



**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR**

**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS**

**CARRERA DE MICROBIOLOGÍA**

**Comparación entre la técnica de concentración de heces con formol-éter y la muestra directa para la detección de parásitos en canes dentro de un hospital veterinario y centros de acogida de la ciudad de Quito.**

**Disertación previa a la obtención del título de Microbióloga**

**MARÍA GABRIELA MEDRANO MORENO**

**Quito, 2022**

## CERTIFICACIÓN

Certifico que la Disertación de Microbióloga de la Srta. María Gabriela Medrano Moreno ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Elena Granda', is centered on a light-colored rectangular background.

Mgtr. Elena Granda Moreno

Directora de la Disertación

Quito, 12 de abril de 2022

## DEDICATORIA

Dome Lola, a ti te dedico este esfuerzo.

Esta investigación y, más que nada, todos mis años de estudio que, poco a poco, se han convertido en cosas tangibles y en mi forma de mostrarte el mundo. Sí, este mundo caótico y hermoso, con mis honguitos y mis bacterias, con mi amor por la ciencia y mis sinceros deseos de que logres tener un planeta donde vivir la vida que tú quieras.

Desde la ciencia se puede hacer todo. Por eso te cuento, todos los días, cómo funciona cada cosa y cómo nosotros somos capaces de cambiar el mundo con nuestras acciones.

Hija, tú eres la razón más válida que tengo para demostrar que se puede hacer absolutamente todo si estás verdaderamente convencida de lo que quieres.

Si yo puedo, tú puedes más.

¡Por ti, corro!

## AGRADECIMIENTOS

Agradecer es poco, en comparación con todo el esfuerzo que han hecho estas personas por mí.

A Diego y Magdalena, mis papás, que con infinita paciencia me han cuidado y criado para que hoy puedan ver que siempre he podido y siempre podré.

A Gustavo, mi esposo, que ha logrado ver en mí a toda una mujer de ciencia y que siempre se asombra con todas las explicaciones científicas que le puedo dar. Gracias por entender mi pasión y apoyarme en el camino. Gracias por escuchar, por todas las conversaciones y chistes que sólo contigo puedo tener. Tú cambiaste la ecuación de mi vida.

A mis hermanos, Esteban y Juan, por sus consejos y su preocupación constante.

A mis ñañas, Dani y Stephy, que desde niñas han estado conmigo en cada evento y momento. A pesar de la distancia todo sigue igual.

A mis amigos, Denisse, Mafer, Jorge, Alejo, Steven y todo mi curso hermoso de Microbiólogos. Niños, ustedes me acompañan desde hace más de una década y otros desde hace 4 años. Debo decir que sin ustedes este camino nunca hubiese sido el mismo, gracias por cada minuto de risas, discusiones científicas y de la vida. No puedo pedir mejor *squad* ustedes y, créanme, me siento honrada de contar con su amistad.

Finalmente, a Elenita Granda. Usted es la verdadera esencia de una Microbióloga, mis gracias eternas por la confianza y el apoyo, por recibirme en la “Cato”, ser siempre honesta con todo y brindarme su conocimiento con esa intensidad tan suya. Así se ve el amor por la ciencia y la docencia.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

CERTIFICACIÓN.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABLAS.....	iii
1. RESUMEN.....	5
2. ABSTRACT.....	6
3. INTRODUCCIÓN.....	7
3.1. OBJETIVOS.....	11
3.1.1. Objetivo General.....	11
3.1.2. Objetivos Específicos.....	11
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
4.1. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	12
4.2. SELECCIÓN DE LUGARES Y TOMA DE MUESTRAS.....	12
4.2.1. Lugares.....	12
4.2.2. Toma de muestras.....	12
4.3. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS.....	14
4.3.1. Método de muestra húmeda (Lugol-Salina).....	14
4.3.2. Método de concentración de heces el formol-éter (Ritchie).....	14
4.4. RASTREO DE HUEVOS DE PARÁSITOS AL MICROSCOPIO ÓPTICO.....	16
4.5. COMPARACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE LOS MÉTODOS ESTUDIADOS..	16
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	19
5.1. DISTRIBUCIÓN DE LOS DATOS.....	19

5.1.1. Por Sexo.....	19
5.1.2. Por Raza.....	20
5.1.3. Por Parásito.....	20
5.2. DEMOSTRACIÓN DE LA SENSIBILIDAD DE LA TÉCNICA.....	20
5.3. RECOMENDACIONES SOBRE LA METODOLOGÍA.....	22
5.3.1. Metodología Propuesta .....	22
5.3.2. Capacitación al personal del Hospital Veterinario.....	23
6. CONCLUSIONES .....	25
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27
8. FIGURAS.....	33
9. TABLAS .....	38
10. ANEXOS.....	47

**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1. Diagrama de barras de las frecuencias utilizada para la construcción del estadístico Chi cuadrado.....	33
Figura 2. Resultados del cálculo del estadístico Chi cuadrado en el software R.. .....	33
Figura 3. Resultados del test de Cramer. ....	33
Figura 4. Prevalencia de parásitos detectados con Ritchie. ....	34
Figura 5. Prevalencia de parásitos detectados con Lugol-Salina.....	34
Figura 6. Análisis de la frecuencia en función de la fase de desarrollo del parásito en machos y hembras.....	35
Figura 7. Frecuencia de especies de parásitos halladas en machos y hembras con la técnica de Ritchie.....	36
Figura 8. Frecuencia de especies de parásitos halladas en machos y hembras con la técnica de Lugol-Salina. ....	37

**LISTA DE TABLAS**

Tabla 1. Matriz de datos creada en Excel para el registro y manejo de datos generados en la investigación <sup>1</sup> .....	38
Tabla 2. Matriz de doble entrada para análisis cualitativo de datos. ....	43
Tabla 3. Cantidad de muestras analizadas con la técnica de Lugol-Salina <sup>1</sup> .....	44
Tabla 4. Cantidad de muestras analizadas con la técnica de Ritchie <sup>1</sup> . ....	45
Tabla 5. Porcentaje de muestras analizadas por sexo. ....	46
Tabla 6. Cantidad de muestras analizadas clasificadas por raza de can. ....	46
Tabla 7. Porcentaje de similitud de la pruebas realizadas. ....	46

**LISTA DE ANEXOS**

Anexo 1. Materiales y equipos. ....	47
Anexo 2. Tabla para el cálculo de Chi cuadrado. ....	48
Anexo 3. Fotografías de los parásitos identificados. ....	49

## 1. RESUMEN

Las enfermedades endoparasitarias en perros, cuya población va en constante aumento, se han convertido en un problema de consideración veterinaria y humana. A esto se suman las zoonosis como otro factor de interés. Tal es así que, en Europa, Norteamérica y África, resaltan estudios que han demostrado que las parasitosis son la principal causa de enfermedad en canes y sus dueños. Además, indican la necesidad de mejorar la sensibilidad en el análisis de muestras con sospechas de parásitos. En Ecuador, un estudio realizado en Cuenca demostró que el 32% de los perros que visitaban un parque de la ciudad tenían parasitosis de distinta índole. Por este motivo, se planteó comparar el método de muestra húmeda directa con solución salina y lugol contra el método de Ritchie (concentración con formol-éter). Para ello, se realizó un muestreo durante tres meses en tres lugares distintos de la ciudad de Quito. Se obtuvieron 60 muestras de heces de perros. En cada recolección se tomaron datos correspondientes al sexo, raza y fecha. Debido a la naturaleza de las muestras, estas se procesaron en un plazo máximo de 24 horas. Cada muestra se examinó con ambas técnicas y los resultados de ausencia/presencia más la identificación por género y especie fueron analizados estadísticamente. El análisis demostró que, aunque los métodos no son independientes, la técnica de Ritchie sí es más sensible para la detección de helmintos como *Toxocara canis*, *Taenia* sp. y *Ancylostoma caninum*. Adicionalmente, las muestras positivas se conservaron en formol y refrigeración. Esto último con propósitos educativos dentro del laboratorio donde fue realizada la investigación. Finalmente, en el proceso de experimentación se establecieron nuevos parámetros sobre la técnica. Se revisó el tipo de filtrado, el tiempo de centrifugación y el volumen de solución de Ritchie que se debe utilizar. Es así como, luego de la comparación con la literatura existente, se propuso una estandarización en el procedimiento. Con estos nuevos lineamientos se permitirá que todo tipo de analista obtenga resultados con mejor sensibilidad y se evite el reporte de falsos negativos.

Palabras clave: estandarizar, lugol, parámetros, parásitos, Ritchie, salina.

## 2. ABSTRACT

Endoparasitic diseases in dogs, whose population is constantly increasing, have become a problem of veterinary and human consideration. In addition to this, zoonoses are another factor of interest. In Europe, North America and Africa, studies have shown that parasitosis are the main cause of disease in dogs and their owners. On top of that, they indicate the need to improve the sensitivity in the analysis of samples with suspected parasites. In Ecuador, a study conducted in Cuenca showed that 32% of dogs visiting a city park had parasitosis of various kinds. For this reason, it was proposed to compare the direct wet sampling method with saline and lugol against the Ritchie method (concentration with formalin-ether). For this purpose, a sampling was done during three months in three separate places in the city of Quito. Sixty samples of dog feces were obtained. In each collection, data corresponding to sex, breed and date were collected. Due to the nature of the samples, they were processed within 24 hours. Each sample was examined with both techniques and the results of absence/presence plus identification by gender and species were statistically analyzed. The analysis showed that, even if the methods are not independent among each other, Ritchie's technique is much more sensitive for the detection of helminths such as *Toxocara canis*, *Taenia* sp. and *Ancylostoma caninum*. Additionally, positive samples were preserved in formalin and refrigerated. The latter for educational purposes within the laboratory where the research was performed. Finally, in the process of experimentation, new parameters on the technique were established. The type of filtration, the centrifugation speed, and the volume of Ritchie's solution to be used were revised. Thus, after comparison with the existing literature, a standardization of the procedure was proposed. With these new guidelines, all types of analysts will be able to obtain results with better sensitivity and avoid reporting false negatives.

Key words: lugol, parameters, parasites, Ritchie, saline, standardize.

### 3. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades endoparasitarias en canes se han convertido en un grave problema de salud pública, tanto en la región como en la ciudad de Quito (Dantas et al., 2020; Sinchi, 2017). Este problema se agrava año tras año porque la tenencia de animales como mascotas aumenta y, al mismo tiempo, su abandono. Todo esto convierte a los parques recreativos, las calles, las casas, los refugios y los hogares de acogida en las fuentes de contacto, infección y reinfección más frecuentes (Duncan, Koons, Litherland, Little y Nagamori, 2020; Lempereur et al., 2020; Sommer, Rupp, Pietsch, Kaspar y Beelitz, 2018). Evidentemente, la convivencia implica dos cosas: que una zoonosis puede aparecer y que la salud de los animales está correlacionada con la de sus dueños (Barriga, 2003).

Un endoparásito es un organismo que habita dentro del cuerpo de un hospedador y es capaz de producir infecciones graves (Bowman, 2014). La creciente población de perros y gatos hace que las enfermedades causadas por dichos agentes sean una preocupación de consideración veterinaria y humana, debido a las zoonosis o enfermedades transmisibles de animales vertebrados al hombre (Barriga, 2003; Dantas et al., 2020).

En estudios realizados en Europa y Norteamérica, se observó que la prevalencia de parasitosis es alta. Estas son patologías asociadas con agentes pertenecientes a uno de los dos grandes grupos de parásitos: protozoos y helmintos (Arguero, 2018). Por ejemplo, se observó que el 31% de los perros que visitan parques exclusivos para su uso se infectan con varios parásitos y un 19% lo hacen con nematodos (Duncan et al., 2020). En Europa, el contagio es menor, pero la concientización sobre los exámenes periódicos preventivos es poca (Lempereur et al., 2020). En una investigación realizada en Cuenca-Ecuador, se mostró que el 32% de los perros que visitan un parque de la ciudad están infectados con parásitos de distinta índole (Sinchi, 2017).

Asimismo, otras investigaciones realizadas en África y Europa establecen que vidas de animales y humanos pudieron haber sido salvadas, si estas enfermedades hubiesen sido detectadas temprana y correctamente (Mbong et al., 2020; Perrucci et al., 2017; Tamponi et al., 2017). Pero para poder hacerlo se requiere de una buena sensibilidad y especificidad en las

pruebas diagnósticas. La sensibilidad está definida como la capacidad de la técnica para identificar correctamente a las muestras positivas, es decir, aquellas que verdaderamente contienen parásitos. La especificidad, en cambio, es la eficacia del método para identificar correctamente a las muestras negativas o que no poseen evidencia de parásitos (Lalkhen y McCluskey, 2008).

Un caso relevante se registró en Italia. Allí, se concluyó que, de haber detectado correctamente la presencia de *Neospora caninum*, se pudo haber alargado la vida de un can con una enfermedad inmunosupresora (Perrucci et al., 2017). En la misma publicación, se determinó, además, que, previo a la administración de drogas para el tratamiento de este tipo de afecciones, es necesario establecer la presencia de protozoarios. Lo mismo ocurre con las giardiasis o los nematodos pulmonares que afectan tanto a poblaciones caninas como felinas (Sommer et al., 2018; Tamponi et al., 2017).

En los últimos años, se ha demostrado el impacto de las técnicas de diagnóstico en la consecución de resultados seguros (Ballweber, Beugnet, Marchiondo y Payne, 2014; Mbong et al., 2020). El método de muestra húmeda con solución salina o lugol se utiliza para identificar trofozoítos de protozoos y otras estructuras que flotan mal o se distorsionan fácilmente (Mohammed, Sampson, Bridgemohan, Khan y Stewart, 2017). Es considerado el *gold standard* por su facilidad de implementación y su utilidad en la detección de estadios móviles de los parásitos.

Por otra parte, la técnica de concentración es aquella que permite que las formas parasitarias se conserven mejor al evitar que reactivos ácidos afecten su morfología. También posibilita un campo de observación más limpio y es uno de los métodos más eficaces para detectar huevos de variadas especies (Soares et al., 2020). A la par, se define a una técnica de sedimentación como aquella que concentra huevos en el sedimento y elimina gran parte de los desechos fecales (Bowman, 2014; Demelash et al., 2016). La técnica de Ritchie o de formol-éter es un ejemplo de esto (Gallo, 2014).

Durante años, se ha tratado de establecer un método eficiente, rápido y de bajo costo para identificar endoparásitos en heces de canes (Manser, Sáez y Chiodini, 2016). Si bien el *gold standard* es un método rápido y económico, carece de sensibilidad (Mohammed et al.,

2017). Por esta razón, un método comúnmente utilizado es el de concentración, que incrementa la sensibilidad en la detección de forma considerable (Ballweber et al., 2014).

Se ha visto que factores como el tiempo del análisis, las soluciones químicas utilizadas, el tipo de parásitos, entre otros, favorecen indistintamente a los métodos de identificación (Manser et al., 2016). Igualmente, las capacidades de flotabilidad de los parásitos cambian acorde a su densidad específica y el estadio de crecimiento en el que se encuentren (Uehlinger et al., 2017). Debido a esto, se observan variaciones en la sensibilidad de los métodos propuestos (Dryden et al., 2020).

Un análisis con 239 técnicos de distintos niveles de entrenamiento fue realizado a través de ocho años en la Universidad de Kansas. Allí se demostró que la sedimentación por centrifugación es una mejor técnica sobre otros métodos como la flotación (Dryden et al., 2020). Las modificaciones que buscan la estandarización de esta técnica han dado paso al desarrollo de kits listos para el uso en el laboratorio. Estos tienen la ventaja de automatizar el flujo de trabajo y hacer más veloz el procesamiento de las muestras (Khanna, Sagar, Khanna y Chawla, 2018). A pesar de esto, una de las mayores limitantes en el laboratorio es el presupuesto.

La gran mayoría de dueños de mascotas no están dispuestos a invertir grandes cantidades de dinero en el cuidado de sus animales (Duncan et al., 2020; Lempereur et al., 2020). Históricamente, las técnicas de identificación de parásitos han sido modificadas para poder adaptarlas a la situación socioeconómica de la población afectada. Así, los métodos de sedimentación han sido modificados con la utilización de formalina o alcohol polivinílico. Sin embargo, esto ha hecho que los estándares de identificación sean poco efectivos (Carroll, Cook y Turner, 1983; Lesser, 1958; Soares et al., 2020). Por este motivo, se entiende que no se haya desplazado a la muestra húmeda como una técnica vigente, pues su uso permite establecer parámetros de control dentro de la investigación de parásitos (Mohammed et al., 2017; Rosales y Bautista, 2020).

Las ventajas de estandarizar y mostrar datos relevantes sobre la forma de detectar a los parásitos son varias. Con un método claramente definido se crea un flujo de trabajo eficaz en los laboratorios, se puede mantener la trazabilidad del ensayo y es posible crear bases de datos confiables sobre los hallazgos para su uso en entidades de regulación oficiales o en otras

investigaciones (Ballweber et al., 2014). En resumen, la vigilancia y control epidemiológico de las enfermedades endoparasitarias en canes podría empezar a implementarse en la ciudad.

En áreas altamente endémicas como Quito, se usan técnicas menos sensibles. Sin embargo, como se indicó previamente, si se requiere evaluar la prevalencia para poder establecer vigilancia o eliminar enfermedades, debe recurrirse al uso de métodos altamente sensibles y específicos (Arguero, 2018; Mbong et al., 2020). Por ejemplo, en 2018, se realizaron dos investigaciones en la Universidad Central del Ecuador que describen de forma contundente el problema de la elevada prevalencia de parásitos en las heces de los animales. En estas investigaciones, también se hace hincapié en la gran cantidad de animales libres y la irresponsabilidad de los dueños que no recogen y disponen de forma adecuada los desechos de sus mascotas, permitiéndose el fácil transporte de los parásitos hacia otros animales y humanos (Arguero, 2018; Moreta, 2018).

Sin embargo, no se encuentran registros adecuados del tipo de análisis realizado y sus ventajas o desventajas. Resalta la falta de estandarización y convierte a la presente propuesta en la primera en exponer la efectividad del método de muestra húmeda (actual *gold standard*) versus el método de concentración con formol-éter. Por ello, la presente investigación está destinada a resolver el problema de la metodología existente y, con esto, sentar una base de análisis que muestre qué parásitos son los más comunes en las atenciones veterinarias de la ciudad de Quito.

Es así como, con estos antecedentes, se justifica la propuesta investigativa de una verificación de las técnicas existentes para la correcta identificación de los parásitos causantes de estas enfermedades. Su ejecución beneficiaría a toda la comunidad y permitiría un desarrollo saludable de las relaciones humano-animales. Por tanto, cabe preguntar: ¿cuál de los dos métodos propuestos, la técnica de concentración de heces o la muestra directa, es más sensible para la detección de parásitos en canes?

### **3.1.OBJETIVOS**

#### **3.1.1. Objetivo General**

Comparar la técnica de concentración de heces con formol-éter y la técnica de muestra directa para la detección de parásitos en canes dentro de un hospital veterinario y centros de acogida de la ciudad de Quito.

#### **3.1.2. Objetivos Específicos**

Identificar cuál de las dos técnicas propuestas es más sensible para la detección de parásitos en canes.

Recomendar una técnica detallada estándar para la detección de parásitos en canes.

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1.DISEÑO EXPERIMENTAL

Esta investigación fue realizada con un Diseño Completamente al Azar, donde se pudo analizar, de forma cualitativa, la presencia o ausencia de parásitos. Por este motivo, el análisis estadístico se basó en la creación de una matriz de doble entrada que permita comparar cuál de ambos métodos probados fue más sensible a la hora de la detección de parásitos. Así, también se determinó que se requería del uso de la prueba de Chi cuadrado como forma de estimación de la diferencia entre métodos y finalmente se comprobó su nivel de asociación con el uso de la prueba de Cramer.

Para la investigación se contó con 60 muestras de heces (tomadas de forma aleatoria), dichas muestras fueron recogidas de un hospital veterinario y dos centros de acogida. Los datos fueron codificados internamente para guardar la confidencialidad solicitada por las dos instituciones. El factor en estudio fue la presencia o ausencia de parásitos en las muestras de heces. Los tratamientos que se aplicaron a cada muestra fueron rastreo en placa de muestra húmeda y rastreo con el método de Ritchie. La variable de respuesta fue la presencia o ausencia de parásitos en cada muestra fecal analizada.

### 4.2.SELECCIÓN DE LUGARES Y TOMA DE MUESTRAS

#### 4.2.1. Lugares

Los lugares de toma de muestra se escogieron luego de observar que la población canina de Quito se puede diferenciar en aquella proveniente de dueños que se encargan del cuidado de su mascota y la que está abandonada. Es así como se decidió solicitar el apoyo de un hospital veterinario y dos centros de acogida para la investigación.

#### 4.2.2. Toma de muestras

La toma de muestras se realizó de dos formas:

- **Hospital veterinario:** se planificó la recolección de las muestras en función de su disponibilidad en el hospital, esto debido a que no todos los pacientes que arriban al

mismo lo hacen por motivos apegados a esta investigación (problemas gastrointestinales, por ejemplo). Así, cada vez que una muestra llegaba al hospital, el personal calificado la recogió para que fuese analizada. Para garantizar que la muestra tenía las condiciones adecuadas para el análisis, una vez recogida, en horario de 8 am a 1 pm, se procedía a retirarla del hospital inmediatamente por la investigadora. Si estaba fuera de ese plazo, el personal del hospital se encargó de su almacenamiento bajo refrigeración a 4°C, de este modo la(s) muestra(s) se retiraron al día siguiente a las 8am, con esta medida se mantuvo el plazo de análisis no superior a 24 horas después de la toma. La recolección fue hecha en frascos estériles de plástico con tapa rosca, previamente etiquetados con la codificación externa propia del hospital, los datos de sexo, raza y fecha de toma. En el laboratorio de la PUCE se agregó la codificación interna que constaba de las siglas del sitio de toma y el número de muestra del día, correspondiente al número total de muestras obtenido. Con esta doble codificación se mantiene la confidencialidad del lugar de recolección y la trazabilidad de los resultados.

- **Centros de acogida:** La planificación para estas muestras fue distinta, debido a que fueron tomadas directamente por la investigadora. Se mantuvo una reunión con la administración de los centros de acogida y se acordó asistir una vez a la semana en horario de 9 am a 11 am para realizar la toma. Inmediatamente, luego de la recolección y codificación pertinente, se llevaron las muestras al laboratorio de la PUCE. El horario escogido para esta actividad se determinó después de identificar el momento en el que se acababa de realizar el aseo del patio donde se ubican los canes. Se esperó a que hagan una deposición fresca que fue recogida con guantes y con el uso de un traje de bioseguridad con mascarilla. Se utilizó doble codificación, la primera indica el número de muestra correspondiente al día de toma y la segunda a la numeración del total de muestras, al igual que con el hospital se conserva la confidencialidad y se garantiza la trazabilidad. Para la correcta toma se utilizaron frascos estériles de plástico con tapa rosca, etiquetados con datos de sexo, fecha y código de muestra. Una vez conseguidas un mínimo de tres a un máximo de cinco muestras, se volvió al laboratorio para su procesamiento inmediato.

### **4.3.PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS**

#### **4.3.1. Método de muestra húmeda (Lugol-Salina)**

Para trabajar con la muestra húmeda, se utilizó la técnica de Benjamín (1962), descrita en Gallo (2014). Esta requirió de un microscopio óptico y dos reactivos: solución salina al 0.85% y lugol al 3%. Iniciamos con la codificación de las placas; número de muestra del día, la fecha y las iniciales del analista. Con este proceso completo, se procedió a colocar las soluciones en las placas respectivas, se emulsionó sobre un portaobjetos una pequeña cantidad de cada muestra de heces. Se tomó con un palillo para colocar sobre el lugol y con otro para la solución salina. Luego de un minuto de espera para que se estabilice la mezcla, se colocó un cubreobjetos sobre cada sección y la placa fue observada al microscopio desde el objetivo de 4x donde se corrigió la intensidad de la luz en diafragma de iris y diafragma de campo al 50% de apertura hasta llegar al lente de 40x que es el aumento de reporte. Se tomaron fotografías representativas de cada muestra.

#### **4.3.2. Método de concentración de heces el formol-éter (Ritchie)**

En el caso de la técnica de Ritchie (1948), se aplicó la versión descrita por Gallo (2014), donde se utilizó los siguientes equipos: un microscopio óptico, una centrífuga y una balanza digital. El listado completo de los materiales requeridos se indica en la sección de anexos (**Anexo 1**).

##### **4.3.2.1.Preparación de la solución de Ritchie**

Inicialmente, se preparó 1 litro de la solución de formol-sal. Esta estuvo compuesta de 5 g de NaCl que se disolvieron con calor suave (a través de una placa de calentamiento) en 1 L de agua destilada. Luego de que se disolvió la sal, se agregaron 50 mL de formol al 37%. Se mezcló y conservó en una botella de vidrio con tapa rosca. El envase se identificó con el nombre de la preparación, la fecha de elaboración y las siglas de la investigadora responsable. Para su conservación se mantuvo en un ambiente limpio y seco, sin protección de la luz. A través de búsqueda bibliográfica, se encontró que distintos autores utilizaban entre 10 y 20 mL de solución de Ritchie por cada 2 g de heces (Anécimo et al., 2012; Restrepo, Mazo, Salazar, Montoya y Botero, 2013; Rimache y Bautista, 2020; Wakid, 2009). Además, se realizó una comparación

con la técnica de Sheather (también de concentración) descrita en Gallo (2014); en esta técnica se usan 50 mL de solución por cada 3 a 5 g de muestra.

Con estos datos se vio que la relación numérica, por término medio, es de 15 a 17 mL por cada gramo de heces. De esta forma se pudo establecer que para que la muestra sea apta; es decir que el campo óptico tenga claridad y los restos de las heces no opaquen u obstruyan la identificación de parásitos, se requería 50 mL de solución de Ritchie con 3 gramos de heces. Finalmente, se contó con 150 ml de éter, para poder colocar 2 mL en cada muestra que se procesó.

#### **4.3.2.2.Preparación de la muestra y análisis**

Se inició el proceso al homogeneizar, con un mortero, 3 g de cada muestra de materia fecal en 50 mL solución de formol-éter. Luego, se filtró con una capa triple de gasa de algodón estéril, misma que se colocó en un embudo de cristal apoyado en un trípode. Los resultados fueron más limpios de restos y no se alteró la aptitud de la muestra. El vástago estaba dentro de un vaso de precipitación que recolectó el líquido filtrado.

Se procedió a trasvasar 10 mL del filtrado a un tubo de centrifuga tipo Falcon® (previamente etiquetado con el código de la muestra, el sexo y la fecha de análisis) y se le agregaron 2 mL de éter con la ayuda de una pipeta Pasteur. Una vez tapado el tubo, se agitó enérgicamente hasta observar homogeneidad en esta mezcla antes de iniciar el proceso de centrifugación.

A continuación, se centrifugó a 1500 rpm durante diez minutos. La técnica de Gallo (2014) propone tres minutos, pero al procesar las muestras con dicho tiempo se observó que no había una buena separación de fases y la cantidad de restos era abundante, por lo que se aumentó el tiempo de centrifugación de manera paulatina hasta estandarizarlo en 10 minutos. Se tomó en cuenta que distintos autores hablan sobre la posibilidad de modificar la técnica para asegurar su mejor desempeño y luego de la comparación con otras descripciones se definió el tiempo (Ballweber et al., 2014; Carroll et al., 1983). Con la modificación del tiempo se obtuvieron los mismos resultados (mismos parásitos y formas parasitarias observadas), pero una disminución progresiva de restos que generó mejor visualización de los campos ópticos. Una vez terminada

la centrifugación, se eliminó el sobrenadante mediante inversión rápida y en un solo movimiento del tubo en un recipiente de desecho.

Posteriormente, con una pipeta Pasteur, se homogenizó el sedimento, se tomó una gota de este para colocarla entre un porta y cubreobjetos que previamente estaba codificado.

Finalmente, se realizó la observación en campos continuos en toda la extensión de la placa en lente de 10x y para confirmar la presencia de algún parásito se observó en 40x, este fue el lente de reporte. El mismo procedimiento se realizó en todas las muestras procesadas. Se tomaron fotografías representativas de cada muestra.

#### **4.4.RASTREO DE HUEVOS DE PARÁSITOS AL MICROSCOPIO ÓPTICO**

Se realizó un barrido completo de cada placa. Dicho barrido consistió en observar cada campo óptico al mover la placa de abajo hacia arriba y de derecha a izquierda con el objetivo de 10x. Cuando se identificaba un elemento sospechoso, se cambiaba el objetivo a 40x para confirmar o descartar la posible forma parasitaria encontrada. La búsqueda fue efectuada tanto en la muestra procesada con el método de Ritchie, como con el método de Lugol-Salina. De acuerdo con Xia (2020), debido a que no se trata de una investigación que plantee una nueva metodología (es decir que requiera de validación) no se realizaron conteos de huevos o repeticiones por triplicado.

#### **4.5.COMPARACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE LOS MÉTODOS ESTUDIADOS**

Para la organización de los resultados obtenidos en las dos técnicas evaluadas, se creó una matriz en Excel (**Tabla 1**) que contenía los siguientes parámetros informativos de cada muestra:

- DATOS INFORMATIVOS
  - Fecha de recolección
  - Sitio de recolección
  - Especie del animal a la que pertenece la muestra

- Nombre: para el caso de los canes del hospital veterinario, pues sirve para poder reportar a los dueños de las mascotas. En el caso de los centros de acogida se anotó como SN debido a su condición de calle.
- Raza del animal de donde proviene la muestra
- Sexo
- Codificación externa: para el hospital veterinario correspondió a la codificación colocada por el personal del hospital; en los centros de acogida esta correspondió al orden de recolección del día.
- Codificación interna: para ambos casos correspondió al número global de muestras de cada lugar. Para el hospital veterinario se usó el código HVET acompañado del número de muestra y el año de recolección. En el caso de los centros de acogida fue lo mismo, pero con las siglas CA.
- TÉCNICA DE MUESTRA HÚMEDA (SOLUCIÓN SALINA/LUGOL)
  - Fase de desarrollo del parásito encontrado
  - Género y especie del parásito encontrado
- TÉCNICA DE CONCENTRACIÓN (RITCHIE)
  - Fase de desarrollo del parásito encontrado
  - Género y especie del parásito encontrado
- OBSERVACIONES
  - Se anotó alguna ocurrencia especial, como el número de huevos vistos; la presencia de formas adultas, como gusanos vivos en heces, etc.

De esta forma se pudo clasificar en muestras positivas y negativas, considerándose positivas a todas que presentaron, al menos, una forma parasitaria y negativas a las que se encontraron libres de ellos. Se realizaron fotografías directas de los parásitos encontrados en lente de 40x, para luego ser revisadas con la ayuda de fuentes bibliográficas específicas, estas fueron: Parasitología Veterinaria de Georgis (10ma Ed.), Parasitología Veterinaria de Taylor, Coop y Wall (4ta Ed.) y el Manual de Referencia de Parasitología Veterinaria de Foreyt (5ta Ed). A esta investigación bibliográfica se sumó la experticia de la investigadora y la tutora, lográndose identificar por género y especie a los parásitos hallados.

Los datos recopilados fueron de carácter cualitativo, por este motivo se aplicó una matriz de doble entrada (**Tabla 2**). Este tipo de matriz resulta útil en esta investigación porque permite intercalar datos no cuantitativos a través de sus columnas y filas. Así, los datos que se cruzan y resultan coincidentes se convierten en valores seguros o datos verdaderamente positivos, lo mismo pasa con los negativos. Cuando la matriz está terminada se puede determinar la sensibilidad de los tratamientos con una relación matemática que determina el porcentaje de similitud (Czaplewski, 2003).

Debido a que se trata de datos cualitativos, se efectuó un análisis de independencia de las hipótesis a través de la prueba de Chi cuadrado (**Anexo 2**) (McHugh, 2013). Para determinar la validez estadística de la comparación se aplicó la prueba de Cramer de asociación o fuerza del efecto, que permite determinar cuán relacionadas están las variables en estudio (McHugh, 2013). Todo esto se trabajó en el software libre R y Microsoft Excel 365 con la licencia provista para los estudiantes de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se comparó la técnica de concentración de heces y la técnica de muestra directa para la detección de parásitos en canes de un hospital veterinario y centros de acogida de la ciudad de Quito. Primero, se debe hacer una aclaración sobre la estadística que se presenta. Si bien las muestras de heces fueron 60, en algunos casos se presentaron dos o más especies de parásitos en una misma muestra y también se dio el caso de encontrar dos estadios de desarrollo del mismo parásito (**Tablas 3 y 4**). Debido a que el software utilizado no detecta la diferencia se separaron estos resultados particulares y se trabajó un universo final de 64 muestras (**Figura 1**). El índice de confianza con el que se trabajó fue del 95 % (p-value de  $4.45^{-13}$ ). El resultado del test de Cramer fue de 0.612, lo que demuestra una alta asociación entre las hipótesis propuestas (**Figuras 2 y 3**).

### 5.1.DISTRIBUCIÓN DE LOS DATOS

Los datos que fueron recogidos en la matriz de principal de Excel (**Tabla 1**) fueron analizados tanto por la matriz de doble entrada (**Tabla 2**) como por comparación de medias, conteos y porcentajes de prevalencia. Se tomó en cuenta a tres categorías demostraron la relevancia estadística necesaria para este estudio y para otros estudios posteriores que requieran de datos sobre la distribución de los parásitos encontrados. Los parámetros escogidos fueron sexo, raza y tipo de parásito hallado.

#### 5.1.1. Por Sexo

Se observó una distribución casi equitativa de los canes en cuanto a su sexo (**Tabla 5**), donde el mayor porcentaje fue el de las hembras con el 61% y los machos fueron el 39%. Se sugiere que el porcentaje ideal para el análisis de muestras sea del 50% para cada sexo, sin embargo, aunque no hubo dicha distribución ideal, los valores hallados fueron útiles pues denotaron cómo está compuesta la población de los centros de acogida (de donde se recogieron en su mayoría los datos de investigación). La investigación de Mejía (2019) indica que esto se debe, principalmente, a que las hembras son abandonadas con mayor frecuencia por ser aquellas que pueden traer más crías al dueño que ya no se encuentra en condiciones de alojar a más animales.

### 5.1.2. Por Raza

La distribución por la raza de los canes muestra que la raza predominante es la mestiza. 57 de las 60 muestras pertenecen a esta raza (**Tabla 6**), los resultados dan una idea clara de cómo está compuesta la población canina de la ciudad de Quito. Así, se ha conseguido obtener un dato muy importante que permitirá establecer prevalencias de parasitosis en investigaciones futuras dentro del país.

Además, estos datos mantienen coherencia con las investigaciones hechas en Europa y Latinoamérica donde se sostiene que hasta el 70% de los perros en abandono son mestizos y que, a su vez, se correlaciona con su estado de salud; pues debido a su origen estos animales son menos cuidados y más propensos a infecciones parasitarias (Fatjó y Calvo, 2014; Luna-Cortés, 2019).

### 5.1.3. Por Parásito

Se detectó la presencia de *Giardia lamblia* como el parásito más común y también se demostró la facilidad de su observación con ambas técnicas. En la técnica de lugol-salina se reportaron 16 ocurrencias y en la técnica de Ritchie 10 ocurrencias. *Ancylostoma caninum* fue el segundo parásito más encontrado, se tuvieron 10 ocurrencias con la técnica de Ritchie y una en Lugol-Salina. En el caso de *Toxocara canis* fueron 5 observaciones en Ritchie y una en Lugol-Salina y *Taenia* sp. tuvo 2 y 1, respectivamente (**Figuras 4 y 5**).

Con estos datos se ve, claramente, que la capacidad de detección del método de Ritchie es superior hasta por 10 veces. Este método, debido a los filtrados, uso de formol y éter y separación de fases con centrifugación, hace que el campo óptico sea muy claro (Anécimo et al., 2012). La posibilidad de que los parásitos se oculten en el *debris* es mucho menor y se confirma con los datos obtenidos.

## 5.2.DEMOSTRACIÓN DE LA SENSIBILIDAD DE LA TÉCNICA

De acuerdo con los resultados observados se estimó que la técnica de Ritchie no es independiente de la técnica de Lugol-Salina, sin embargo, la cantidad de veces que el método propuesto fue mejor se estimó en un 29.69 % (**Tabla 7**). Este porcentaje se determinó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Similitud} = \frac{\text{Número de Coincidencias}}{\text{Número Total de Muestras}} \times 100 = \frac{45}{64} \times 100 = 70.31\%$$

$$100\% - 70.31\% = 29.69\%$$

Se explica de la siguiente forma: se dieron 45 coincidencias, es decir ocasiones donde se detectó un parásito y se confirmó con ambos métodos u ocasiones donde con ninguno de los métodos se observó algún parásito. Se tuvieron 64 muestras prácticas, entonces al calcular la relación entre estos números se obtiene que el 70.31 % de las ocasiones, las dos técnicas fueron similares, o que tuvieron la misma capacidad de detección. Luego este valor se resta del 100 % y se obtiene 29.69 % que es el porcentaje de veces en el que ambas pruebas no pueden detectar el mismo parásito. Este es llamado el porcentaje de similitud e indica si las pruebas realizadas son distintas entre sí, mientras más distintas sean se puede concluir que la prueba propuesta es, efectivamente, más útil o mucho más eficaz (Amat, 2016). En este caso, se observa que ambas pruebas (Lugol-Salina y Ritchie) son muy similares (70.31 %) (**Tabla 7**). Sin embargo, se puede indicar que hay un 29.69 % más de probabilidades de detectar parásitos con el uso de la Técnica de Ritchie *vs.* el uso solitario de la técnica de Lugol-Salina (Gotfred-Rasmussen, Lund, Enemark, Erlandsen y Petersen, 2016).

Otra forma de comprobación de la sensibilidad se la técnica de Ritchie es el número de negativos detectados (Gotfred-Rasmussen et al., 2016). Dado que las muestras fueron analizadas al mismo tiempo por las dos técnicas, fue una excelente manera de contrarrestar los falsos negativos. Globalmente se dieron 36 negativos con Lugol-Salina y solo 33 con Ritchie (**Figura 6**), de no haber trabajado con la segunda técnica se pudo haber enviado estos falsos negativos en un reporte y así perjudicar al paciente como se ha visto en otras investigaciones a nivel mundial (Dryden et al., 2020; Lempereur et al., 2020; Perrucci et al., 2017; Sommer et al., 2018).

La prevalencia más común corresponde a *Giardia lamblia* y *Blastocystis hominis* (**Figuras 7 y 8**). En el caso del primer parásito es uno de alta importancia clínica ya que es causante de diarreas en cachorros y la muerte de ellos (Uehlinger et al., 2017). *B. hominis*, no es de importancia clínica, sin embargo, cuando se observan muchos parásitos por campo se debe tener en cuenta ya que en humanos sí es la causa de varias disbiosis y enfermedades

gastrointestinales (Pineda, 2012; Robles-Cabrera, 2021) y tal como se estableció al inicio de la investigación, una de las problemáticas es que las zoonosis van en aumento. De ahí que la correcta identificación sea crucial no solo para el paciente, sino también para su dueño.

### **5.3. RECOMENDACIONES SOBRE LA METODOLOGÍA**

#### **5.3.1. Metodología Propuesta**

La metodología descrita por Gallo (2014) fue modificada en tres puntos. Primero el volumen de solución de Ritchie, esto debido a que Gallo no indica ningún volumen, así que fue necesario consultar variada bibliografía sobre la técnica (descrita en la sección de 4.3.2.1 de la Metodología) que permitió llegar a la conclusión de usar 50 mL si se pesan 3 g de muestra. Segundo el uso de una capa triple de gasa en lugar de un colador, aquí el cambio fue por facilidad de desecho de los restos y mayor claridad en el campo óptico, pues se recoge más restos en la gasa. La tercera y última modificación fue el tiempo de centrifugado, pues se vio que las capas de separación no se formaban con claridad. Para hacerlo correctamente, al igual que con el volumen, se realizó una búsqueda bibliográfica que permitió determinar que 10 minutos era el tiempo apropiado (descrito en la sección 4.3.2.2 de la Metodología). Así se propone la siguiente metodología para la aplicación de la Técnica de Ritchie:

- a. Pesar 3 g de muestra fecal.
- b. Moler con 50 mL de solución de Ritchie.
- c. Filtrar con triple capa de gasa.
- d. Trasvasar 10 mL del filtrado a tubos cónicos, agregar 2 mL de éter a cada muestra.
- e. Tapar los tubos, agitar y colocar en la centrifugadora por 10 min a 1500 rpm.
- f. Desechar el sobrenadante en un solo movimiento.
- g. Tomar una gota, homogeneizada, del fondo del tubo y observar a 10x y 40x en el microscopio.

Estos cambios, basados en la experiencia de laboratorio y las investigaciones de los siguientes autores: Demelash et al., 2016; Dryden et al., 2020; Gallo, 2014; Gotfred-Rasmussen

et al., 2016; Khanna et al., 2018; Lesser, 1958; Mbong et al., 2020; Rosales y Bautista, 2020 y Soares et al., 2020, permitieron la consecución de resultados positivos para este trabajo.

### **5.3.2. Capacitación al personal del Hospital Veterinario**

La parte final del proceso investigativo fue la aplicación de la técnica de Ritchie fuera del campo investigativo. Por esto se propuso capacitar al personal del hospital veterinario de donde se obtuvieron varias muestras, pues ellos se encuentran en el campo profesional y allí es necesario el uso de métodos que optimicen recursos y tiempo, es también una forma de ver con más claridad la utilidad de esta técnica.

Se propuso un horario en el que los dos médicos veterinarios, que están encargados de la investigación parasitológica dentro del hospital, puedan asistir a los laboratorios de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Allí, la investigadora pudo demostrar, a través de una charla y una exposición práctica, los beneficios del uso de la técnica de Ritchie. Los profesionales realizaron preguntas sobre las explicaciones dadas, mismas que se pudieron resolver con facilidad debido al conocimiento adquirido durante la investigación. También confirmaron que la técnica es verdaderamente útil al ver la diferencia de limpieza en el campo óptico y la claridad de las formas identificadas entre la placa de lugol-salina y la placa de Ritchie.

Para la demostración se les presentó un resumen de la técnica y una descripción paso a paso del procedimiento. Se contó con la presencia y apoyo de la directora de la investigación, quién también proveyó de las muestras de heces. Los materiales fueron solicitados de la Sala de Preparaciones de la PUCE y, tanto la solución, como el resto del procedimiento, fueron preparados *in situ* por la investigadora para que los médicos veterinarios puedan constatar la facilidad de trabajo y conozcan a detalle el procedimiento.

Se les solicitó observar y realizar el barrido, a través del microscopio, de las placas. Se les indicó como diferencia a las diferentes fases de parásitos que se pueden detectar de otros artefactos que pueden aparecer en los campos ópticos. También se les indicó el correcto uso y manejo del microscopio. Las muestras fueron negativas, pero se les presentaron fotografías de la investigación y se discutió cómo identificarlas y el posible origen de las infecciones.

Los profesionales estuvieron de acuerdo con la técnica presentada y convinieron en aplicarla en su trabajo diario. Se agradeció su participación y así se finalizó con esta investigación.

## 6. CONCLUSIONES

1. En la comparación entre la técnica de concentración de heces con formol-éter y la técnica de muestra directa se demostró que la primera fue más eficaz. Se pudo ver una diferencia significativa en los análisis hechos en todas las muestras. Aunque no se demostró una independencia total entre las técnicas, sí se estableció que la técnica de Ritchie es superior, sobretodo en muestras con alto contenido de grasa o sospechas de helmintiasis. La grasa es atrapada en micelas debido al éter y los helmintos al presentar formas parasitarias mucho más grandes son aquellos que se observarán con más facilidad. Sin embargo, parásitos más pequeños como *Giardia lamblia* o *Blastocystis hominis* también se observan con facilidad en esta técnica.
2. La sensibilidad de la técnica de Ritchie puede ser hasta 10 veces mayor, tal como mostraron los resultados de detección de *Ancylostoma caninum*, donde el método de Ritchie detectó su presencia en 10 muestras, mientras que el de Lugol-Salina solo una vez en las mismas muestras. Así se concluye que, los parásitos con pesos grandes, por ser más densos, se concentran de mejor manera en el fondo del tubo cónico luego de la aplicación correcta de sus componentes (sal, formol y éter).
3. Los cambios propuestos sobre el volumen de solución, el tipo de filtrado y el tiempo de centrifugación sí tuvieron el impacto esperado en la consecución de resultados favorables. Esto se evidenció a través de la estadística planteada.
4. Con un volumen definido se pueden hacer ajustes precisos en caso de no contar con una muestra de 3 g (como suele suceder en canes pequeños o convalecientes de un episodio gastrointestinal). Los cálculos y alcances matemáticos propuestos validaron el uso de 50 mL y se mostró la adaptabilidad, pues se puede precisar que con 16 mL por gramo de heces el campo óptico será de calidad y se garantizará una adecuada identificación.
5. La filtración con triple gasa es aséptica, económica y fácil de implementar. Su uso permitió obtener campos ópticos limpios para la fácil observación de parásitos y otros artefactos de interés en las muestras. A nivel estadístico, tener un campo visual adecuado probará la efectividad de la técnica, pues se evita el reporte de falsos positivos o negativos. Eso a su vez repercute en los análisis de prevalencia, que serán más objetivos.

6. El cambio en el tiempo de centrifugado hizo que se pueda separar con más eficacia la porción que contiene parásitos de la zona grasa y la zona de desechos sin alterar la estructura de los estos. En métodos con mayores revoluciones por minuto, que suelen ser usados para reducir el tiempo de centrifugado, las membranas celulares suelen deformarse o incluso destruir a los parásitos. El balance hallado entre tiempo y velocidad fue ideal, pues los parásitos observados mantuvieron todas sus características morfológicas para una correcta identificación.
7. Se demostró que esta técnica es fácil de implementar en el trabajo diario de los laboratorios veterinarios con la capacitación adecuada. No se requiere de material costoso y la solución de Ritchie puede ser preparada con antelación para poder hacer uso de ella cuando se amerite, ya que no es sensible a la luz y su contenido de formol evita posibles contaminaciones. Los gastos realizados por la investigadora para la obtención de los materiales necesarios mostraron que cada muestra se puede procesar por un costo aproximado de 1.30 USD. Así, todo tipo de laboratorio puede estar en la capacidad de realizarla sin inconvenientes.
8. Finalmente, las herramientas estadísticas escogidas fueron ideales para el tratamiento de los datos. Al ser de tipo cualitativo, la mejor forma de comprender su validez y así determinar su significancia, usar el análisis de Chi cuadrado es lo correcto. Los datos obtenidos se pueden utilizar como base de investigaciones futuras que involucren mediciones cuantitativas. De la misma forma, el test de Cramer permitió saber si se puede decir con claridad que la técnica de Ritchie es la única a usar en las investigaciones parasitarias. Como se vio en los resultados esto no es posible por el alto nivel de asociación que tienen el *gold standard* (Lugol-Salina) con la técnica en mención. Sin embargo, su fiabilidad fue también fue demostrada y se concluye que es una técnica superior, de fácil implementación y necesaria para poder aceptar o rechazar con seguridad los resultados de laboratorio veterinario.

## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amat, J. (2016). Test estadísticos para variables cualitativas: Test exacto de Fisher, chi-cuadrado de Pearson, McNemar y Q-Cochran. Recuperado de [https://www.cienciadedatos.net/documentos/22.2\\_test\\_exacto\\_de\\_fisher\\_chi-cuadrado\\_de\\_pearson\\_mcnemar\\_qcochran#Estad%C3%ADstico\\_\(chi^2\)](https://www.cienciadedatos.net/documentos/22.2_test_exacto_de_fisher_chi-cuadrado_de_pearson_mcnemar_qcochran#Estad%C3%ADstico_(chi^2))
- Anécimo, R., Tonani, K., Fregonesi, B., Mariano, A., Ferrassino, M., Trevilato, T., ... Segura-Muñoz, S. (2012). Adaptation of Ritchie's Method for Parasites Diagnosing with Minimization of Chemical Products. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2012, e409757. doi: 10.1155/2012/409757
- Arguero, V. (2018). *Prevalencia de parásitos zoonóticos presentes en heces caninas muestreadas en el parque "La Carolina" del Distrito Metropolitano de Quito* (Tesis de Licenciatura). Universidad Central del Ecuador, Quito.
- Ballweber, L., Beugnet, F., Marchiondo, A. y Payne, P. (2014). American Association of Veterinary Parasitologists' review of veterinary fecal flotation methods and factors influencing their accuracy and use. Is there really one best technique? *Veterinary Parasitology*, 204(1–2), 73–80. doi: 10.1016/j.vetpar.2014.05.009
- Barriga, O. (Ed.). (2003). *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales* (3a ed., Vol. 3). Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud.
- Bowman, D. (2014). Diagnostic Parasitology. En *Georgis' Parasitology for Veterinarians* (10a ed., 326–398). St. Louis: Elsevier Saunders.
- Carroll, M., Cook, J. y Turner, J. (1983). Comparison of polyvinyl alcohol- and formalin-preserved fecal specimens in the formalin-ether sedimentation technique for parasitological examination. *Journal of Clinical Microbiology*, 18(5), 1070–1072. doi: 10.1128/JCM.18.5.1070-1072.1983

- Czaplewski, R. (2003). Error matrix based on a simple random sample of one hundred points. En *Remote Sensing of Forest Environments: Concepts and Case Studies* (115–140). Boston: Kluwer Academic Publishers.
- Dantas, F., Ketzis, J., Mihalca, A., Baneth, G., Otranto, D., Tort, G., ... Traub, R. (2020). TroCCAP recommendations for the diagnosis, prevention, and treatment of parasitic infections in dogs and cats in the tropics. *Veterinary Parasitology*, 283, 109167. doi: 10.1016/j.vetpar.2020.109167
- Demelash, K., Abebaw, M., Negash, A., Alnee, B., Zemene, M. y Tilahun, M. (2016). A review on diagnostic techniques in Veterinary Helminthology. *Nature and Science*, 14(7), 110–118. doi: 10.7537/marsnsj140716.15
- Dryden, M., Herrin, B., Payne, P., Smith, V., Ritchie, D. y Hegarty, E. (2020). Further comparison of centrifugation versus passive fecal flotation for the recovery of *Toxocara canis*, *Trichuris vulpis* and *Ancylostoma caninum* eggs. *The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 18(1), 69–77. Recuperado de <https://www.jarvm.com/articles/Vol18Iss1/Vol18%20Iss1Dryden.pdf>
- Duncan, K., Koons, N., Litherland, M., Little, S. y Nagamori, Y. (2020). Prevalence of intestinal parasites in fecal samples and estimation of parasite contamination from dog parks in central Oklahoma. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 19, 100362. doi: 10.1016/j.vprsr.2019.100362
- Fatjó, J. y Calvo, P. (2014). *Estudio de la Fundación Affinity sobre el abandono de animales de compañía en España 2014: Interpretación de los resultados*. (13). España: Fundación Affinity.
- Gallo, C. (2014). *Manual de diagnóstico con énfasis en Laboratorio Clínico Veterinario* (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Agraria, Managua.
- Gotfred-Rasmussen, H., Lund, M., Enemark, H., Erlandsen, M. y Petersen, E. (2016). Comparison of sensitivity and specificity of four methods for detection of *Giardia duodenalis* in feces: Immunofluorescence and PCR are superior to microscopy of

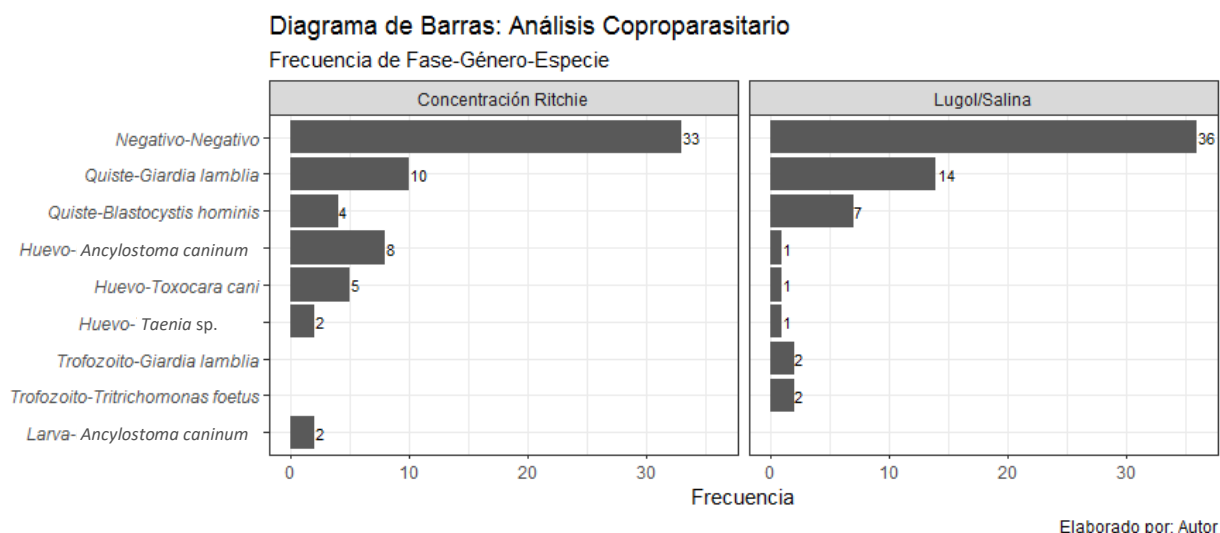
- concentrated iodine-stained samples. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 84(3), 187–190. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2015.11.005
- Khanna, V., Sagar, S., Khanna, R. y Chawla, K. (2018). A comparative study of formalin-ethyl acetate sedimentation technique and Mini Parasep® solvent-free method in the rapid diagnosis of intestinal parasites. *Tropical Parasitology*, 8(1), 29–32. doi: 10.4103/tp.TP\_44\_17
- Lalkhen, A. y McCluskey, A. (2008). Clinical tests: Sensitivity and specificity. *Continuing Education in Anaesthesia Critical Care y Pain*, 8(6), 221–223. doi: 10.1093/bjaceaccp/mkn041
- Lempereur, L., Nijse, R., Losson, B., Marechal, F., De Volder, A., Schoormans, A., ... Claerebout, E. (2020). Coprological survey of endoparasite infections in owned dogs and owners' perceptions of endoparasite control in Belgium and the Netherlands. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 22, 100450. doi: 10.1016/j.vprsr.2020.100450
- Lesser, E. (1958). Modification of the formalin-ether fecal concentration technique for use with swine feces. *The Journal of Parasitology*, 44(3), 318–323. doi: 10.2307/3274598
- Luna-Cortés, G. (2019). División Social por Estratos, Materialismo y la Situación de los Perros en Colombia. *Civilizar*, 19(37), 56–68. doi: 10.22518/usergioa/jour/ccsh/2019.2/a03
- Manser, M., Sáez, A. y Chiodini, P. (2016). Fecal Parasitology: Concentration methodology needs to be better standardized. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(4), 1–16. doi: 10.1371/journal.pntd.0004579
- Mbong, M., Prince, G., Nguema, P., Ramharter, M., Esen, M. y Adégnika, A. (2020). Diagnostic techniques of soil-transmitted helminths: Impact on control measures. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 5(2), 93. doi: 10.3390/tropicalmed5020093

- McHugh, M. L. (2013). The Chi-square test of independence. *Biochemia Medica*, 23(2), 143–149. doi: 10.11613/BM.2013.018
- Mejía, V. (2019). *Análisis de la distribución de los perros en abandono en el DMQ en base a una zona de estudio, y directrices para la construcción de políticas y estrategias de protección y manejo* (Tesis de Licenciatura). Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito.
- Mohammed, A., Sampson, E., Bridgemohan, P., Khan, A. y Stewart, H. (2017). A comparison of eggs per gram (epg) from wet fecal smears, benchtop flotation and centrifugal techniques in determining the maximum number of GIN eggs in calf feces-A case study. *International Journal of Veterinary Sciences and Animal Husbandry*, 2(3), 18–21. doi: 10.29011/2637-9988/100021
- Moreta, K. (2018). *Prevalencia de parásitos zoonóticos en materia fecal canina contaminante de calles de tres sectores comerciales del sur de Quito* (Tesis de Licenciatura). Universidad Central del Ecuador, Quito.
- Perrucci, S., Gavazza, A., Rocchigiani, G., Nardoni, S., Zbriger, A., Lubas, G. y Mancianti, F. (2017). *Neospora caninum* oocyst shedding in a naturally infected dog from Italy. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 8, 10–12. doi: 10.1016/j.vprsr.2017.01.005
- Pineda, C. (2012). Frecuencia de parásitos intestinales en niños y su relación con la presencia de animales de compañía en el distrito de Pillco Marca. *Investigación Valdizana*, 6(1), 19–22. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/5860/586061882005.pdf>
- Restrepo, I., Mazo, L., Salazar, M., Montoya, M. y Botero, J. (2013). Evaluación de tres técnicas coproparasitoscópicas para el diagnóstico de geohelminthos intestinales. *Iatreia*, 26(1), 16–24. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/iat/v26n1/v26n1a02.pdf>

- Rimache, J. A. R. y Bautista, K. (2020). Comparación de tres métodos de concentración de enteroparásitos en muestras fecales humanas. *Revista Cubana de Medicina Tropical.*, 72(2), 13.
- Robles-Cabrera, M. (2021). *Presencia de Blastocystis hominis asociado a sintomatología gastrointestinal en adultos del Hospital ESSALUD II* (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Hermilio Valdizán, Perú.
- Rosales, J. y Bautista, K. (2020). Comparación de tres métodos de concentración de enteroparásitos en muestras fecales humanas. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 72(2).
- Sinchi, B. (2017). *Prevalencia de parásitos zoonóticos de origen canino en un parque público* (Tesis de Licenciatura). Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca-Ecuador.
- Soares, F., Benitez, A., dos Santos, B., Loiola, S., Rosa, S., Nagata, W., ... Gomes, J. (2020). A historical review of the techniques of recovery of parasites for their detection in human stools. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 53. doi: 10.1590/0037-8682-0535-2019
- Sommer, M., Rupp, P., Pietsch, M., Kaspar, A. y Beelitz, P. (2018). *Giardia* in a selected population of dogs and cats in Germany – diagnostics, coinfections, and assemblages. *Veterinary Parasitology*, 249, 49–56. doi: 10.1016/j.vetpar.2017.11.006
- Tamponi, C., Varcasia, A., Pinna, S., Melis, E., Melosu, V., Zidda, A., ... Scala, A. (2017). Endoparasites detected in fecal samples from dogs and cats referred for routine clinical visit in Sardinia, Italy. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 10, 13–17. doi: 10.1016/j.vprsr.2017.07.001
- Uehlinger, F., Naqvi, A., Greenwood, S., McClure, T., Conboy, G., O’Handley, R. y Barkema, H. (2017). Comparison of five diagnostic tests for *Giardia duodenalis* in fecal samples from young dogs. *Veterinary Parasitology*, 244, 91–96. doi: 10.1016/j.vetpar.2017.07.030

- Wakid, M. H. (2009). Improvement of Ritchie Technique by Identifying the Food That Can Be Consumed Pre-analysis. *Journal of Applied Sciences Research*, 5(3), 293–296.
- Xia, Y. (2020). Correlation and association analyses in microbiome study integrating multiomics in health and disease. En *The Microbiome in Health and Disease*, 171, 397. United States: Academic Press.

## 8. FIGURAS



**Figura 1. Diagrama de barras de las frecuencias utilizada para la construcción del estadístico Chi cuadrado.** Se clasifica por técnica y parásito con su respectiva fase de desarrollo encontrado.

```
> chisq.test(tabla1)

Pearson's Chi-squared test

data:  tabla1
X-squared = 143.88, df = 42, p-value = 4.45e-13
```

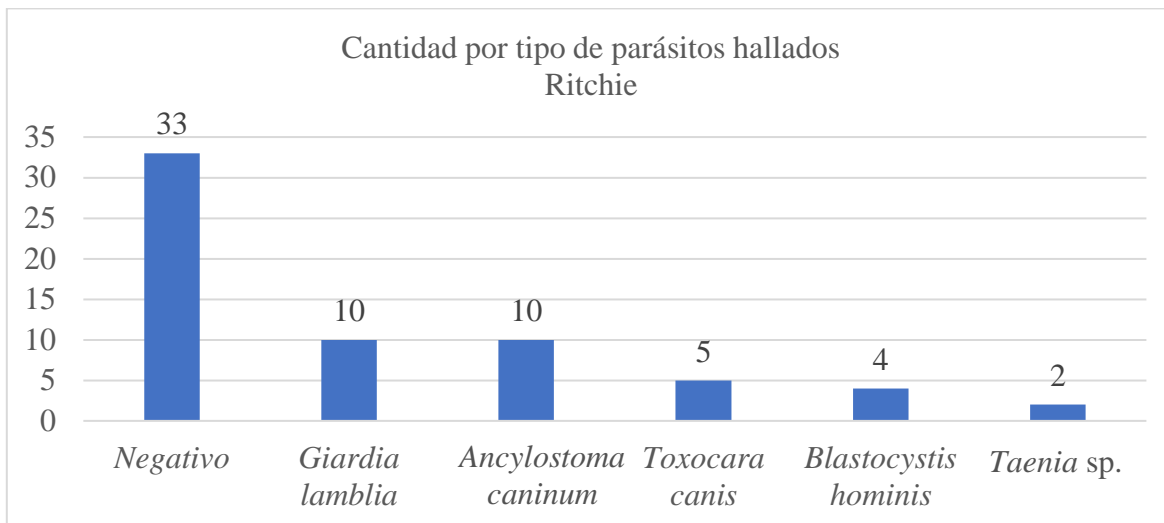
**Figura 2. Resultados del cálculo del estadístico Chi cuadrado en el software R.** Se comparó contra el resultado de tabla del estadístico (**Anexo 2**). El valor calculado es de 143.88 con el 95% de IC y 42 grados de libertad. El valor de la tabla es de 58.124, de esta manera al ser mayor (el calculado) que el de tabla, se rechaza la hipótesis nula.

```
> assocstats(tabla1)

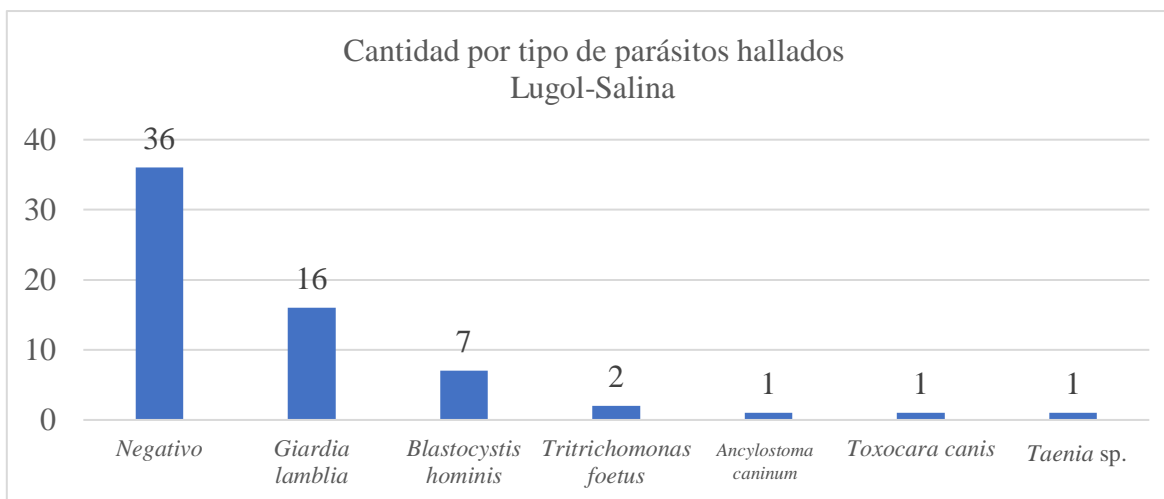
              X^2 df    P(> X^2)
Likelihood Ratio 102.54 42 5.6382e-07
Pearson          143.88 42 4.4498e-13

Phi-Coefficient   : NA
Contingency Coeff.: 0.832
Cramer's V       : 0.612
```

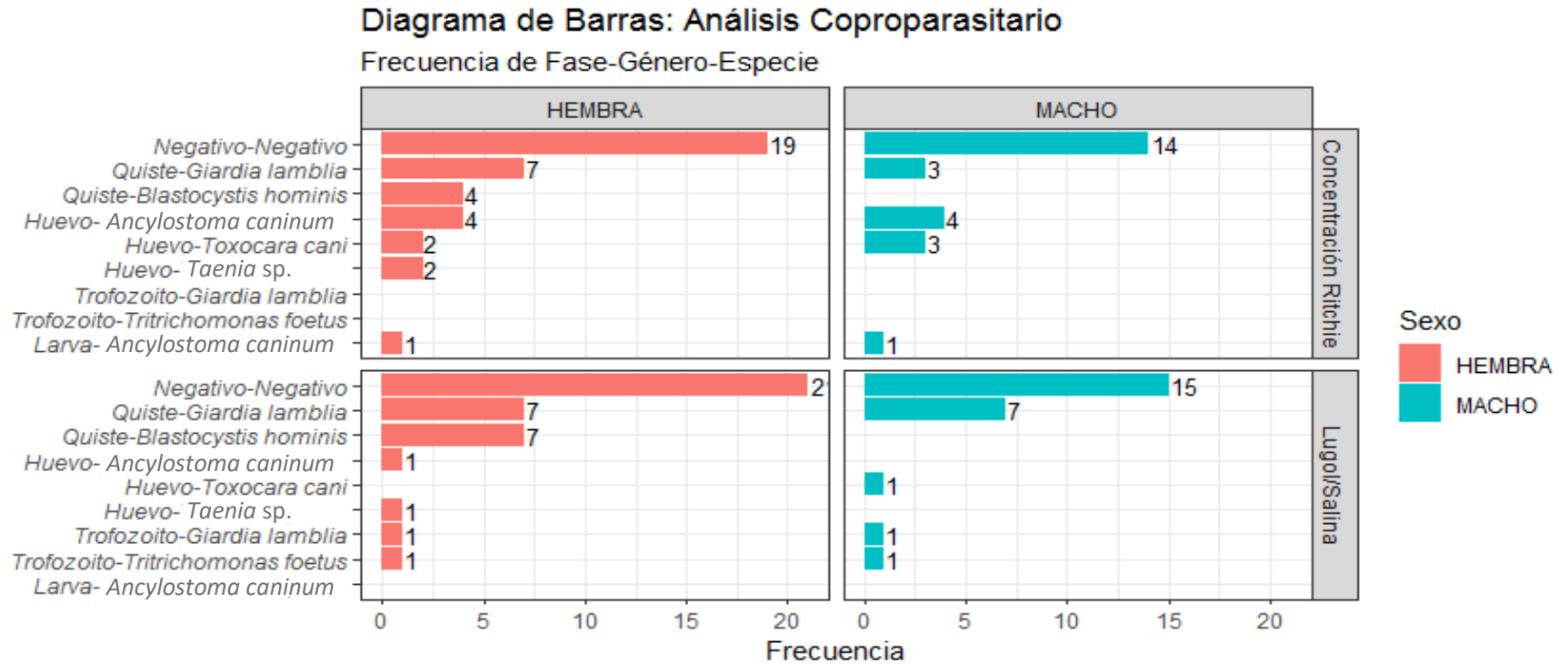
**Figura 3. Resultados del test de Cramer.** Se realiza este test para determinar cuán relacionadas están las variables de las hipótesis. Si es mayor a 0.5 (0.612) se indica un nivel de asociación grande.



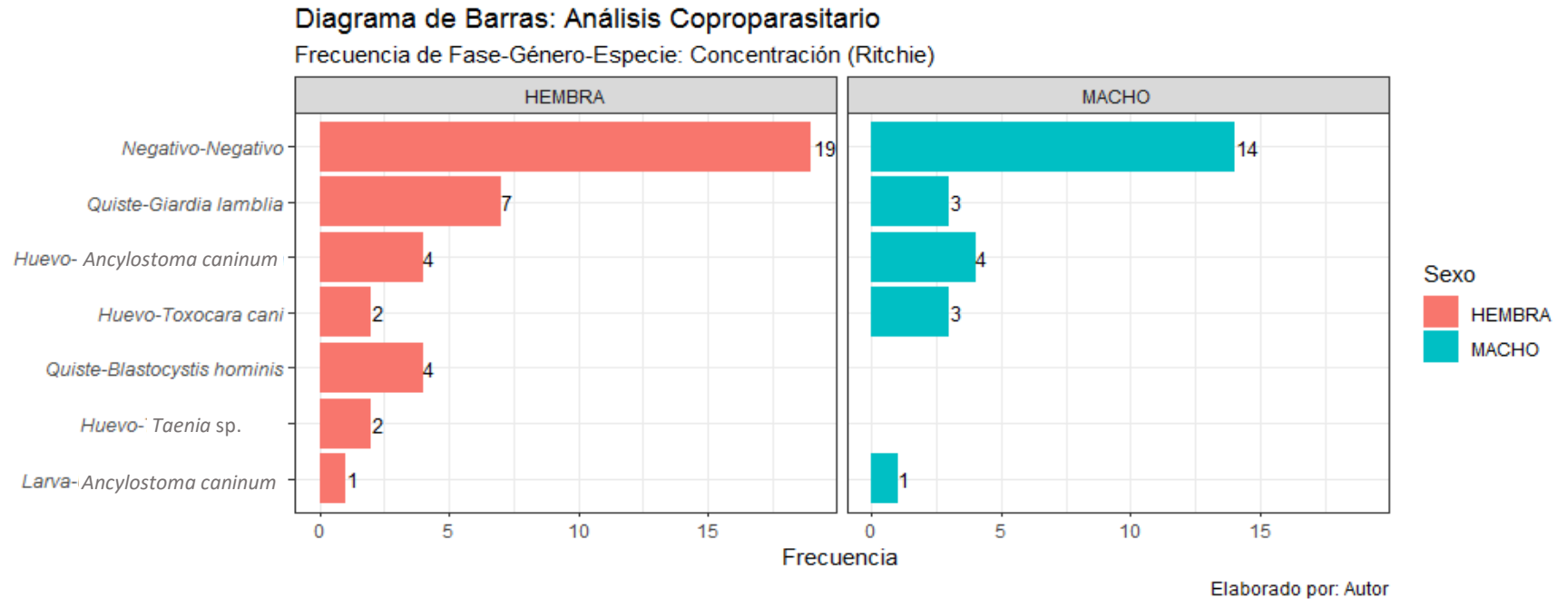
**Figura 4. Prevalencia de parásitos detectados con Ritchie.** *Giardia lamblia* y *Ancylostoma caninum* son los parásitos de mayor prevalencia en las muestras procesadas con Ritchie (10 ocurrencias). Se mantiene la sensibilidad con parásitos grandes y pesados como *Toxocara canis* y *Taenia sp.*



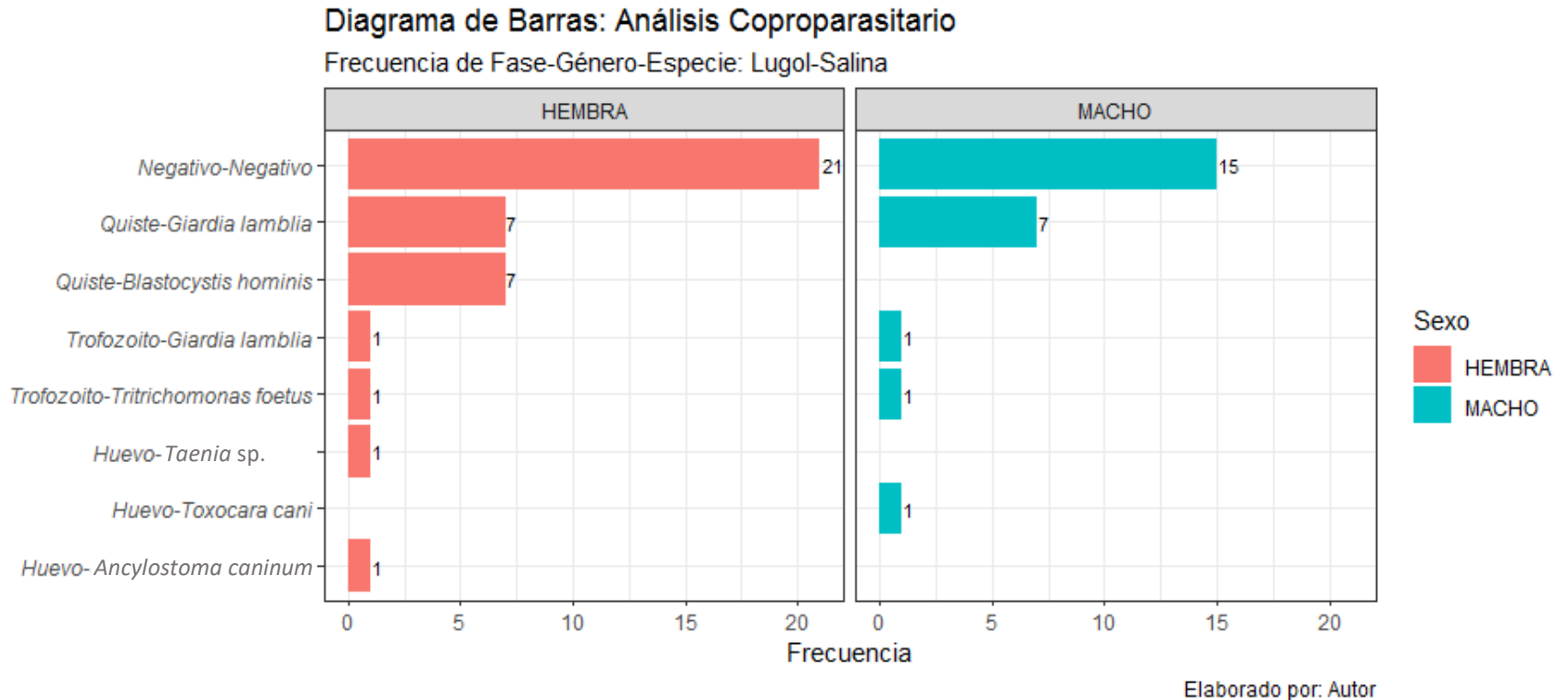
**Figura 5. Prevalencia de parásitos detectados con Lugol-Salina.** *Giardia lamblia* es el parásito de mayor prevalencia en las muestras procesadas con Lugol-Salina. Se pierde sensibilidad con parásitos grandes y más pesados como *Toxocara canis*, *Taenia sp.* y *Ancylostoma caninum*. Sin embargo, esta técnica es la única capaz de detectar a *Tritrichomonas foetus*.



**Figura 6. Análisis de la frecuencia en función de la fase de desarrollo del parásito en machos y hembras.** El número de muestras negativas es una forma de mostrar visiblemente que la técnica de Ritchie es más sensible, puesto que se trata de la misma muestra analizada con ambas técnicas. Tanto para machos como para hembras, los negativos se ven reducidos con Ritchie (21 a 19 en hembras y 15 a 14 en machos). Esto se aplica para todos los parásitos detallados, excepto para las fases de trofozoíto de *Giardia lamblia* y *Tritrichomonas foetus*.



**Figura 7. Frecuencia de especies de parásitos halladas en machos y hembras con la técnica de Ritchie.** En esta figura el análisis se centra exclusivamente en la técnica de Ritchie y sus diferencias por sexo del animal. En el caso de *Giardia lamblia* se ve una detección de más del doble para las hembras. Igualmente, con *Blastocystis hominis* y *Taenia* sp. que solo tienen detección en las hembras. El resto de los parásitos son similares. De esta forma se pueden establecer qué parásitos son los más prevalentes en hembras y machos. Además, se observa que *Ancylostoma caninum* está presente al mismo nivel tanto en machos como hembras.



**Figura 8. Frecuencia de especies de parásitos halladas en machos y hembras con la técnica de Lugol-Salina.** En el caso de la técnica de Lugol-Salina, las prevalencias son las mismas en todos los parásitos, menos en *Blastocystis hominis*, *Taenia* sp. y *Toxocara canis*, donde los dos primeros parásitos mencionados se corresponden con la técnica de Ritchie. Así, se puede determinar que estos parásitos son los más comunes en las poblaciones caninas.

## 9. TABLAS

**Tabla 1. Matriz de datos creada en Excel para el registro y manejo de datos generados en la investigación<sup>1</sup>.**

		Datos					Salina/Lugol		Concentración (Técnica de Ritchie)	
#	Fecha	Sitio de recolección	Especie	Raza	Sexo	Codificación interna	Fase	Género y Especie	Fase	Género y Especie
1	03 de agosto		canino	mestizo	hembra	HVET-01-2018		Negativo		Negativo
2	03 de agosto		canino	Labrador	hembra	HVET-02-2019		Negativo		Negativo
3	16 de agosto		canino	mestizo	hembra	HVET-03-2020		Negativo		Negativo
4	07 de septiembre		canino	Pug	macho	HVET-04-2021		Negativo		Negativo
5	07 de septiembre		canino	Husky	hembra	HVET-05-2021		Negativo		Negativo
6	07 de septiembre		canino	Pastor alemán	macho	HVET-06-2021		Negativo		Negativo
7	22 de septiembre		canino	Beagle	hembra	HVET-07-2021		Negativo		Negativo
8	22 de septiembre		canino	Husky	macho	HVET-08-2021		Negativo		Negativo
9	28 de septiembre		canino	Pastor alemán	macho	HVET-09-2021		Negativo		Negativo
10	11 de agosto		canino	mestizo	hembra	CA-01-21	Quiste	<i>Blastocystis hominis</i>	Quiste	<i>Blastocystis hominis</i>

Tabla 1. Continuación...

#	Fecha	Sitio de recolección	Datos				Codificación interna	Salina/Lugol		Concentración (Técnica de Ritchie)	
			Especie	Raza	Sexo	Fase		Género y Especie	Fase	Género y Especie	
11	11 de agosto		canino	mestizo	hembra	CA-02-21	Quiste	<i>Blastocystis hominis</i>	Quiste	<i>Blastocystis hominis</i>	
12	11 de agosto		canino	mestizo	hembra	CA-03-21	Quiste	<i>Blastocystis hominis</i>	Quiste	<i>Blastocystis hominis</i>	
13	11 de agosto		canino	mestizo	hembra	CA-04-21	Quiste	<i>Blastocystis hominis</i>	Huevo	<i>Toxocara canis</i>	
14	19 de agosto		canino	mestizo	hembra	CA-05-21	Quiste	<i>Blastocystis hominis</i>	Huevo	<i>Toxocara canis</i>	
15	19 de agosto		canino	mestizo	hembra	CA-06-21	Quiste	<i>Blastocystis hominis</i>	Quiste	<i>Blastocystis hominis</i>	
16	19 de agosto		canino	mestizo	hembra	CA-07-21	Quiste	<i>Blastocystis hominis</i>	Negativo		
17	26 de agosto		canino	mestizo	hembra	CA-08-21	Negativo		Negativo		
18	26 de agosto		canino	mestizo	hembra	CA-09-21	Negativo		Negativo		
19	26 de agosto		canino	mestizo	macho	CA-10-21	Negativo		Negativo		
20	26 de agosto		canino	mestizo	hembra	CA-11-21	Negativo		Negativo		
21	02 de septiembre		canino	mestizo	macho	CA-12-21	Negativo		Negativo		
22	02 de septiembre		canino	mestizo	hembra	CA-13-21	Negativo		Negativo		

Tabla 1. Continuación...

#	Fecha	Sitio de recolección	Datos				Codificación interna	Salina/Lugol		Concentración (Técnica de Ritchie)	
			Especie	Raza	Sexo	Fase		Género y Especie	Fase	Género y Especie	
23	02 de septiembre		canino	mestizo	macho	CA-14-21	Negativo		Negativo		
24	02 de septiembre		canino	mestizo	macho	CA-15-21	Negativo		Negativo		
25	02 de septiembre		canino	mestizo	hembra	CA-16-21	Negativo		Negativo		
26	15 de septiembre		canino	mestizo	hembra	CA-17-21	Negativo		Huevo	<i>Taenia</i> sp.	
27	15 de septiembre		canino	mestizo	hembra	CA-18-21	Negativo		Negativo		
28	15 de septiembre		canino	mestizo	macho	CA-19-21	Negativo		Negativo		
29	22 de septiembre		canino	mestizo	macho	CA-20-21	Quiste	<i>Giardia lamblia</i>	Quiste	<i>Giardia lamblia</i>	
30	22 de septiembre		canino	mestizo	macho	CA-21-21	Huevo	<i>Toxocara cani</i>	Huevo	<i>Toxocara cani</i>	
							Quiste	<i>Giardia lamblia</i>	Quiste	<i>Giardia lamblia</i>	
31	01 de octubre		canino	mestizo	hembra	CA-22-21	Quiste	<i>Giardia lamblia</i>	Quiste	<i>Giardia lamblia</i>	
32	01 de octubre		canino	mestizo	hembra	CA-23-21	Quiste	<i>Giardia lamblia</i>	Quiste	<i>Giardia lamblia</i>	
33	01 de octubre		canino	mestizo	hembra	CA-24-21	Quiste	<i>Giardia lamblia</i>	Quiste	<i>Giardia lamblia</i>	

Tabla 1. Continuación...

#	Fecha	Sitio de recolección	Datos				Salina/Lugol			Concentración (Técnica de Ritchie)	
			Especie	Raza	Sexo	Codificación interna	Fase	Género y Especie	Fase	Género y Especie	
34	01 de octubre		canino	mestizo	macho	CA-25-21	Negativo		Negativo		
35	01 de octubre		canino	mestizo	macho	CA-26-21	Negativo		Negativo		
36	06 de octubre		canino	mestizo	hembra	CA-27-21	Huevo	<i>Taenia</i> sp.	Huevo	<i>Taenia</i> sp.	
37	06 de octubre		canino	mestizo	hembra	CA-28-21	Quiste	<i>Giardia lamblia</i>	Quiste	<i>Giardia lamblia</i>	
38	06 de octubre		canino	mestizo	hembra	CA-29-21	Negativo		Huevo	<i>Ancylostoma caninum</i>	
39	13 de octubre		canino	mestizo	hembra	CA-30-21	Quiste	<i>Giardia lamblia</i>	Larva	<i>Ancylostoma caninum</i>	
40	13 de octubre		canino	mestizo	macho	CA-31-21	Negativo		Larva	<i>Ancylostoma caninum</i>	
41	13 de octubre		canino	mestizo	macho	CA-32-21	Negativo		Negativo		
42	18 de octubre		canino	mestizo	hembra	CA-33-21	Negativo		Negativo		
43	18 de octubre		canino	mestizo	hembra	CA-34-21	Trofozoíto	<i>Tritrichomonas foetus</i>	Negativo		
44	18 de octubre		canino	mestizo	hembra	CA-35-21	Quiste	<i>Giardia lamblia</i>	Quiste	<i>Giardia lamblia</i>	

Tabla 1. Continuación...

Datos							Salina/Lugol		Concentración (Técnica de Ritchie)	
#	Fecha	Sitio de recolección	Especie	Raza	Sexo	Codificación interna	Fase	Género y Especie	Fase	Género y Especie
45	18 de octubre		canino	mestizo	macho	CA-36-21	Trofozoíto	<i>Tritrichomonas foetus</i>	Quiste	<i>Giardia lamblia</i>
							Quiste y Trofozoíto	<i>Giardia lamblia</i>	Huevo	<i>Toxocara canis</i>
46	26 de octubre		canino	mestizo	hembra	CA-37-21	Negativo		Negativo	
47	26 de octubre		canino	mestizo	hembra	CA-38-21	Negativo	Huevo	<i>Ancylostoma caninum</i>	
48	26 de octubre		canino	mestizo	macho	CA-39-21	Quiste	<i>Giardia lamblia</i>	Huevo	<i>Ancylostoma caninum</i>
49	26 de octubre		canino	mestizo	macho	CA-40-21	Quiste	<i>Giardia lamblia</i>	Huevo	<i>Ancylostoma caninum</i>
50	26 de octubre		canino	mestizo	hembra	CA-41-21	Negativo	Huevo	<i>Ancylostoma caninum</i>	
51	27 de octubre		canino	mestizo	hembra	CA-42-21	Negativo		Negativo	
52	27 de octubre		canino	mestizo	hembra	CA-43-21	Quiste y Trofozoíto	<i>Giardia lamblia</i>	Quiste	<i>Giardia lamblia</i>
53	27 de octubre		canino	mestizo	macho	CA-44-21	Quiste	<i>Giardia lamblia</i>	Huevo	<i>Ancylostoma caninum</i>
54	27 de octubre		canino	mestizo	macho	CA-45-21	Quiste	<i>Giardia lamblia</i>	Huevo	<i>Ancylostoma caninum</i>
55	27 de octubre		canino	mestizo	hembra	CA-46-21	Huevo	<i>Ancylostoma caninum</i>	Huevo	<i>Ancylostoma caninum</i>

**Tabla 1.** Continuación.

#	Fecha	Sitio de recolección	Datos				Salina/Lugol		Concentración (Técnica de Ritchie)	
			Especie	Raza	Sexo	Codificación interna	Fase	Género y Especie	Fase	Género y Especie
56	28 de octubre		canino	mestizo	macho	CA-47-21	Negativo	Negativo	Negativo	
57	28 de octubre		canino	mestizo	macho	CA-48-21	Negativo	Negativo	Negativo	
58	28 de octubre		canino	mestizo	hembra	CA-49-21	Negativo	Negativo	Negativo	
59	28 de octubre		canino	mestizo	hembra	CA-50-21	Negativo	Negativo	Negativo	
60	28 de octubre		canino	mestizo	hembra	CA-51-21	Negativo	Negativo	Negativo	

<sup>1</sup>Los datos de la columna Sitio de recolección fueron borrados intencionalmente para mantener la confidencialidad de dichos lugares. Además, las columnas de nombre y observaciones (mencionadas en el texto) no fueron agregadas a este documento por no ser exclusivas al manejo estadístico realizado.

**Tabla 2.** Matriz de doble entrada para análisis cualitativo de datos.

	Positivos	Negativos	Total
Muestra húmeda	28	36	64
Ritchie	31	33	64
Total	59	69	128

**Tabla 3. Cantidad de muestras analizadas con la técnica de Lugol-Salina<sup>1</sup>.**

<b>Clasificación</b>	<b>Cantidad</b>
<b>HEMBRA</b>	39
<b>Negativo</b>	21
<b>Huevo</b>	2
<i>Taenia</i> sp.	1
<i>Ancylostoma caninum</i>	1
<b>Quiste</b>	14
<i>Blastocystis hominis</i>	7
<i>Giardia lamblia</i>	7
<b>Trofozoíto</b>	2
<i>Giardia lamblia</i>	1
<i>Tritrichomonas foetus</i>	1
<b>MACHO</b>	25
<b>Negativo</b>	15
<b>Huevo</b>	1
<i>Toxocara canis</i>	1
<b>Quiste</b>	7
<i>Giardia lamblia</i>	7
<b>Trofozoíto</b>	2
<i>Giardia lamblia</i>	1
<i>Tritrichomonas foetus</i>	1
<b>Total</b>	<b>64</b>

<sup>1</sup>Las muestras fueron clasificadas por sexo, fase y especie de parásito encontrada.

**Tabla 4. Cantidad de muestras analizadas con la técnica de Ritchie<sup>1</sup>.**

<b>Clasificación</b>	<b>Cantidad</b>
<b>HEMBRA</b>	39
<b>Negativo</b>	19
<b>Huevo</b>	8
<i>Taenia</i> sp.	2
<i>Toxocara canis</i>	2
<i>Ancylostoma caninum</i>	4
<b>Larva</b>	1
<i>Ancylostoma caninum</i>	1
<b>Quiste</b>	11
<i>Blastocystis hominis</i>	4
<i>Giardia lamblia</i>	7
<b>MACHO</b>	25
<b>Negativo</b>	14
<b>Huevo</b>	7
<i>Toxocara canis</i>	3
<i>Ancylostoma caninum</i>	4
<b>Larva</b>	1
<i>Ancylostoma caninum</i>	1
<b>Quiste</b>	3
<i>Giardia lamblia</i>	3
<b>Total</b>	<b>64</b>

<sup>1</sup>Las muestras fueron clasificadas por sexo, fase y especie de parásito encontrada.

**Tabla 5. Porcentaje de muestras analizadas por sexo.**

<b>Sexo</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Macho</b>	39%
<b>Hembra</b>	61%

**Tabla 6. Cantidad de muestras analizadas clasificadas por raza de can.**

<b>Raza</b>	<b>Cantidad</b>
<b>Mestizo</b>	57
<b>Husky</b>	2
<b>Pastor Alemán</b>	2
<b>Beagle</b>	1
<b>Labrador</b>	1
<b>Pug</b>	1
<b>Total</b>	<b>64</b>

**Tabla 7. Porcentaje de similitud de la pruebas realizadas.**

<b>Característica</b>	<b>Valor</b>
<b>% Similitud</b>	70.31 %
<b>% No Similitud</b>	29.69 %

## 10.ANEXOS

### Anexo 1. Materiales y equipos.

#### REACTIVOS (para 1 litro):

- 1 L de agua destilada
- 5 g de NaCl
- 50 mL de formol al 37-40%
- Éter ( 2mL por cada muestra a procesar)

#### MATERIALES:

- Papel aluminio
- Bajalenguas
- Mortero
- Embudo
- Vaso de precipitación
- Soporte
- Gasas
- Tubos cónicos para centrifugadora
- Pipetas descartables tipo Pasteur
- Porta y cubre objetos

#### EQUIPOS

- Balanza
- Centrifugadora
- Microscopio
- Placa de calentamiento

## Anexo 2. Tabla para el cálculo de Chi cuadrado.

La tabla está tomada del National Institute of Standards and Technology. Disponible en línea en: [www.itl.nist.gov/div898/handbook/eda/s](http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/eda/s)

TABLE IV										
Chi-Square ( $\chi^2$ ) Distribution										
Area to the Right of Critical Value										
Degrees of Freedom	0.995	0.99	0.975	0.95	0.90	0.10	0.05	0.025	0.01	0.005
1	—	—	0.001	0.004	0.016	2.706	3.841	5.024	6.635	7.879
2	0.010	0.020	0.051	0.103	0.211	4.605	5.991	7.378	9.210	10.597
3	0.072	0.115	0.216	0.352	0.584	6.251	7.815	9.348	11.345	12.838
4	0.207	0.297	0.484	0.711	1.064	7.779	9.488	11.143	13.277	14.860
5	0.412	0.554	0.831	1.145	1.610	9.236	11.071	12.833	15.086	16.750
6	0.676	0.872	1.237	1.635	2.204	10.645	12.592	14.449	16.812	18.548
7	0.989	1.239	1.690	2.167	2.833	12.017	14.067	16.013	18.475	20.278
8	1.344	1.646	2.180	2.733	3.490	13.362	15.507	17.535	20.090	21.955
9	1.735	2.088	2.700	3.325	4.168	14.684	16.919	19.023	21.666	23.589
10	2.156	2.558	3.247	3.940	4.865	15.987	18.307	20.483	23.209	25.188
11	2.603	3.053	3.816	4.575	5.578	17.275	19.675	21.920	24.725	26.757
12	3.074	3.571	4.404	5.226	6.304	18.549	21.026	23.337	26.217	28.299
13	3.565	4.107	5.009	5.892	7.042	19.812	22.362	24.736	27.688	29.819
14	4.075	4.660	5.629	6.571	7.790	21.064	23.685	26.119	29.141	31.319
15	4.601	5.229	6.262	7.261	8.547	22.307	24.996	27.488	30.578	32.801
16	5.142	5.812	6.908	7.962	9.312	23.542	26.296	28.845	32.000	34.267
17	5.697	6.408	7.564	8.672	10.085	24.769	27.587	30.191	33.409	35.718
18	6.265	7.015	8.231	9.390	10.865	25.989	28.869	31.526	34.805	37.156
19	6.844	7.633	8.907	10.117	11.651	27.204	30.144	32.852	36.191	38.582
20	7.434	8.260	9.591	10.851	12.443	28.412	31.410	34.170	37.566	39.997
21	8.034	8.897	10.283	11.591	13.240	29.615	32.671	35.479	38.932	41.401
22	8.643	9.542	10.982	12.338	14.042	30.813	33.924	36.781	40.289	42.796
23	9.260	10.196	11.689	13.091	14.848	32.007	35.172	38.076	41.638	44.181
24	9.886	10.856	12.401	13.848	15.659	33.196	36.415	39.364	42.980	45.559
25	10.520	11.524	13.120	14.611	16.473	34.382	37.652	40.646	44.314	46.928
26	11.160	12.198	13.844	15.379	17.292	35.563	38.885	41.923	45.642	48.290
27	11.808	12.879	14.573	16.151	18.114	36.741	40.113	43.194	46.963	49.645
28	12.461	13.565	15.308	16.928	18.939	37.916	41.337	44.461	48.278	50.993
29	13.121	14.257	16.047	17.708	19.768	39.087	42.557	45.722	49.588	52.336
30	13.787	14.954	16.791	18.493	20.599	40.256	43.773	46.979	50.892	53.672
40	20.707	22.164	24.433	26.509	29.051	51.805	55.758	59.342	63.691	66.766
50	27.991	29.707	32.357	34.764	37.689	63.167	67.505	71.420	76.154	79.490
60	35.534	37.485	40.482	43.188	46.459	74.397	79.082	83.298	88.379	91.952
70	43.275	45.442	48.758	51.739	55.329	85.527	90.531	95.023	100.425	104.215
80	51.172	53.540	57.153	60.391	64.278	96.578	101.879	106.629	112.329	116.321
90	59.196	61.754	65.647	69.126	73.291	107.565	113.145	118.136	124.116	128.299
100	67.328	70.065	74.222	77.929	82.358	118.498	124.342	129.561	135.807	140.169

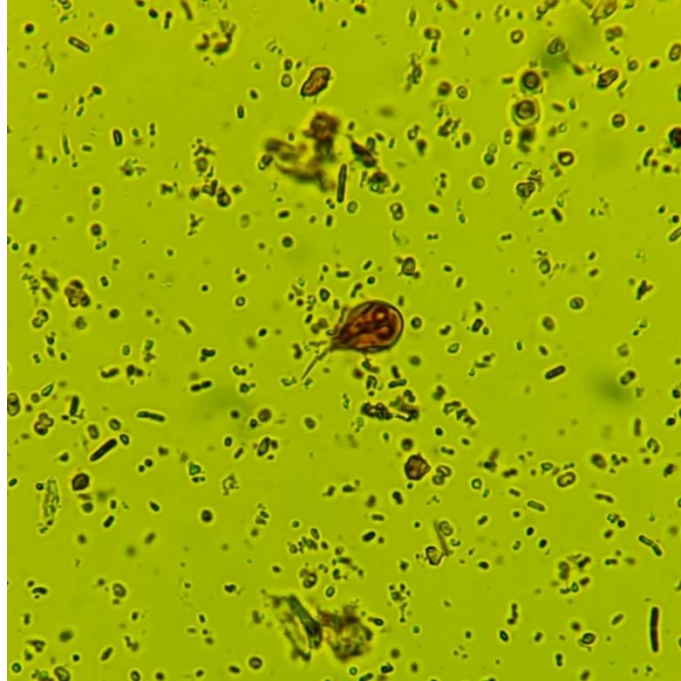
**Anexo 3. Fotografías de los parásitos identificados.**



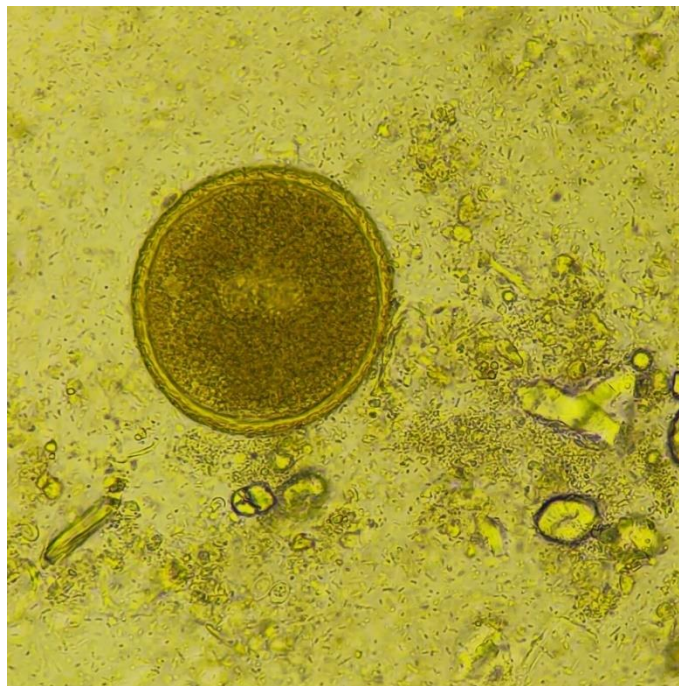
**Imagen 1.** *Giardia lamblia*, quiste, 40x, Salina. Fuente: G. Medrano (2021).



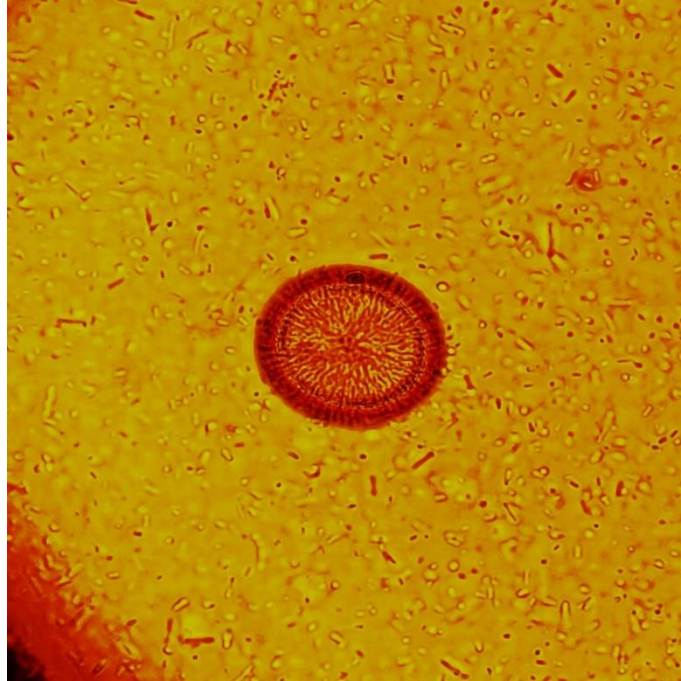
**Imagen 2.** *Giardia lamblia*, quiste, 40x, Ritchie. Fuente: G. Medrano (2021).



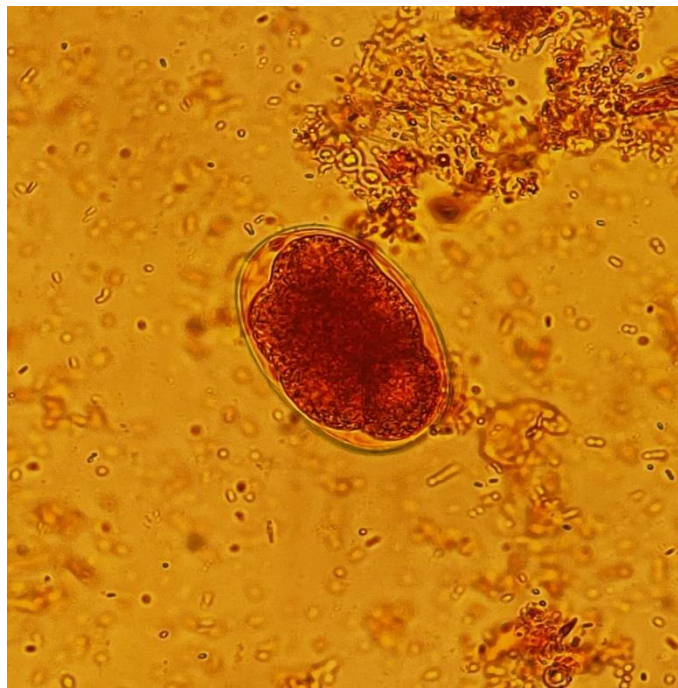
**Imagen 3.** *Giardia lamblia*, trofozoíto, 40x, Lugol. Fuente: G. Medrano (2021).



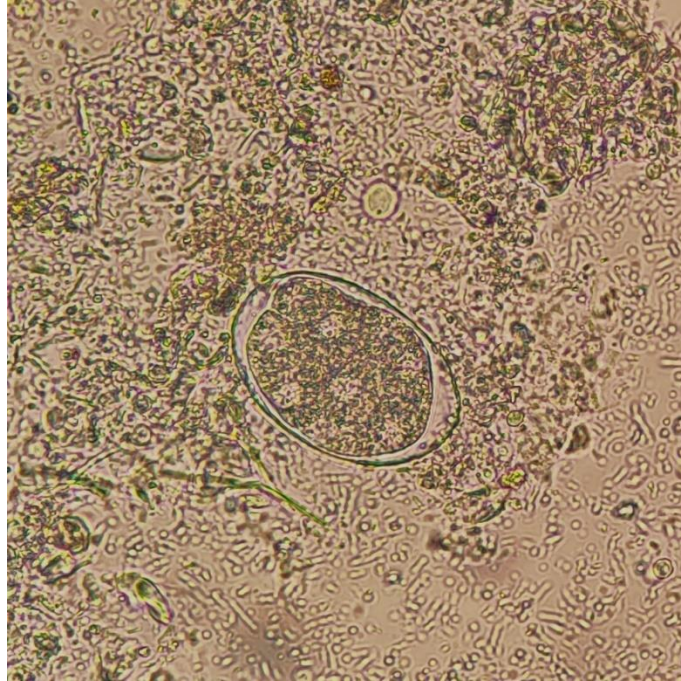
**Imagen 4.** *Toxocara canis*, huevo, 40x, Ritchie. Fuente: G. Medrano (2021).



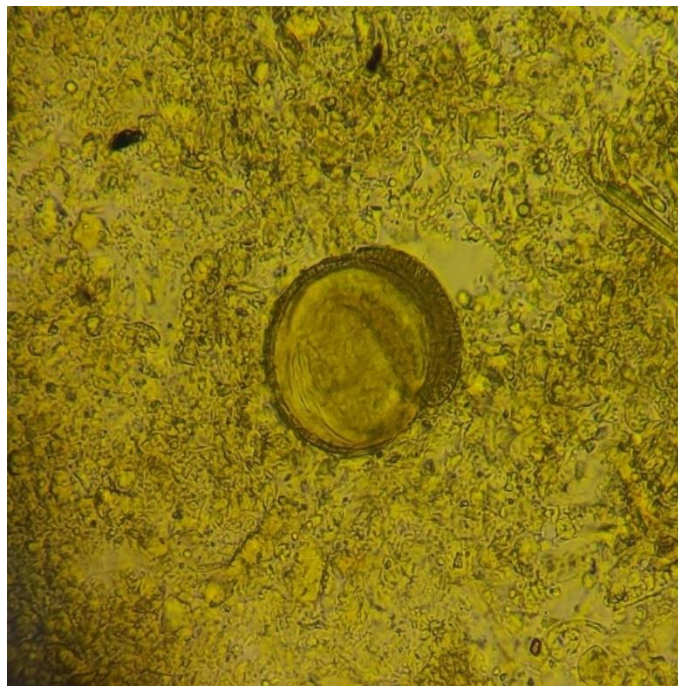
**Imagen 5.** *Taenia* sp., huevo, 40x, Ritchie. Fuente: G. Medrano (2021).



**Imagen 6.** *Ancylostoma caninum*, huevo, 40x, Lugol. Fuente: G. Medrano (2021).



**Imagen 7.** *Ancylostoma caninum*, huevo, 40x, Ritchie. Fuente: G. Medrano (2021).



**Imagen 8.** *Ancylostoma caninum*, larva, 40x, Ritchie. Fuente: G. Medrano (2021).