ARTÍCULO ORIGINAL

*Comparación de cuatro sistemas de muestreo de tierra para determinar contaminación de áreas con huevos de *Toxocara canis**

GEROLD SIEVERS*, ANDREA AMENÁBAR* y PAULA GÄDICKE**

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

*Four soil sampling systems were compared to determine the most representative system to find out the contamination of areas with *Toxocara canis* eggs. In January and February 2006 there were obtained simultaneously 8 accumulative soil samples in courtyards of 12 houses of the city of Valdivia with maintained bitches with puppies. The samples were processed in the Veterinary Parasitology Laboratory of the Universidad Austral de Chile. *T. canis* eggs were found in all courtyards areas. 92 of the analysed soil samples (95.8%) were positive. One of the sampling systems differed ($p = 0.13$) while the other three were similar ($p > 0.05$). One of them was choose because the recovery of *T. anis* eggs was nearly 100% of the mean found in every courtyard.*

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

INTRODUCCIÓN

En Chile, se han realizado estudios para determinar la contaminación de áreas públicas con huevos de *Toxocara* sp.¹⁻⁸. El presente trabajo tuvo por objeto determinar el sistema de muestreo de áreas que represente mejor su contaminación con huevos de *Toxocara canis*. Por ello se comparó un sistema descrito para la toma de muestras de tierra⁹ y tres sistemas descritos para la toma de muestras de pasto¹⁰⁻¹² que se adaptaron para obtener muestras de tierra.

MATERIAL Y MÉTODOS

En 12 patios de casas particulares de la ciudad

de Valdivia, Chile, en que habían perras con cachorros se obtuvo simultáneamente muestras de tierra mediante los siguientes cuatro sistemas de muestreo (Figura 1):

1) Sistema 1⁹: el área se divide en 6 sectores iguales de los cuales se toman 2 al azar; luego en cada sector se determina, también al azar, una superficie de 100 cm² y se obtiene toda la tierra hasta 2 a 3 cm de profundidad.

2) Sistema 2¹⁰: en el área a muestrear se distribuyen 20 puntos de recolección sobre dos recorridos en “N” con vuelta al punto de partida formando como un “reloj de arena”. Los dos recorridos son perpendiculares.

3) Sistema 3¹¹: en el área a muestrear se distribuyen 20 puntos de recolección sobre las dos diagonales, “X”.

* Laboratorio de Parasitología Veterinaria. Universidad Austral de Chile.

** Departamento de Patología y Medicina Preventiva, Universidad de Concepción.

4) Sistema 4¹²: en el área a muestrear se distribuyen 20 puntos de recolección sobre dos recorridos en “V” contrapuestos.

Cada punto de muestreo de los 3 últimos sistemas se determinó proporcionalmente según el tamaño del área; en cada punto se recogió con una cuchara 3 a 6 g de tierra para formar una muestra acumulativa de 50 a 60 g en cada recorrido. Con cada sistema se obtuvieron dos y en cada patio 8 muestras de tierra en 122 puntos de muestreo. Las muestras de tierra así obtenidas se guardaron en bolsas de polietileno debidamente identificadas, y luego se procesaron en el Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Austral de Chile. Para extraer cuantitativamente los huevos de *T. canis* de las muestras de tierra se trabajó con una técnica desarrollada en Hannover, Alemania¹³ y probada en Valdivia¹⁴. Todo el material de plástico, de vidrio o de metal que entraba en contacto con las muestras de tierra se cubrió previamente con una delgada capa de silicona (KIT, Silicona, Spray) que después de utilizado se lavó en forma prolija.

Con el objeto de uniformar lo más posible las muestras de tierra, éstas se secaron durante 24 horas a 35° C en una estufa de cultivo, luego cada muestra se cernió para separar las piedras, restos vegetales y partes gruesas y, por último, se pesaron 25 g de cada muestra en bolsas de plástico autosellables de 10 x 16 cm y de 0,1 mm

espesor debidamente identificadas. Los resultados se expresan en huevos por 25 g de tierra (h/25gt).

Los análisis se realizaron con un programa estadístico¹⁵. Se verificó la normalidad de los datos mediante el test Shapiro Wilks y la homosedasticidad de varianzas con el test de Bartlett aplicado a cada sistema de muestreo. Los valores de huevos de *T. canis* se transformaron a su logaritmo para cumplir con los supuestos paramétricos. Se realizó un ANOVA de una vía con los 4 sistemas. Para determinar entre que grupos estaban las diferencias se utilizó el test de Tukey. Se utilizó la matriz de Pearson para medir la correlación entre los sistemas.

RESULTADOS

Se constató presencia de huevos de *T. canis* en todos los patios de las 12 casas. De 96 muestras procesadas, sólo 4 resultaron negativas. De esas 4 muestras negativas, 3 se registraron con el Sistema 1 de muestreo (Tabla 1).

Con el Sistema 1 se obtuvo el menor y con el Sistema 2 el mayor promedio de huevos de *T. canis* por 25 g de tierra. El Sistema 1 se diferenció ($p = 0,13$) de los otros tres, que no se diferenciaron entre si ($p > 0,15$). Para diferenciar el Sistema 1 con un nivel de confianza de un

Figura 1. Distribución aproximada de 122 puntos de muestreo de tierra sobre un área mediante cuatro sistemas: 1 = dos sectores de 10 cm² ubicados al azar; 2 = 20 puntos de muestreo sobre cada uno de dos «relojes de arena» perpendiculares; 3 = 20 puntos de muestreo sobre cada diagonal; 4 = 20 puntos de muestreo sobre dos recorridos en «V» contrapuestos

95% se calculó que era necesario aumentar a lo menos a 30 el número de patios muestreados.

No hubo correlación significativa ($p > 0,05$) entre los recuentos de huevos encontrados mediante el Sistema 1 y los otros tres sistemas. Entre los Sistemas 2 y 3 hubo una correlación de 0,92 ($p < 0,05$), y se encontró una correlación de 0,68 y 0,66 ($p > 0,05$) entre el Sistema 4 con los Sistemas 2 y 3 respectivamente. Con esta evidencia se decidió excluir el Sistema 1 de los siguientes análisis por ser el menos eficiente en determinar presencia de huevos de *T. canis* y por ser el que más difería de los otros tres sistemas.

No hubo diferencia significativa ($p > 0,15$) entre los resultados obtenidos mediante los 3 sistemas más homogéneos en la recuperación de huevos de *T. canis*. Para poder elegir con objetividad el sistema de muestreo a utilizar a futuro se transformaron porcentualmente los valores de cada muestra en relación al promedio obtenido en cada patio (Tabla 2). Con el Sistema

4 se obtuvo, en promedio, el porcentaje más cercano al 100%.

DISCUSIÓN

Considerando que la infección de los cachorros con *T. canis* es cercana al 100%¹⁶ y que estos se crían en los patios de las casas, se partió de la base que esos debían ser lugares muy contaminados con los huevos de dicho parásito.

De los cuatro sistemas de muestreo empleados, el Sistema 1 es el que menos representó la contaminación existente en los patios (Tabla 1). Ello no concuerda con un trabajo⁸ que indica que era el mejor sistema para muestrear tierra después de hacer un chequeo de diferentes formas de muestrear tierra. Con el Sistema 1 hubo gran diferencia entre las cantidades de huevos encontrados entre las dos

Tabla 1. Huevos de *Toxocara canis* recuperados de 25 g de tierra (hp25gt) mediante cuatro sistemas de muestreo en 12 patios

Patios	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	h/25gt	
Sistema 1 a	11	2	4	13	1	2	9	1	5	16	3	2	6,2	7,7
b	13	10	5	35	1	1	8	0	4	0	3	0		
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		
b	27	7	15	57	1	6	6	36	7	4	3	19		
Promedio	23,3	23,6	11,3	38,6	5,5	4,0	7,6	24,5	4,8	4,1	3,8	7,0		
Desv. estándar	9,7	22,1	10,6	19,4	4,3	2,8	3,9	17,4	2,3	5,1	1,8	8,8		

Tabla 2. Transformación porcentual de las cantidades de huevos de *Toxocara canis* recuperados de 25 g de tierra mediante los tres sistemas de muestreo que más se asemejan relativos al promedio obtenido en cada uno de los 12 patios

Patios	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	% promedio
	%												
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
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	
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	86,6
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	
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	104,5

muestras acumulativas obtenidas en casi todas las áreas muestreadas; ello fue extremo en el patio de la casa 10 en que una de las muestras estaba negativa y en la otra había 16 h/25gt. Como con este sistema sólo se muestrean dos puntos del área, es muy probable que se haya obtenido tierra de un lugar en que casualmente había defecado un cachorro y en el otro no. Además el Sistema 1 se diferenció ($p = 0,13$) de los otros tres sistemas. Por ello se decidió descartar el Sistema 1.

Al analizar los tres sistemas restantes que no se diferencian entre si ($p > 0,15$), se calculó que era necesario muestrear un número muy elevado de áreas para encontrar quizás alguna diferencia entre ellos, lo cual no tiene sentido. Con el Sistema 3, de las diagonales, se logró la menor recuperación cuantitativa de huevos. Ello difiere con un trabajo que compara la contaminación de pasturas con larvas de nematodos¹⁷ en que es el sistema más representativo y además, 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 (Figura 1), y es probable que los cachorros prefieran defecar en los bordes de las áreas en que se encuentran. Este sistema se caracteriza además por ser complejo en la distribución de los puntos de muestreo 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 con huevos de *T. canis* de una superficie de tierra, pues es el que tiene un bajo error estándar, es el más cercano al promedio de huevos recuperados en cada patio y es sencillo distribuir los puntos de muestreo.

Del total de 72 muestras de tierra acumulativas tomadas con los 3 sistemas comparables, sólo una estaba negativa a huevos de *T. canis* y que corresponde a uno de los patios con contaminación baja (Tabla 1). El 100% de los patios estaban positivos, y en cuatro de ellos las cantidades encontradas de huevos fueron relativamente altas.

Se concluyó que el Sistema 1 debe descartarse como sistema de muestreo y que los otros tres sistemas son comparables, pero que es recomendable utilizar el Sistema 4. Además se constató que en los patios del 100% de las casas

en que habían perras con cachorros se encontraron huevos de *T. canis*.

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 enero y febrero del 2006, se obtuvieron 8 muestras de tierra en cada uno de 12 patios de casas particulares 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.

En todos los patios se encontraron huevos de *T. canis*. Del total de muestras 92 (95,8%) resultaron positivas a huevos de *T. canis*. De los cuatro sistemas empleados difirió uno ($p = 0,13$) que se descartó. Los otros tres sistemas no mostraron diferencias significativas entre si ($p > 0,15$). Se decide seleccionar uno de ellos como el más representativo por ser el que más se acercó al promedio de 100% de los huevos recuperados en los sitios.

REFERENCIAS

- 1.- NEGhme A, RIVERA G, ÁLVAREZ M. Algunas zoonosis parasitarias en perros vagos de la ciudad de Santiago. Bol Chil Parasitol 1955; 10: 73-5.
- 2.- TORRES H, RAMOS M, CARRASCO L, et al. Protozoos, helmintos y artrópodos parásitos del perro doméstico en la ciudad de Valdivia, Chile. Bol Chil Parasitol 1974; 29: 18-23.
- 3.- ALCAÍNO H, TAGLE I. Estudios sobre enteroparasitosis del perro en Santiago. Bol Chil Parasitol 1970; 25: 5-8.
- 4.- OBERG C, FRANJOLA R, LEYÁN V. Helmintos del perro doméstico en la ciudad de Valdivia, Chile. Bol Chil Parasitol 1979; 34: 21-6.
- 5.- SALINAS P, REYES L, SOTOMAYOR M, LETONJA T. Prevalencia de huevos de *Toxocara* sp. en algunas plazas públicas de la Región Metropolitana de Santiago, Chile. Bol Chil Parasitol 1987; 42: 33-6.
- 6.- TORRES P, FRANJOLA R, PÉREZ J, et al. Geohelmintosis intestinales en el hombre y animales domésticos de sectores ribereños de la cuenca del río Valdivia, Chile. Bol Chil Parasitol 1995; 50: 57-66.
- 7.- CASTILLO D, PAREDES C, ZAÑARTU C, CASTILLO G. Contaminación ambiental por huevos de *Toxocara* sp. en algunas plazas y parques públicos de Santiago de Chile. 1999. Bol Chil Parasitol 2000; 55: 86-91.

- 8.- ARMSTRONG W. 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. 2003.
- 9.- FONROUGE R, GUARDIS M, RADMAN N, ARCHELLI S. 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 2000; 55: 83-5.
- 10.- LANCASTER M. The recovery of infective larvae from herbage samples. J Helminthol 1970; 44: 219-30.
- 11.- KLOOSTERMAN A. Observation on the epidemiology of trichostrongylosis of calves. H. Veenman y Zonen. N.W. Wageningen. 1971.
- 12.- SIEVERS G. Methode zur Gewinnung von III. Strongylidenlarven aus dem Weidegras. Tesis Dr. med. vet., Tierärztliche Hochschule Hannover. 1973.
- 13.- HORN K, SCHNIEDER T, STOYE M. Quantitative comparison of various methods for detecting eggs of *Toxocara canis* in samples of sand. J Vet Med 1990; 37: 241-50.
- 14.- SIEVERS G, CONCHA C, GÄDICKE P. Prueba de una técnica para recuperar huevos de *Toxocara canis* de muestras de tierra. Parasitol Latinoam 2006.
- 15.- STATISTIX 8. Analytical Software 2003.
- 16.- BARRIGA O. A critical look at the important, prevalence and control of toxocarías and the possibilities of immunological control. Vet Parasitol 1988; 29: 195-234.
- 17.- ACEVEDO M. Comparación de dos técnicas de laboratorio y cuatro sistemas de muestreo de praderas para determinar cuantitativamente la contaminación por larvas infectantes de tricostrongilidos del bovino. Tesis M.V., Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile. 1976.