importancia de esto es que un mínimo de 7% de infestación por *T. canis* en cualquier población de perros constituye un riesgo para la aparición del síndrome de *larva migrans visceral* (Lamina 1974).

Los porcentajes de muestras positivas a huevos de *T. canis* obtenidos mediante los tres sistemas 2, 3 y 4 (98,6%), encontradas en este estudio difieren totalmente de los descritos por Alonso y col (2001) que encontraron sólo un 1,2% de muestras positivas en jardines de casas de Argentina, y con Vásquez y col (1996) que describe un 16,7% en jardines particulares en la ciudad de México. Estas diferencias podrían deberse a que se usaron sistemas diferentes para recolectar las muestras del suelo y métodos diferentes para el procesamiento de las muestras. En cambio las prevalencias altas registradas en Japón 92% (Uga 1993), Alemania 87% (Düwel 1984) y España 67% (Ruiz de Ybáñez y col 2001), son más parecidas a las halladas en el presente estudio, pero no son comparables, ya que fueron realizados en parques y plazas públicas.

Son diversos los factores que pueden influir en los resultados de la recuperación de huevos de *T. canis* del suelo, entre ellos están: el lugar de selección de la muestra, número y volumen de muestra, la temperatura y humedad del suelo, pluviosidad (Laird y col 2000), la textura del suelo (Nunes y col. 1994), el grado de contaminación de éste, el procedimiento de laboratorio empleado (Mizgajska 2001), y nivel socioeconómico del lugar muestreado (Velarde y col. 1999). En relación a este último factor, todas los patios muestreados correspondían a casas de sectores de un nivel económico medio a bajo que generalmente no realiza un control veterinario adecuado de sus mascotas. En Valdivia podría ser un factor de importancia la cantidad de lluvia caída en los meses de otoño e invierno.

Previamente se habían realizado en el país estudios para determinar la contaminación de áreas públicas con huevos de *Toxocara sp.* (Neghme y col 1955, Torres y col 1974, Alcaíno y Tagle 1970, Oberg y col 1979, Salinas y col 1987, Torres y col 1995, Castillo y col 2000, Armstrong 2003). Este es el primer estudio realizado en patios de casas particulares partiendo del supuesto que es en esos lugares donde se encuentran las mayores contaminaciones y el mayor riesgo de infección con *T. canis* para el humano.

Esta línea de trabajo tiene como propósito entregar mayores antecedentes a las autoridades sanitarias del país para que se tomen medidas preventivas que deberían incluir: control de la población de perros sin dueños, reducir la contaminación ambiental con huevos mediante la desparasitación estratégica, eliminación correcta de heces de perros tanto en domicilios como en lugares públicos, limitar el contacto de los niños con áreas contaminadas e implementar programas de educación sanitaria a la comunidad.

Conclusiones:

- El Sistema 1 se diferenció estadísticamente de los otros 3 sistemas.
- Los Sistemas 2, 3 y 4 no mostraron diferencias significativas entre si.
- En todos los patios de casas particulares se constató contaminación con huevos de *T. canis*.
- Se obtuvo mayor recuperación de huevos de *T. canis* en aquellos patios de casas con 1 perra con más de 6 crías que no habían sido desparasitadas y que tenían libre acceso a la calle.

7. BIBLIOGRAFÍA

Acevedo M. 1976. Comparación de dos técnicas de laboratorio y cuatro sistemas de muestreo de praderas para determinar cuantitativamente la contaminación por larvas infestantes de tricostrongilidos del bovino. *Tesis M.V.*, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile.

Acha P, B Szyfres. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. *O.P.S Washington DC Publicación Científica* 580, pp. 305-311.

Alcaíno H, I Tagle. 1970. Estudios sobre enteroparasitosis del perro en Santiago. *Bol Chil Parasitol* 25, 5-8.

Alonso J, M Stein, M Chamorro, M Bojanich. 2001. Contamination of soils with eggs of *Toxocara* in a subtropical city in Argentina. *J Helminthol* 75, 165-168.

Arias J. 1974. Contribución al estudio de los metazoos parásitos del perro. *Agri Tec* 4, 59-71.

Armstrong W. 2003. Presencia de parásitos del perro (*Canis familiaris*) en parques y plazas públicas de la ciudad de Temuco, IX Región, Chile. *Tesis M.V.*, Facultad de Acuicultura y Ciencias Veterinarias, Universidad Católica de Temuco.

Barriga O. 1988. A critical look at the important, prevalence and control of toxocariasis and the possibilities of immunological control. *Vet Parasitol* 29, 195-234.

Barriga O. 1991. Rational control of canine toxocariasis by the Veterinary practitioner. *J Am Vet Med Assoc* 198, 216-221.

Barriga O. 2002. Las enfermedades parasitarias de los animales domésticos de la América latina. Editorial Germinal. Santiago, Chile.

Boch J, R Supperer. 1992. Parasitología en Medicina Veterinaria. Editorial Hemisferio Sur S.A., Buenos Aires.

Borg O, A Wooddruff. 1973. Prevalence of infective ova of *Toxocara* species in public places. *Br Med J* 4, 470-472.

Bozdech V. 1981. Zur Larven-Toxocarose des Menschen. I. Eifunde in Prager Parkanlagen. *Angew Parasitol* 22, 71-77.

Canese A, R Domínguez, C Otto, C Ocampos, E Mendonca. 2003. Huevos infectivos de *Toxocara*, en arenas de plazas y parques de Asunción, Paraguay. *Rev Chil Pediatr* 74, 611-616.

Castillo D, C Paredes, C Zañartu, G Castillo. 2000. Contaminación ambiental por huevos de *Toxocara sp.* en algunas plazas y parques públicos de Santiago de Chile. 1999. *Bol Chil Parasitol* 55, 86–91.

Concha C. 2005. Implementación y prueba de un método para obtener huevos de *Toxocara canis* en muestras de tierra. *Memoria de Título*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile.

Costa Cruz J, R Nunes, A Buso. 1994. Presença de ovos de *Toxocara spp.* em praças públicas da cidade de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 36, 39-42.

Dada B, W Lindquist. 1979. Prevalence of *Toxocara spp.* eggs in some public grounds and highway rest areas in Kansas. *J Helminthol* 53, 145–146.

Degregorio O, I Sommerfelt, A Cousandier, C López, A Franco. 1997. Evolución de huevos de *Toxocara canis* a su estado infectante. *Avances en Ciencias Veterinarias* 2, 101–102.

Deumer R. 1984. Untersuchungen über den Endoparasitenbefall von Hunden in München. Die Kontamination von öffentlichen Sandspielplätzen mit parasitären Entwicklungsstadien und ihr Verhalten gegenüber Umwelteinflüssen. *Tesis Dr. med. vet.*, Tierärztliche Hochschule Hannover, Alemania.

Dubin S, S Segall, J Martindale. 1975. Contamination of soil in two city parks with canine nematode ova including *Toxocara canis*, a preliminary study. *Am J Public Health* 65, 1242–1245.

Düwel D. 1984. The prevalence of *Toxocara* eggs in the sand in children's playgrounds in Frankfurt. *J Am Vet Med Assoc* 174, 1208-1210.

Fonrouge R, M Guardis, N Radman, S Archelli. 2000. Contaminación de suelos con huevos de *Toxocara sp.* en plazas y parques públicos de la ciudad de la Plata. Buenos Aires, Argentina. *Bol Chil Parasitol* 55, 83-85.

Herskovic P, B Astorga. 1985. Toxocariasis humana en Chile. *Rev Med Chile* 113, 18-221.

Horn K, T Schnieder, M Stoye. 1990. Quantitative comparison of various methods for detecting eggs of *Toxocara canis* in samples of sand. *J Vet Med B* 37, 241–250.

Kloosterman A. 1971. Observation on the epidemiology of trichostrongylosis of calves. H. Veenman y Zonen. N.W. Wageningen.

Laird R, D Carvallo, E Reyes, R García, V Prieto. 2000. *Toxocara sp.* en parques y zonas públicas de Ciudad de la Habana, 1995. *Rev Cubana Hig Epidemiol* 38, 112-116.

Lamina J. 1974. Inmunodiagnosis of “visceral larva migrans” in man. Soulsby E.J.L. Parasitic Zoonosis. Clinical and Experimental Studies. Academic Press Inc. New York.

Lancaster M. 1970. The recovery of infective larvae from herbage samples. *J Helminthol* 44, 219-230.

Mehlhorn H, D Düwel, W Raether. 1993. Manual de parasitología veterinaria. Editorial Grass – Iatros. Bogotá. Colombia.

Mizgaska H. 2001. Eggs of *Toxocara* spp. in the environment their public health implications. *J Helminthol* 75, 147-151.

Navarrete N, E Rojas. 1998. Seroprevalencia de toxocarosis en donantes de sangre. *Arch med vet* 30, 153–156.

Nunes C, I Sinhorini, S Ogassawara. 1994. Influence of soil texture in the recovery of *Toxocara canis* eggs by flotation method. *Vet Parasitol* 53, 269–274.

Neghme A, G Rivera, M Álvarez. 1955. Algunas zoonosis parasitarias en perros vagos de la ciudad de Santiago. *Bol Chil Parasitol* 10, 73-75.

Oberg C, R Franjola, V Leyán .1979. Helmintos del perro doméstico en la ciudad de Valdivia, Chile. *Bol Chil Parasitol* 34, 21–26.

Pegg J. 1975. Dog roundworms and public health. *Vet Res* 97, 78.

Rommel M, J Eckert, E Kutzer, W Körting, T Schnieder. 2000. Veterinärmedizinische Parasitologie. Begründet von Josef Boch und Rudolf Supperer. 5. Aufl. Buchverlag Parey Berlin.

Ruiz De Ybáñez M, M Garijo, M Goyena, F Alonso. 2000. Improved methods for recovering eggs of *Toxocara canis* from soil. *J Helminthol* 74, 349–353.

Ruiz De Ybáñez M, M Garijo, F Alonso. 2001. Prevalence and viability of eggs of *Toxocara* spp. and *Toxascaris leonine* in public parks in eastern Spain. *J Helminthol* 75, 169–173.

Salinas P, L Reyes, M Sotomayor, T Letonja. 1987. Prevalencia de huevos de *Toxocara* sp. en algunas plazas públicas de la Región Metropolitana de Santiago, Chile. *Bol Chil Parasitol* 42, 33-36.

Sievers G. 1973. Methode zur Gewinnung von III. Strongylidenlarven aus dem Weidegras. *Tesis Dr. med. vet.*, Tierärztliche Hochschule Hannover.

Software Statistix 8. 2003. Start Soft Cop OK, Windows 2000.

Sprent J, P English. 1958. The large roundworms of dogs and cats. A Public Health problem. *Aust Vet J* 34, 161-171.

Tagle I .1962. Importancia del género *Toxocara*, en la producción del síndrome “larva migrans visceral”. *Bol Chil Parasitol* 17, 77–79.

Torres H, M Ramos, L Carrasco, M Neumann, R Franjola, N Navarrete, L Figueroa. 1974. Protozoos, helmintos y artrópodos parásitos del perro doméstico en la ciudad de Valdivia, Chile. *Bol Chil Parasitol* 29, 18–23.

Torres P, R Franjola, J Pérez, S Auad, C Hermosilla, L Flores, J Riquelme, S Salazar, J Miranda, A Montefusco. 1995. Geohelmintosis intestinales en el hombre y animales domésticos de sectores ribereños de la cuenca del río Valdivia, Chile. *Bol Chil Parasitol* 50, 57–66.

Thienpont D, F Rochette, O Vanparijs. 1979. Diagnose von Helmithosen durch Koproscopische Untersuchung. Janssen Research Foundation. Beerse Belgium.

Toledo S, F Hernández, A Del Castillo, P Arévalo, J Piñero, B Valladares. 1994. La contaminación parasitaria de parques y jardines como problema de salud pública. Datos de la Isla de Tenerife. *Rev San Hig Pub* 68, 617- 622.

Uga S. 1993. Prevalence of *Toxocara* eggs and number of faecal deposits from dogs and cats in sandpits of public parks in Japan. *J Helminthol* 67, 78-82.

Vásquez T, A Ruiz, I Martínez, P Merlín, J Tay, A Pérez .1996. Contaminación de suelos por huevos de *Toxocara* sp. en parques públicos y jardines de casa-habitación de la ciudad de México. *Bol Chil Parasit* 51, 54-58.

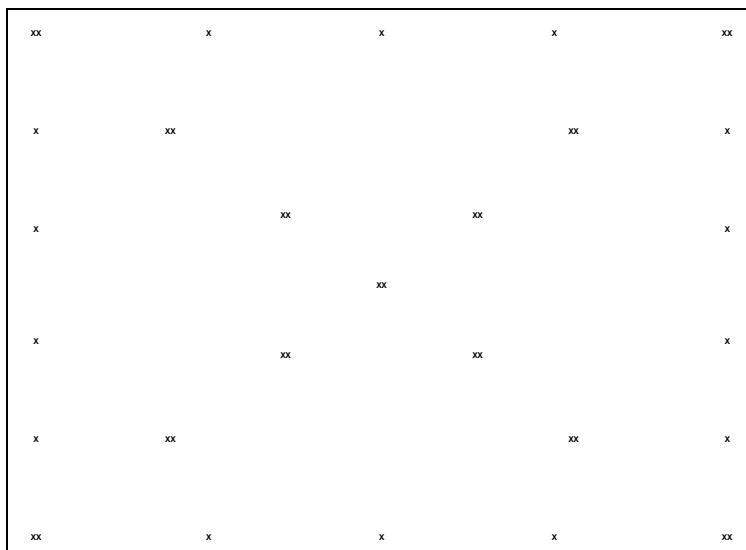
Velarde J, A Chávez, E Casas. 1999. Contaminación de los parques públicos de la provincia constitucional del Callao con huevos de *Toxocara spp*. *Rev Inv Vet Perú* 10, 12-15.

Viens P. 1977. Visceral larva migrans in Montreal: the tip of the iceberg. *Bordeaux Medical* 10, 697-698.

8. ANEXOS

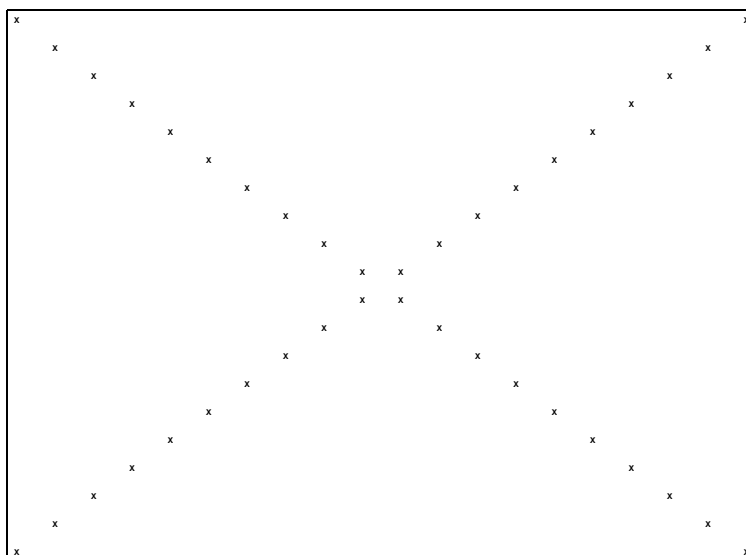
Anexo 1

Distribución de los puntos de muestreo del Sistema 2.



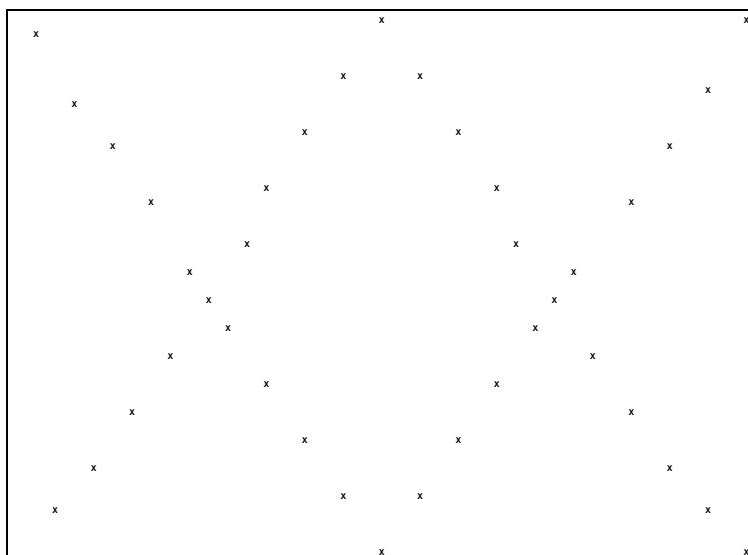
Anexo 2

Distribución de los puntos de muestreo del Sistema 3.



Anexo 3

Distribución de los puntos de muestreo del Sistema 4.



Anexo 4

Información adicional

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
INSTITUTO DE PATOLOGIA ANIMAL

FICHA DE IDENTIFICACIÓN

1. NOMBRE Y DIRECCION.....
.....

2. N° OCUPANTES DEL HOGAR.....

3. N° ADULTOS..... N° NIÑOS.....

4. N° PERRO (S)..... HEMBRA (S)..... MACHO(S).....

5. EDAD CRÍA (SEMANAS).....

6. N° CRIAS 1 - 5

 6 - 10

7. N° GATO (S).....

8. OTRO (S) ANIMAL (ES) SI NO

9. DESPARASITACION SI NO

10. PATIO CERRADO SI NO

10. OTROS.....

11. PLANO DOMICILIO

9. AGRADECIMIENTOS

En reconocimiento y gratitud a:

- Dr. Gerold Sievers, profesor patrocinante, por su dedicación, valiosa ayuda académica, buena voluntad y apoyo en la realización de mi Memoria.
- Médico Veterinario Paula Gädicke, por su paciencia y disposición en la enseñanza del método utilizado para el análisis estadístico de los datos.
- A Don Belisario Monsalve, “Don Beli”, por su buen humor y su ayuda desinteresada en el trabajo de laboratorio.
- A mis padres, hermana, Carlos y a mi hija Monserrat, por su cariño, constante incentivo y preocupación.
- A todas las personas, sin nombrar para no omitir a nadie, que de una u otra forma colaboraron desinteresadamente en la realización de este trabajo.