

## Evaluación de técnicas coprodiagnósticas para *Toxocara canis*

### Evaluation of stool diagnosis techniques for *Toxocara canis*

Jessica Cárdenas Camacho<sup>1</sup>, Karen Isabel Lesmes Infante<sup>2</sup>,  
Marly Carolina Torres Tocasuche<sup>2</sup>, Neuza Maria Alcantara-Neves<sup>3</sup>,  
Dumar Alexander Jaramillo-Hernández<sup>2,3,4</sup>

#### RESUMEN

El estudio tuvo como objetivo evaluar la sensibilidad de técnicas coprodiagnósticas para determinar cuantitativamente la presencia de huevos de *Toxocara canis* en muestras de heces frescas de caninos. Para ello, se extrajeron huevos del útero de hembras adultas de *T. canis* obtenidas de cachorros caninos. Se utilizaron ocho concentraciones de huevos (10, 50, 75, 100, 250, 500, 750 y 1 000 huevos por gramo de materia fecal – hpg), siendo considerados como el *gold standard* para determinar el grado de precisión de las técnicas Kato-Katz, McMaster, McMaster modificado mejorado y Faust. Se utilizaron tres repeticiones por técnica y por concentración. La sensibilidad de cada prueba se realizó mediante el cálculo aritmético y curva ROC (IC95%), comparándolas con el *gold standard* mediante una prueba no paramétrica de los rangos con signo de Wilcoxon ( $p < 0.05$ ). La técnica Faust detectó huevos de *T. canis* sin importar la concentración, pero

<sup>1</sup> Programa de Biología, Facultad de Ciencias Básicas e Ingenierías, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Meta, Colombia

<sup>2</sup> Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Escuela de Ciencias Animales, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Meta, Colombia

<sup>3</sup> Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil

<sup>4</sup> E-mail: [dumar.jaramillo@unillanos.edu.co](mailto:dumar.jaramillo@unillanos.edu.co); <https://orcid.org/0000-0003-1377-1747>

Fuente financiera: Laboratorio de Farmacología, Escuela de Ciencias Animales, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Universidad de los Llanos. Colombia.

Recibido: 2 de octubre de 2020

Aceptado para publicación: 18 de marzo de 2021

Publicado: 23 de junio de 2021

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

en desigualdad estadística con el *gold standard* ( $p < 0.001$  a  $p < 0.0001$ ). La técnica Kato-Katz no presentó diferencias significativas con el *gold standard*, pero no detectó la presencia de huevos de *T. canis* en 10 y 50 hpg, mientras que la técnica McMaster modificado mejorado presentó similitud con el *gold estandar* en 100 y 250 hpg. El método de McMaster detectó huevos a partir de 100 hpg, obteniendo valores de hpg por debajo del *gold standard* ( $p < 0.05$  y  $p < 0.001$ ). Se obtuvieron sensibilidades de 74.72% (IC95% 72.93-80.22) para la técnica de Kato-Katz y entre 30 y 40% (IC95% 26.71-48.29) para las demás pruebas. Se concluye que la técnica Kato-Katz obtuvo un mejor desempeño en sensibilidad diagnóstica cuantitativa constante al compararse con técnicas cotidianas cuantitativas de diagnóstico coprológico en laboratorios veterinarios para huevos de *T. canis* en muestras de heces frescas de canes.

**Palabras clave:** toxocariasis, zoonosis, salud pública, nematodo, endoparásito, enfermedades desatendidas

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the sensitivity of four coprodiagnostic techniques to quantitatively determine the presence of *Toxocara canis* eggs in fresh canine stool samples. For this, eggs were extracted from the uterus of adult female *T. canis* obtained from canine puppies. Eight concentrations of eggs were used (10, 50, 75, 100, 250, 500, 750 and 1 000 eggs per gram of faeces - epg), being considered as the gold standard to determine the degree of precision of the Kato-Katz, McMaster, Improved Modified McMaster and Faust techniques. Three repetitions were used per technique and per concentration. The sensitivity of each test was performed by arithmetic calculation and ROC curve (95% CI), comparing them with the gold standard by means of a nonparametric test of the Wilcoxon signed ranks ( $p < 0.05$ ). The Faust technique detected *T. canis* eggs regardless of concentration, but in statistical inequality with the gold standard ( $p < 0.001$  to  $p < 0.0001$ ). The Kato-Katz technique did not show significant differences with the gold standard, but it was unable to detect the presence of *T. canis* eggs in 10 and 50 epg concentration, while the improved modified McMaster technique showed similarity with the gold standard in 100 and 250 epg. The McMaster method detected eggs from 100 epg, obtaining epg values below the gold standard ( $p < 0.05$  and  $p < 0.001$ ). Sensitivities of 74.72% (95% CI 72.93-80.22) were obtained for the Kato-Katz technique and between 30 and 40% (95% CI 26.71-48.29) for the other tests. It is concluded that the Kato-Katz technique obtained a better performance showing a constant quantitative diagnostic sensitivity when compared with other routine quantitative stool diagnosis techniques in veterinary laboratories for *T. canis* eggs in fresh dog faeces samples.

**Key words:** toxocariasis, zoonoses, public health, nematode, endoparasite, neglected diseases

## INTRODUCCIÓN

*Toxocara canis* (*T. canis*) es un helminto perteneciente a la familia de los nematodos *Ascarididae*, de distribución mun-

dial y el canino es el hospedero definitivo (Chen *et al.*, 2012; Rojas *et al.*, 2016). La ingestión de huevos embrionados de *T. canis* y la transmisión vertical (ej. transplacentaria) son las dos rutas epidemiológicas más importantes de infección en caninos (Lucio-

Forster *et al.*, 2016). El ciclo de vida de este parásito es más complejo que el de otros nematodos. Las hembras adultas oviponen hasta 200 000 huevos/día en el lumen del intestino delgado del perro, los cuales son excretados en las heces al ambiente, donde ocurre su proceso de embrionación y desarrollo larval respectivo (Breña *et al.*, 2011). En un ambiente propicio, los huevos de *T. canis* pueden sobrevivir alrededor de tres años, lo cual genera un factor de riesgo inminente para el humano (Rojas *et al.*, 2016). Los huevos de *T. canis* a temperaturas ambientales entre 10-30 °C requieren de 2-6 semanas para llegar al estadio L3 (Jones *et al.*, 2008).

Para la toxocariasis canina existe el principio epidemiológico de un 100% de probabilidad de parasitosis por *T. canis* en cachorros debido a su transmisión transplacentaria (Lucio-Forster *et al.*, 2016). Los cachorros a las 3-4 semanas de edad son una fuente importante de huevos de *T. canis* hacia el ambiente (Alcantara *et al.*, 1989; Okulewicz *et al.*, 2012). Otra fuente de infección, para cánidos sinantrópicos, en la vida silvestre es por ingestión de hospederos paraténicos (Kaminsky *et al.*, 2014).

La toxocariasis es una patología zoonótica de alta importancia socioeconómica y de impacto en la salud pública mundial, especialmente en regiones tropicales y subtropicales, donde se asocia con altos índices de pobreza (Chen *et al.*, 2018). La toxocariasis humana es considerada por el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de EEUU como una de las cinco infecciones parasitarias más desatendidas (CDC, 2021); dado que una de sus formas de presentación clínica es inespecífica, lo cual conduce a un diagnóstico erróneo y genera morbilidad prolongada y el desarrollo de complicaciones de salud (ej. síndrome larva migrans visceral) (Lucio-Forster *et al.*, 2016). Aún cuando la toxocariasis es una condición tratable y prevenible, permanece infradiagnosticada y subestimada (Woodhall *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2018).

Los humanos se consideran como un huésped accidental, paraténico, debido a la imposibilidad biológica de la larva de *Toxacara* spp para llegar a su etapa adulta (Strube *et al.*, 2013). Las personas se infectan al ingerir huevos embrionados provenientes de aguas contaminadas, consumo de carnes crudas o de escasa cocción de otros hospederos paraténicos (ej. aves de corral), geofagia, verduras contaminadas, y por contacto estrecho con cachorros parasitados, entre otros (Ma *et al.*, 2018). Diversos estudios han documentado a la toxocariasis como una de las zoonosis más comunes a nivel mundial y se presenta con mayor frecuencia en niños y jóvenes en edad escolar (Avila *et al.*, 2020; Prestes *et al.*, 2013).

Los altos índices de toxocariasis canina y humana en el mundo destacan la importancia de tomar medidas de prevención y control en los diferentes lugares y hospederos que constituyen factor de riesgo para las personas (Regis *et al.*, 2011; Cong *et al.*, 2014; Rojas *et al.*, 2016; Berrett *et al.*, 2017; Sowemimo *et al.*, 2017). Por tanto, es necesario un alto índice de sospecha y ayudas diagnósticas de baja complejidad y amplio uso en la práctica de la Medicina Veterinaria para establecer un diagnóstico precoz de infección patente e iniciar el tratamiento adecuado en caninos, además de las acciones de medicina preventiva recomendadas mundialmente para el control de la toxocariasis en animales de compañía (CAPC, 2016).

La necesidad inminente de controlar y prevenir la infección por *T. canis* debido a las afecciones que se presentan tanto en humanos como en animales, conlleva al hecho de poseer pruebas diagnósticas rutinarias de fácil ejecución y altamente sensibles en la práctica diaria de la Medicina Veterinaria, más cuando la medicina preventiva exige cero tolerancias a la presencia de parásitos con habilidad zoonótica desde el principio de «Una Salud» (Webster *et al.*, 2016). Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar la sensibilidad de técnicas coprodiagnósticas utilizadas para la identificación y cuantificación de huevos de *T. canis* en heces frescas de caninos domésticos (*Canis lupus familiaris*).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Huevos de *Toxocara canis*

Se colectaron hembras adultas de *T. canis* desde las heces de seis cachorros de 21-32 días de edad, infectados naturalmente por transmisión vertical después de provocar su expulsión a través del uso de Piperazina diclorhidrato (Pi-Perracina®, Laboratorios Zoo, Bogotá, Colombia) a única dosis de 100 mg/Kg vía oral (PO).

Para la extracción de huevos desde el tracto reproductivo de las hembras de *T. canis* se siguió la metodología propuesta por Abou-El-Naga (2018). Las hembras fueron lavadas con solución NaCl 0.9%, y los huevos fueron extraídos desde el tercio distal del útero a través de disección quirúrgica en cajas de Petri. Los huevos obtenidos fueron suspendidos en solución NaCl 0.9%, pasados a través de una malla de acero inoxidable con abertura de 1 mm para separarlos de detritos, para luego pasar a centrifugación (50 g durante 5 minutos) desechando el sobrenadante. Posteriormente fueron resuspendidos en 8-10 ml de formol 1% en tubos tipo Falcon de 15 ml, llevados a una concentración de 10-12 huevos de *T. canis*/10 µl para su cuantificación microscópica a 10x utilizando una cámara de Neubauer mejorada. La solución de huevos se mantuvo a temperatura ambiente hasta ser utilizada en los diferentes niveles de tratamiento experimentales dentro del estudio.

### Diseño Experimental

Se realizaron exámenes coprodiagnósticos a muestras de heces (50 g) de seis caninos domésticos de edad entre 60-75 días, previamente desparasitados para verificar la ausencia de huevos de parásitos gastrointestinales. Las heces colectadas tenían consistencia firme a pastosa, color café claro a oscuro y forma alargada cilíndrica característica de la especie. Con la solución obtenida

previamente (10-12 huevos/10 µl) se contaminaron las muestras de materia fecal fresca libres de huevos de parásitos a concentraciones de 10, 50, 75, 100, 250, 500, 750 y 1000 huevos de *T. canis*/g de materia fecal (hpg) siguiendo pautas propuestas por Becker (2016), siendo estos niveles de contaminación el *gold standard* dentro del grado de precisión del estudio. Para cada concentración de huevos se tuvieron tres réplicas para cada una de las cuatro técnicas coprodiagnósticas en evaluación, obteniéndose 96 muestras para el análisis.

Todos los animales utilizados en esta investigación se les garantizó condiciones de bienestar animal y fueron tratados bajo los preceptos de guías internacionales de animales experimentales (NRC, 2004), salvaguardando su integridad según normatividad vigente en el territorio colombiano (Ley 84 de 1989 «Estatuto Nacional de Protección de los Animales»), así mismo, se contó con el concepto técnico favorable del Comité de Bioética de la Universidad de los Llanos (Colombia), según Acta N.º 07 de 2019.

### Técnicas Coprodiagnósticas

Todas las muestras fueron procesadas y analizadas el mismo día por los métodos Kato-Katz, MacMaster, MacMaster modificada mejorada y Faust, descritas a continuación:

#### *Kato-Katz.*

Los frotis espesos de Kato-Katz se prepararon de acuerdo con lo recomendado por la OMS (2019). Se colocó 1 g de heces en una caja de Petri, se le agregó la concentración correspondiente de huevos de *T. canis* y se homogeneizó. La muestra se colocó sobre el papel absorbente y se cubrió con una malla de acero inoxidable de 80 µm. El material colectado se llevó a una lámina portaobjeto con una plantilla plástica con agujero con capacidad de 50 mg de heces. Luego, la plantilla se retiró del portaobjetos y se cubrió el

montículo de heces con papel celofán hidrófobo de 25x30 mm previamente sumergido (24 H) en la solución de Kato-Katz (100 ml de glicerina, 100 ml de agua destilada y 1 ml de azul de metileno 3%). Finalmente, se realizó el conteo de los huevos de *T. canis* colocando el portaobjetos en el microscopio a 40x. El número total de huevos observados se multiplicó por 50 como valor constante para establecer la cantidad de hpg.

#### *McMaster*

Se procedió según lo propuesto por Gibbson *et al.* (2010). Se dispusieron 3 g de heces en un vaso espumado de 6 oz, se agregó la concentración correspondiente de huevos de *T. canis*, se homogeneizó con 42 ml de solución azucarada (gravedad específica de 1.27 g/ml). El contenido se pasó a través de un tamiz de 80  $\mu$ m. Se retiró una submuestra con una pipeta Pasteur y se llenó la cámara de McMaster (Eggzamin™, Oregon, EEUU). Posteriormente, se observó al microscopio 4x y a 10x para contar los huevos. Para calcular el número hpg se contó el número de huevos dentro de la cuadrícula de cada cámara, multiplicando el total de huevos por un factor de 50.

#### *McMaster Modificado Mejorado*

La técnica fue aplicada según lo descrito por Taylor *et al.* (2015). Se preparó una solución de ZnSO<sub>4</sub> con una gravedad específica de 1.2 g/ml. Se colocó 3 g de heces en un vaso espumado de 6 oz, con la concentración correspondiente de huevos de *T. canis*. Se añadió 30 ml de agua destilada y se homogeneizó la muestra, se filtró a través de un tamiz de malla 80  $\mu$ m. Se tomó 13 ml de la solución y se centrifugó a 50 g x 2 minutos. Se retiró el sobrenadante y se adicionó 3 ml de la solución de ZnSO<sub>4</sub>, se agitó hasta suspender el sedimento y se completó con solución de ZnSO<sub>4</sub> para obtener 13 ml. Se tomó una submuestra con la pipeta Pasteur para

llenar los compartimentos de la cámara de McMaster (Eggzamin™, Oregon, EEUU) y se observó al microscopio a 4x y a 10x para contar los huevos. Para el cálculo del número de hpg se contó el número de huevos dentro de la cuadrícula de cada cámara, y se multiplica el total por 50.

#### *Faust (Flotación-Sedimentación)*

Se procedió según lo propuesto por Bartlett *et al.* (1978). Se preparó previamente la solución de ZnSO<sub>4</sub> con una gravedad específica de 1.2 g/ml. Se pesó 1 g de heces frescas en un vaso espumado de 6 oz, se agregó el número de huevos de *T. canis* correspondiente para cada nivel de tratamiento, homogenizándose en 10 ml de agua destilada, se tamizó utilizando una malla 80  $\mu$ m y se llevó a un tubo de ensayo para centrifugar a 50 g x 1 minuto. Se descartó el sobrenadante y se mezcló el sedimento con la solución de ZnSO<sub>4</sub> llenado el tubo de ensayo hasta 1 cm del borde del tubo. Se centrifugó nuevamente a 50 g x 1 minuto, volviéndose a llenar el tubo con solución ZnSO<sub>4</sub> hasta formar un menisco. Se colocó un cubreobjetos sobre el menisco. Se colocó la lámina de cubreobjetos sobre la lámina portaobjetos, y se observó al microscopio a 10x y 40x para contar los huevos. El contaje resultante es el número de hpg reportados.

#### **Diseño Estadístico**

Se realizó estadística descriptiva para expresar los resultados como media y desviación estándar. Para determinar la sensibilidad (%) de cada una de las pruebas diagnósticas se procedió según lo descrito por Bravo y Cruz (2015), así como el nivel de sensibilidad a través de la curva ROC (IC 95%, p<0.05). Todos los resultados se compararon con el *gold standard* (100% sensibilidad); es decir, con la concentración de huevos de *T. canis* conocidas (10, 50, 75, 100, 250, 500, 750 y 1000 hpg). Al realizar la prueba

de homogeneidad de varianza de Kolmogorov-Smirnow para los datos obtenidos en cada técnica y establecer que no cumplen con los supuestos de normalidad, se procedió a comparar las técnicas a través de la prueba no paramétrica de los rangos con signo de Wilcoxon, adoptando una significancia de  $p < 0.05$ . Estas acciones se ejecutaron utilizando el software GraphPad Prism 5.0.

## RESULTADOS

Los resultados del análisis de las muestras de heces con las soluciones de huevos de *T. canis* se muestran en el Cuadro 1 y Figura 1. Se evidencia que la técnica de Faust fue la única de las cuatro en estudio capaz de detectar la presencia de los huevos de *T. canis*, incluyendo las concentraciones mínimas de huevos no embrionados (10 y 50 hpg); aun cuando no existió una similitud cuantitativa con la concentración *gold standard* (Figura 1c); es decir, presenta diferencias significativas con los valores patrones ( $p < 0.05$ ). La técnica de Faust presentó en todas las concentraciones de huevos una alta desigualdad estadística ( $p < 0.001$  a  $p < 0.0001$ ), por debajo de los grados de contaminación de la *gold standard*.

La técnica de Kato-Katz, aun cuando no evidenció presencia de huevos de *T. canis* en las concentraciones de 10 y 50 hpg, se comportó con precisión a partir de 75 hpg y sin diferencias significativas con el *gold standard* para detectar cuantitativamente en la mayoría de las concentraciones de contaminación de muestras con huevos de *T. canis* (figura 1d); no obstante, en las concentraciones de 100 y 250 hpg presentó resultados superiores ( $p < 0.001$ ) al *gold standard*.

La técnica de McMaster solo detectó la presencia de huevos de *T. canis* a partir de la concentración de 100 hpg, y siempre estuvo por debajo en la detección cuantitativa del grado de contaminación de las mues-

tras fecales con huevos de *T. canis* (Figura 1a), encontrando diferencias significativas respecto al *gold standard* ( $p < 0.05$  y  $p < 0.001$ ), con excepción de la concentración de 500 hpg. Por último, la técnica de McMaster modificada mejorada detectó la presencia de huevos de *T. canis* a partir de la concentración de 70 hpg, pero tan solo en las concentraciones de 100 y 250 hpg fue similar al *gold standard* (Figura 1b).

Al comparar el hpg acumulado para cada una de las técnicas (Figura 2), se evidencia que la técnica de Kato-Katz presentó un comportamiento similar en grado de precisión cuantitativo que el *gold standard*, mientras que las otras tres técnicas fueron significativamente inferiores en detectar la cantidad de hpg ( $p < 0.05$ ).

La sensibilidad asociada al grado de precisión cuantitativo de cada una de las técnicas coprodiagnósticas respecto al *gold standard* se obtuvo a través del cálculo aritmético y mediante la curva ROC (Cuadro 2). Se evidencia que al reunir los resultados de las ocho concentraciones conocidas de huevos de *T. canis* en heces frescas de canes (*gold standard*) y al compararlos con los resultados obtenidos en cada una de las técnicas cuantitativas, el grado de precisión absoluto de la técnica Kato-Katz es alto (sensibilidad calculada de 74.72% (IC 95% 72.93-80.22 y curva ROC 0.53 IC 95% 0.36-0.70)).

Al analizar la precisión de cada prueba de coprodiagnóstico con las concentraciones de huevos de *T. canis* (Figura 3), se evidencia que el comportamiento de la sensibilidad diagnóstica para la mayoría de las técnicas en las concentraciones de 75 a 250 hpg se mejora notablemente respecto al *gold standard* (entre 60 y 100% de sensibilidad). Asimismo, a mayores concentraciones de hpg (750-1 000 hpg) existe un comportamiento de pérdida considerable de la sensibilidad diagnóstica a rangos oscilantes entre 45% a menos del 20%. Por su parte, la técnica de Kato-

Cuadro 1. Comparación de las técnicas coprodiagnósticas cuantitativas para *T. canis* en muestras de heces frescas de caninos

Gold standard	Técnicas coprodiagnósticas (hpg)			
	McMaster $\bar{x} \pm de$	McMaster mm $\bar{x} \pm de$	Faust $\bar{x} \pm de$	Kato-Katz $\bar{x} \pm de$
10 <sup>a</sup>	0 <sup>b*</sup>	0 <sup>b*</sup>	1.66 ± 2.08 <sup>b*</sup>	0 <sup>b*</sup>
50 <sup>a</sup>	0 <sup>b*</sup>	0 <sup>b*</sup>	2.33 ± 2.08 <sup>b*</sup>	0 <sup>b*</sup>
75 <sup>a</sup>	0 <sup>b**</sup>	16.67 ± 28.87 <sup>b*</sup>	5.0 ± 3.46 <sup>b**</sup>	100.0 ± 50.0 <sup>a</sup>
100 <sup>a</sup>	33.33 ± 28.87 <sup>b*</sup>	83.33 ± 28.87 <sup>a</sup>	4.0 ± 4.35 <sup>b**</sup>	366.7 ± 28.87 <sup>c**</sup>
250 <sup>a</sup>	133.3 ± 76.38 <sup>b*</sup>	250.0 ± 50.0 <sup>a</sup>	149.3 ± 63.72 <sup>b*</sup>	566.7 ± 125.8 <sup>c**</sup>
500 <sup>a</sup>	300.0 ± 229.1 <sup>a</sup>	200.0 ± 150.0 <sup>b*</sup>	311.0 ± 241.8 <sup>a</sup>	683.3 ± 293.0 <sup>a</sup>
750 <sup>a</sup>	516.7 ± 115.5 <sup>b*</sup>	416.7 ± 57.7 <sup>b**</sup>	601.7 ± 57.5 <sup>b*</sup>	733.3 ± 202.1 <sup>a</sup>
1,000 <sup>a</sup>	550.0 ± 229.1 <sup>b**</sup>	100.0 ± 50.0 <sup>b***</sup>	145.0 ± 90.5 <sup>b***</sup>	1,383 ± 602.8 <sup>a</sup>

hpg: huevos por gramo de materia fecal; McMaster mm: McMaster modificado mejorado; <sup>a,b,c</sup> Letras en superíndice diferentes en una misma fila indican diferencias significativas. (\* $p < 0.005$ , \*\* $p < 0.001$ , \*\*\* $p < 0.0001$ ) en comparación con la prueba *Gold standard*

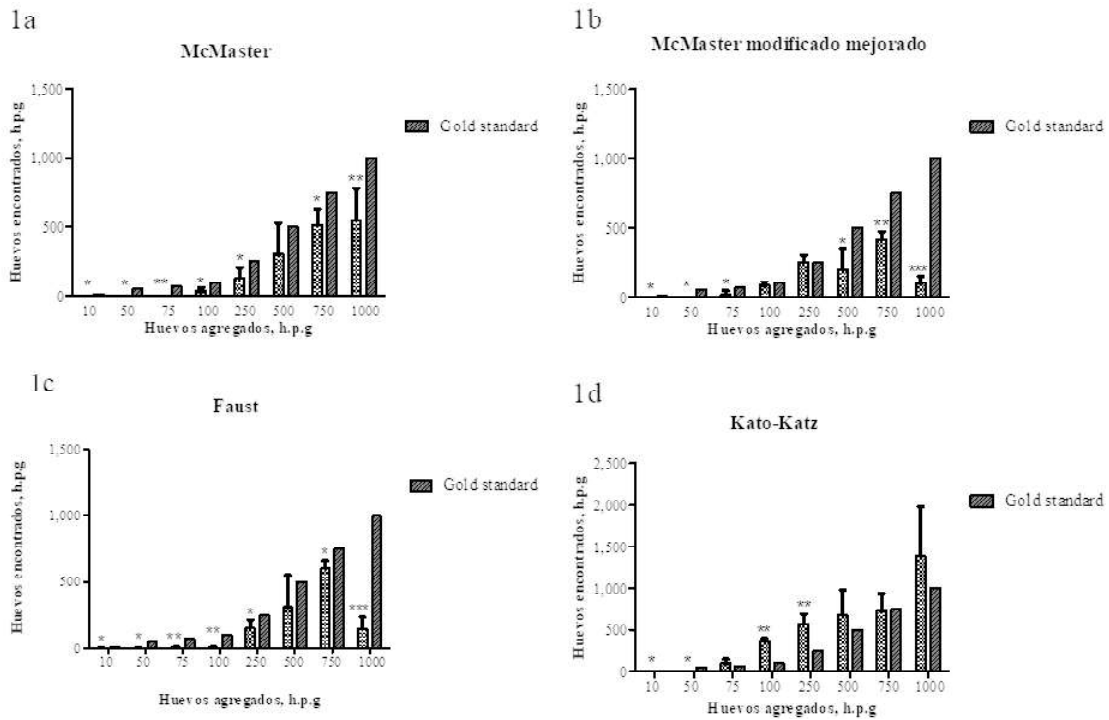
Katz presenta una sensibilidad diagnóstica cuantitativa constante entre 90-100% a partir de una concentración de 75 hpg.

## DISCUSIÓN

Son muy pocos los estudios previos que se han centrado en la investigación de la sensibilidad de las técnicas coprodiagnósticas que se utilizan como pruebas rutinarias para la detección de parásitos gastrointestinales en su fase embrionaria (huevos), evaluando concentraciones conocidas (*gold standard*) de huevos de *T. canis*, nematodos que afectan con mayor frecuencia a perros, y donde los

huevos embrionados de *T. canis* en el ambiente se consideran como la fuente más importante de toxocariasis humana (Nijse *et al.*, 2020). Por ello, el presente estudio es un aporte importante en determinar la sensibilidad de técnicas coprodiagnósticas para la detección cuantitativa de huevos de *T. canis* en heces de caninos, ofreciendo así un método diagnóstico rápido y eficiente en la práctica médica veterinaria.

Este estudio presenta un enfoque cuantitativo para estimar la sensibilidad de cuatro técnicas coprodiagnósticas que permiten la detección de huevos de *T. canis*. La técnica de Faust, una de las técnicas de flotación utilizadas en la rutina de diagnóstico cuantitati-



rado con el *Gold standard* a diferentes concentraciones de huevos de *T. canis*. a) Técnica McMaster; b) McMaster modificada mejorado; c) Faust; d) Kato-Katz. \*  $p < 0.005$ , \*\*  $p < 0.001$ , \*\*\*  $p < 0.0001$ . Prueba del signo de Wilcoxon

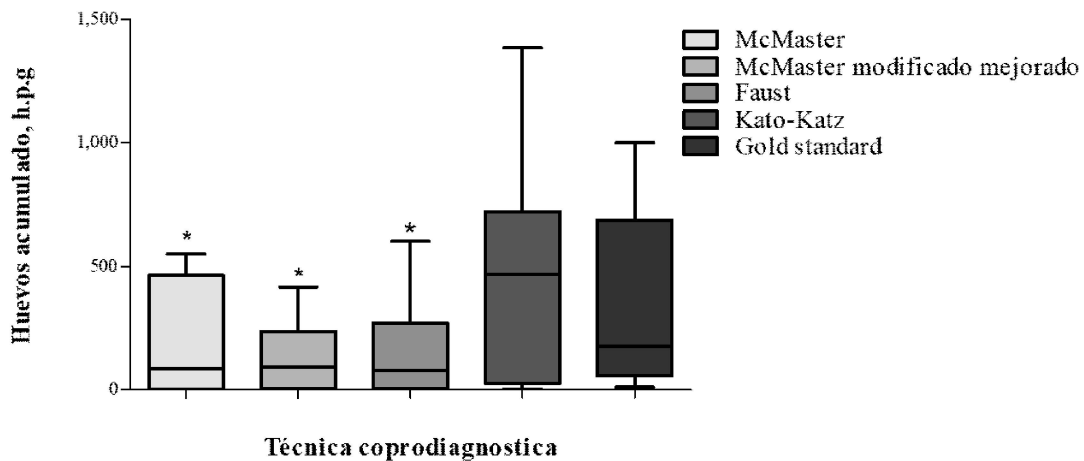


Figura 2. Huevos por gramo de heces (hpg) acumulado para las técnicas coprodiagnósticas para *T. canis*. \*  $p < 0.05$ . Prueba del signo de Wilcoxon



Cuadro 2. Sensibilidad de las técnicas coprodiagnósticas cuantitativas para huevos de *T. canis*

Técnica diagnóstica	AUC ROC	<i>p</i>	IC 95%	Sensibilidad % <sup>+</sup>	IC 95%
McMaster	0.69	0.026	0.54-0.84	33.82	30.67-43.39
McMaster mm	0.70	0.019	0.55-0.85	39.38	35.93-48.29
Faust	0.69	0.026	0.58-0.87	31.80	26.71-41.47
Kato-Katz	0.53 <sup>a</sup>	0.734	0.36-0.70	74.72 <sup>a</sup>	72.93-80.22

AUC: área bajo la curva ROC; +: sensibilidad por cálculo aritmético; IC 95%: intervalo de confianza 95%

<sup>a</sup> Sin diferencia significativa respecto al *gold standard* ( $p > 0.05$ )

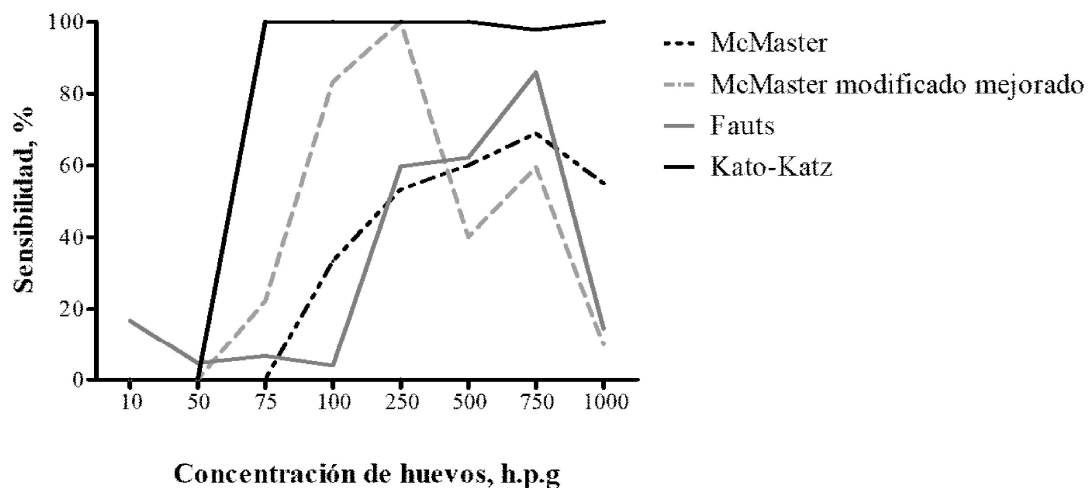


Figura 3. Sensibilidad diagnóstica de las técnicas coprodiagnósticas cuantitativas para huevos de *T. canis* (hpg: huevos por gramo de materia fecal)

vo para parásitos gastrointestinales, proporcionó resultados satisfactorios en términos de detección en todas las concentraciones empleadas, aun si esta no presentó una similitud con el *gold standard* del estudio. Es decir, la técnica de Faust generó una apropiada capacidad de detección cualitativa de huevos de *T. canis*, pero no una adecuada cuantificación

de estos. Estos hallazgos concuerdan con estudios que han obtenido falsos negativos, sobre todo cuando se emplea solo una muestra fecal por microscopía óptica, lo que disminuye la sensibilidad de diagnóstico (Uchôa *et al.*, 2018), por lo que se puede inferir que la cantidad de muestras analizadas por paciente puede determinar la sensibilidad para esta técnica.

Al igual que la prueba Faust, la técnica de McMaster es una de las más usadas en Medicina Veterinaria para la detección de huevos helmintos gastrointestinales por su practicidad y rapidez de ejecución; pero es relativamente menos precisa que otros tipos de técnicas de flotación coprodiagnósticas. Da° (2020) evaluó la exactitud y precisión de las técnicas de recuento de huevos a partir de McMaster y Mini-FLOTAC en heces de pollos, encontrando una similitud con los resultados obtenidos en este trabajo entre McMaster y McMaster modificado mejorado con una mayor sensibilidad en concentraciones más bajas cuando se utilizó McMaster modificado mejorado, detectando huevos desde 50 hpg. Esto puede deberse, entre otros factores, a las cámaras McMaster, las cuales se encuentran en el mercado en varios tamaños y volúmenes. Así, Estrada *et al.* (2002) compararon la eficacia de una de estas cámaras que consta con dos compartimientos y la de INTA con cuatro compartimientos encontrando que ambas cámaras son confiables; sin embargo, la cámara INTA ofreció mayores ventajas para la detección de huevos e identificación de animales acumuladores.

En la determinación de la sensibilidad de las pruebas coproparasitológicas que utilizan una solución de flotación, otro factor a tener en cuenta es la relación del peso de las muestras fecales al volumen de solución de flotación (Cringoli *et al.*, 2004, Perecki *et al.*, 2007). Este efecto de densidad sobre el peso específico de los huevos de *Toxocara* spp para su flotación (gravedad específica – GE – 1.10) (Cringoli *et al.*, 2004), pudo ser un elemento influyente en la diferencia de sensibilidad entre McMaster y McMaster mejorado modificado (Cuadro 2), dado que las dos técnicas utilizan densidades distintas de la solución de flotación y sustrato diverso para el mismo, donde la GE de 1.27 para la solución de azúcar saturada y GE de 1.2 con la solución de sulfato de zinc, respectivamente. Esta puede ser una explicación plausible para los resultados diversos encontrados entre es-

tas dos técnicas. Por otro lado, Bartlett *et al.* (1978) encontró que la solución Formalina-Éter fue más eficaz que el sulfato de zinc para la ejecución del McMaster modificado mejorado en la detección de huevos de parásitos gastrointestinales.

La técnica de Kato-Katz se ha descrito como la metodología más utilizada para el diagnóstico coprológico parasitario en humanos (OMS, 2019), especialmente en el diagnóstico cuantitativo de las infecciones intestinales humanas por helmintos transmitidos por el suelo (Bosch *et al.*, 2021). Varios estudios parasitarios gastrointestinales en humanos reportan resultados de positividad diagnóstica similar a la sensibilidad hallada en este estudio para esta técnica; así, Carvalho *et al.* (2012) evaluó la precisión diagnóstica de diferentes métodos, entre ellos Kato-Katz, la cual presentó una tasa de positividad alta (74.6%) para el diagnóstico de *Schistosoma mansoni*; en tanto que Restrepo *et al.* (2013) reportó mejores resultados utilizando la técnica de Kato-Katz para la determinación de parásitos helmintos transmitido por el suelo. Estos estudios demuestran que la técnica de Kato-Katz tiene una alta sensibilidad para diferentes especies de parásitos, reportándose sensibilidades mayores al 90% en algunos estudios (Cools *et al.*, 2019).

Aunque la técnica de Kato-Katz no posee sensibilidad a concentraciones menores de 50 hpg, esta no se ve afectada en concentraciones de hpg medias o altas (cargas parasitarias medias o altas) manteniendo una estabilidad en sus resultados; a diferencia de las otras tres técnicas. Igualmente, Kato-Katz no presentó una diferencia significativa con el *gold standard*. Estos resultados ponen en evidencia que esta técnica sea la mejor en este estudio experimental para evaluar cuantitativamente la presencia de huevos no embrionados de *T. canis* en muestras de heces frescas de canes. Los resultados obtenidos respecto a esta técnica concuerdan con estudios donde la técnica de Kato-Katz da

resultados confiables con alta sensibilidad para el diagnóstico de las geohelminCIAS intestinales más frecuentes en Colombia (Montresor *et al.*, 1998), sin que se afecte la capacidad de detección en aquellas muestras cuyos niveles de parasitosis sean leves (Giraldo y Guatibonza, 2017).

## CONCLUSIONES

La técnica Kato-Katz obtuvo un mejor desempeño como prueba de diagnóstico cualitativo para la detección de la carga parasitaria en caninos a través de la detección de huevos no embrionados de *T. canis* en heces frescas.

## LITERATURA CITADA

1. **Abou-El-Naga IF. 2018.** Developmental stages and viability of *Toxocara canis* eggs outside the host. *Biomédica* 38: 189-197.
2. **Alcântara N, Bavia E, Silvão RM, Carvalho E. 1989.** Environmental contamination by *Toxocara* sp eggs in public areas of Salvador, Bahia State, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 22: 187-190. doi: 10.1590/s0037-86821989000-400005
3. **Antunes T, Leão M, Lignon J, Camassola JL, Goncalves N, Machado PC, Ferraz A, et al. 2020.** FrequênCIA de helmintos em amostras fecais de cães em praças públicas de Pelotas-RS. *Pubvet* 14: a636. doi: 10.31533/pubvet.v14n8a636.1-6
4. **Bartlett MS, Harper K, Smith N, Verbanac P, Smith JW. 1978.** Comparative evaluation of a modified zinc sulfate flotation technique. *J Clin Microbiol* 7: 524-528.
5. **Becker AC, Kraemer A, Epe C, Strube C. 2016.** Sensitivity and efficiency of selected coproscopical methods-sedimentation, combined zinc sulfate sedimentation-flotation, and McMaster method. *Parasitol Res* 115: 2581-2587. doi: 10.1007/s00436-016-5003-8
6. **Berrett A. 2017.** *Toxocara* seroprevalence and associated risk factors in the United States. *Am J Trop Med Hyg* 97: 1846-1850. doi: 10.4269/ajtmh.17-0542
7. **Bosch F, Palmeirim MS, Ali SM, Ame SM, Hattendorf J, Keiser J. 2021.** Diagnosis of soil-transmitted helminths using the Kato-Katz technique: what is the influence of stirring, storage time and storage temperature on stool sample egg counts? *PLoS Negl Trop Dis* 15(1): e0009032. doi: 10.1371/journal.pntd.0009032
8. **Bravo S, Cruz JP. 2015.** Estudios de exactitud diagnóstica: Herramientas para su interpretación. *Rev Chil Radiol* 21: 158-164. doi: 10.4067/S071793082015-000-400007
9. **Breña JP, Hernández R, Hernández A, Castañeda R, Espinoza Y, Roldán W, Ramirez C, et al. 2011.** Toxocariosis humana en el Perú: aspectos epidemiológicos, clínicos y de laboratorio. *Acta Méd Per* 28: 228-236.
10. **[CAPC] Companion Animal Parasite Council. 2016.** Ascarids. [Internet]. Available in: <https://capcvet.org/guidelines/ascarid/>
11. **Carvalho GL, Moreira LE, Pen JL, Marinho CC, Bahia MT, Machado GL. 2012.** A comparative study of the TF-Test®, Kato-Katz, Hoffman-Pons-Janer, Willis and Baermann-Moraes coprologic methods for the detection of human parasitosis. *Mem I Oswaldo Cruz* 107: 80-84. doi: 10.1590/S0074-02762012000100011
12. **[CDC] Centers for Disease Control and Prevention Neglected Parasitic Infections in the United States. 2021.** [Internet]. Available in: <https://www.cdc.gov/parasites/toxocariosis/>
13. **Chen J, Zhou DH, Nisbet AJ, Xu MJ, Huang SY, Li MW, Wang CR, Zhu XQ. 2012.** Advances in molecular identification, taxonomy, genetic variation and diagnosis of *Toxocara* spp. *Infect*

- Genet Evol 12: 1344-1348. doi: 10.1016/j.meegid.2012.04.019
14. **Chen J, Liu Q, Liu GH, Zheng WB, Hong SJ, Sugiyama H, Zhu XQ, Elsheikha HM. 2018.** Toxocariasis: a silent threat with a progressive public health impact. *Infect Dis Poverty* 7: 59. doi: 10.1186/s40249-018-0437-0
  15. **Cong W, Zhang XX, Zhou N, Yu CZ, Chen J, Wang XY, Li B, et al. 2014.** *Toxocara* seroprevalence among clinically healthy individuals, pregnant women and psychiatric patients and associated risk factors in Shandong Province, Eastern China. *PLoS Negl Trop Dis* 8: e3082. doi: 10.1371/journal.pntd.0003082
  16. **Cools P, Vlamincck J, Albonico M, Ame S, Ayana M, Barrios JA, Cringoli G, et al. 2019.** Diagnostic performance of a single and duplicate Kato-Katz, Mini-FLOTAC, FECPAKG2 and qPCR for the detection and quantification of soil-transmitted helminths in three endemic countries. *PLoS Neglect Trop D* 13: 7746-7468. doi: 10.1371/journal.pntd.0007446
  17. **Cringoli G, Rinaldi L, Veneziano V, Capelli G, Scala A. 2004.** The influence of flotation solution, sample dilution and the choice of McMaster slide area (volume) on the reliability of the McMaster technique in estimating the faecal egg counts of gastrointestinal strongyles and *Dicrocoelium dendriticum* in sheep. *Vet Parasitol* 123: 121-131. doi: 10.1016/j.vetpar.2004.05.021
  18. **Das G, Klauser S, Stehr M, Tuchscherer A, Metges CC. 2020.** Accuracy and precision of McMaster and Mini-FLOTAC egg counting techniques using egg-spiked faeces of chickens and two different flotation fluids. *Vet Parasitol* 283: 109-158. doi: 10.1016/j.vetpar.2020.109158
  19. **Estrada MAJ, Jiménez JJC, García VMP, Isaías GT. 2002.** Evaluation of *Eimeria tenella* oocyst total count carried out with both the McMaster camera and the Neubauer haemocytometer from faeces or caecal tissue samples. *Vet Mexico* 33: 73-79.
  20. **Gibson L, Jacobs D, Fox M, Hansen J. 2010.** The RVC/FAO guide to veterinary diagnostic parasitology: diagnostic tests: McMaster egg counting technique: principle. [Internet]. Available in: <https://www.rvc.ac.uk/review/parasitology/EggCount/Purpose.htm>
  21. **Giraldo JC, Guatibonza AM. 2017.** Comparación de sensibilidad y especificidad de dos técnicas de diagnóstico directo: Kato-Katz-Saf y Ritchie-Frick (formol-gasolina) en examen coproparasitológico para la identificación de estadios infectivos de geohelminths en población infantil en edad preescolar y escolar. *Revista Med* 25: 22-41.
  22. **Jones L, Kruszon-Moran D, Won K, Wilson M, Schantz PM. 2008.** *Toxoplasma gondii* and *Toxocara* spp co-infection. *Am J Trop Med Hyg* 78: 35-39.
  23. **Kaminsky R, Groothuisen CM, Zúniga AM, Contreras M, Ferrera AM, Henríquez KC. 2014.** Infección por *Toxocara canis* en perros y riesgo de toxocariasis humana, Honduras. *Rev Med Hondur* 82: 50-57.
  24. **Lucio-Forster A, Mizhquiri JF, Mohammed HO, Kornreich BG, Bowman DD. 2016.** Comparison of the prevalence of *Toxocara* egg shedding by pet cats and dogs in the U.S.A., 2011–2014. *Vet Parasitol* 5: 1-13. doi: 10.1016/j.vprsr.2016.08.002
  25. **Ma G, Holland CV, Wang T, Hofmann A, Fan C, Maizels RM, Hotez PJ, Gasser RB. 2018.** Human toxocariasis. *Lancet Infect Dis* 18: 14-24.
  26. **Nijsse R, Overgaauw P, Ploeger H, Mughini-Gras L. 2020.** Sources of environmental contamination with *Toxocara* spp: an omnipresent parasite. In: *Advances in parasitology*. Academic Press. p 585-614.
  27. **[NRC] National Research Council. 2004.** The development of science-based guidelines for laboratory animal

- care. Washington DC: NRC. Technical report series. 248 p.
28. **Okulewicz A, Perec-Matysiak A, Buñkowska K, Hildebrand J. 2012.** *Toxocara canis, Toxocara cati* and *Toxascaris leonina* in wild and domestic carnivores. *Helminthologia* 1: 3-10.
  29. **[OMS] Organización Mundial de la Salud. 2019.** Bench aids for the diagnosis of intestinal parasites. 2<sup>a</sup> ed. Ginebra: Organización Mundial de la Salud. 32 p.
  30. **Perecki A, Kaziúnait V, Vyðniausk A, Petkevièius S, Malakask A, Ðarkúnas M, Taylor MA. 2007.** A comparison of modifications of the McMaster method for the enumeration of *Ascaris suum* eggs in pig faecal samples. *Vet Parasitol* 149: 111-116. doi: 10.1016/j.vetpar.2007.-04.014
  31. **Prestes-Carneiro LE, Rubinsky-Elefant G, Ferreira AW, Araujo PR, Troiani C, Zago SC, Kaiahara M, et al 2013.** Seroprevalence of toxoplasmosis, toxocariasis and cysticercosis in a rural settlement, Estado de Sao Paulo, Brasil. *Pathog Glob Health* 107: 88-95. doi: 10.1179/2047773213Y.0000000079
  32. **Regis SCS, Mendonça LR, dos Santos Silva N, Dattoli VCC, Alcântara-Neves NM, Barrouin-Melo SM. 2011.** Seroprevalence and risk factors for canine toxocariasis by detection of specific IgG as a marker of infection in dogs from Salvador, Brazil. *Acta Trop* 120: 46-51. doi: 10.1016/j.actatropica.-2011.05.011
  33. **Restrepo IC, Mazo LP, Salazar ML, Montoya MN, Botero JH. 2013.** Evaluación de tres técnicas coproparasitoscópicas para el diagnóstico de geohelminintos intestinales. *Iatreia* 26: 15-24.
  34. **Rojas AC, León MC, Bustamante OR. 2016.** *Toxocara canis*: una zoonosis frecuente a nivel mundial. *Rev Cienc Agric* 13: 19-27.
  35. **Sowemimo OA, Lee YL, Asaolu SO, Chuang TW, Akinwale OP, Badejoko BO, Gyange VP, et al. 2017.** Sero-epidemiological study and associated risk factors of *Toxocara canis* infection among preschool children in Osun State, Nigeria. *Acta Trop* 173: 85-89. doi: 10.1016/j.actatropica.2017.05.030
  36. **Strube C, Heuer L, Janecek E. 2013.** *Toxocara* spp infections in paratenic hosts. *Vet Parasitol* 193: 375-389. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.12.033
  37. **Taylor MA, Coop RL, Wall RL. 2015.** *Veterinary parasitology*. 4<sup>th</sup> ed. India: Wiley Blackwell. 1032 p
  38. **Uchôa FFM, Sudré AP, Campos SDE, Almosny NRP. 2018.** Assessment of the diagnostic performance of four methods for the detection of *Giardia duodenalis* in fecal samples from human, canine and feline carriers. *J Microbiol Meth* 145: 73-78. doi: 10.1016/j.mimet.2018.01.001
  39. **Webster JP, Gower CM, Knowles SC, Molyneux DH, Fenton A. 2016.** One health - an ecological and evolutionary framework for tackling Neglected Zoonotic Diseases. *Evol Appl* 9: 313-333. doi: 10.1111/eva.12341
  40. **Woodhall DM, Eberhard ML, Parise ME. 2014.** Neglected parasitic infections in the United States: toxocariasis. *Am J Trop Med Hyg* 90: 810-813. doi: 10.4269/ajtmh.13-0725