

COMPARAÇÃO ENTRE AS TÉCNICAS MCMASTER E CENTRÍFUGO-FLUTUAÇÃO PARA CONTAGEM DE OVOS DE NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS DE OVINOS

ROZEVERTER MORENO FERNANDES,¹ ELIZA HELENA DE SOUZA FARIAS,²
KELLEN MOREIRA BATISTA,³ MARIA ZENAIDE DE LIMA CHAGAS MORENO FERNANDES⁴ E
MARIA DE LURDES DE AZEVEDO RODRIGUES⁵

1. Professor adjunto da Universidade Federal do Piauí /CCA zmoreno@ufpi.br – Campus Agrícola da Socopo s/n CEP 64.049-550 Teresina, PI
2. Professor adjunto do Departamento de Matemática – IE – UFRRJ
3. Engenheira Agrônoma
4. Mestranda do Curso de Ciência Animal da UFPI zenaidemoreno@bol.com.br
5. Professor adjunto do Departamento de Parasitologia – IV – UFRRJ

RESUMO

O presente trabalho objetivou estimar quantitativamente os níveis de infecção *in vivo* por helmintos gastrintestinais de ovinos naturalmente infectados, comparando-se as soluções de açúcar e cloreto de sódio (NaCl) com densidades de 1.225 e 1.220, respectivamente, e utilizando-se as técnicas McMaster (MM) e centrífugo-flutuação modificada (CFM). Foram examinadas vinte e cinco amostras de fezes de ovinos sem raça definida (SRD), machos e fêmeas de diferentes idades. Estatisticamente os dados foram transformados de acordo com a fórmula $\sqrt{\text{opg} + 0,5}$, submetidos à análise de variância seguida do desdobramento da soma de quadrados e aplicando-se o teste “F” de

Snedecor. Observou-se que a técnica MM quanto às soluções não apresentou diferença significativa, porém foi superior à técnica de CFM, usando-se a solução de NaCl e não diferiu ($P > 0,05$) quanto à solução de açúcar. A técnica de CFM foi melhor usando-se a solução de açúcar ($P < 0,01$) e apresentou 100% de positividade para as duas soluções, enquanto a MM apresentou apenas 68% e 80% de positividade para o açúcar e NaCl, respectivamente. A técnica MM, por ser mais rápida, é adequada para avaliações epidemiológicas, e a técnica CFM é melhor para se trabalhar com amostras pequenas, pois é mais sensível.

PALAVRAS-CHAVE: Centrífugo-flutuação, helmintos, ovinos, ovos, técnica de McMaster.

ABSTRACT

COMPARISON BETWEEN THE TECHNIQUE MCMASTER AND CENTRIFUGE-FLOTATION FOR COUNTING EGGS OF GASTRINTESTINAE NEMATÓIDES OF SHEEPS

This research was developed to evaluate quantitatively the “in vivo” infection levels for gastrointestinal helminthes in sheep naturally infected, comparing the solutions of sugar and sodium chloride (NaCl) with densities of 1225 and 1220, respectively, and to compare the McMaster (MMT) and modified centrifugal-flotation (MCFT) techniques. Twenty-five samples of feces from undefined breed sheep, males and females, with different ages were examined. The data were statistically transformed in agreement with the formula $\sqrt{\text{opg} + 0,5}$, and submitted to analysis of variance following by the unfolding of the sum of squares and being applied

the “F” test of Snedecor. It was observed that the MMT did not showed significant difference for the solutions, however it was superior to the MCFT, using the solution of NaCl, but it did not differ ($P > 0,05$) for the sugar solution. The MCFT was better using the sugar solution ($P < 0,01$) and it showed 100% of positivity for the two solutions, while MMT presented only 68 and 80% of positivity for the sugar and NaCl solutions, respectively. The MMT is better because is faster adapted for epidemic evaluations and the MCFT is recommended to work with small samples because it is more sensitive.

KEY WORDS: Centrifugal-flotation, eggs, helminthes, McMaster technique, sheep.

INTRODUÇÃO

O diagnóstico clínico das infecções por helmintos nos animais domésticos nem sempre é possível, embora muitos sinais clínicos de parasitismo, tais como palidez das mucosas, pêlos sem brilho e diarreia, sejam considerados indicativos de uma pesada carga parasitária. A infecção de animais pelos helmintos que vivem no trato gastrointestinal é usualmente diagnosticada *in vivo*, através de técnicas laboratoriais com o uso da microscopia óptica. A técnica McMaster, desenvolvida por GORDON & WHITLOCK (1939), foi originalmente testada e descrita para contagem de ovos de helmintos gastrointestinais de ovinos, sendo mais utilizada para avaliações quantitativas do número de ovos por grama de fezes.

Estudo comparativo com amostras fecais de bovinos e ovinos realizado por LEVINE et al. (1960) demonstrou que a técnica McMaster foi estatisticamente superior à técnica de centrífugo-flutuação direta para ovos de nematóides da superfamília *Strongyloidea* ($P < 0,01$). RODRIGUES et al. (1995), comparando as mesmas técnicas para contagem de ovos de nematóides gastrointestinais de eqüinos, constataram a eficiência superior da técnica McMaster por meio do teste “T” ($P < 0,01$).

Diversas soluções como açúcar, cloreto de sódio, sulfato de zinco, sulfato de magnésio e nitrato de dicromato de sódio atualmente são utilizadas tanto nas técnicas de McMaster como nas de flutuação direta ou de centrífugo-flutuação. A solução de açúcar vem sendo largamente empregada como opção para as técnicas antes citadas, demonstrando ser mais eficiente, de fácil preparo e de menor custo (FARR & LUTTERMOSER, 1941; MAYHEW, 1962; SIMON et al., 1969; ALCAINO & BAKER, 1974; ROSSANIGO & GRUNER, 1991, RODRIGUES et al., 1995).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar, quantitativamente, os níveis de infecção *in vivo* por helmintos gastrointestinais de ovinos naturalmente infectados, utilizando-se as soluções de açúcar e cloreto de sódio nas técnicas McMaster e centrífugo-flutuação modificada, e compará-las avaliando eficiência, rapidez e operacionalidade.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Helminologia da Estação para Pesquisas Parasitológicas W.O. Neitz, do Departamento de Parasitologia Animal, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Foram utilizados 25 ovinos, sem raça definida (SRD), machos e fêmeas, de diferentes idades, naturalmente infectados com helmintos gastrointestinais.

As amostras de fezes foram colhidas diretamente da ampola retal e em seguida foram processadas pelas técnicas McMaster (MM) e centrífugo-flutuação modificada (CFM), sendo que, na primeira técnica, foram utilizados dois gramas de fezes em conformidade com GORDON & WHITLOCK (1939). Na técnica CFM, preconizada para contagem de oocistos em fezes de bovino (FIGUEIREDO et al., 1984), empregam-se cinco gramas de fezes, porém, neste trabalho utilizou-se apenas um grama, pois a quantidade de fezes excretada por dia pelos ovinos é menor que a do bovino.

Para cada técnica foram utilizadas soluções saturadas de açúcar e cloreto de sódio com densidades de 1.225 e 1.220, respectivamente. A contagem de ovos de helmintos foi realizada após cinco minutos, em que a lamínula permaneceu em repouso sobre o menisco no tubo de centrífuga. Posteriormente, esta foi colocada sobre lâmina e levada ao microscópio, procedendo-se à leitura com objetiva de 40x.

Para a análise estatística, os dados foram transformados de acordo com a fórmula $\sqrt{\text{opg} + 0,5}$ e submetidos à análise de variância, seguida do desdobramento da soma de quadrados, aplicando-se o teste “F” de Snedecor, quando necessário (ZAR, 1984).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes ao número de ovos de helmintos contados nas amostras fecais, pelas técnicas MM e CFM, empregando-se soluções saturadas de açúcar e cloreto de sódio, estão demonstrados nas Tabelas 1 e 2. Para normalizar a distribuição dos dados da Tabela 1, estes foram transformados em $\sqrt{\text{opg} + 0,5}$.

Na técnica de MM, os números de ovos de helmintos contados não diferiram significativamente ($P > 0,01$) entre si, independentemente da solução empregada. Os valores médios dos números de ovos transformados observados foram de 15,94 e 18,59 para as soluções de açúcar e NaCl, respectivamente (Tabela 1).

Quanto à técnica de CFM, o teste F de Snedecor revela existir diferença significativa ($P < 0,01$) entre o número de ovos registrados, tendo a solução saturada de açúcar mostrado valores superiores aos encontrados, quando foi usada a solução saturada de NaCl. Os valores médios dos números de ovos transformados observados foram de 15,52 e 11,80 para as soluções de açúcar e NaCl, respectivamente (Tabela 1).

A utilização da solução saturada de NaCl na técnica CFM apresentou resultados superiores aos da técnica MM (Tabela 1). Tais resultados não estão em conformidade com aqueles registrados por RODRIGUES et al. (1995), que trabalharam com

amostras de fezes de eqüinos, utilizando açúcar, e concluíram que MM foi mais eficiente.

Na Tabela 2, a análise de variância ($P < 0,05$) demonstra ocorrência de diferença significativa para as técnicas, para a interação das técnicas x solução e para os animais.

A avaliação pela soma dos quadrados permitiu verificar significância com relação à interação técnica x solução, permitindo observar que o número de ovos contados, usando-se as soluções saturadas de açúcar e NaCl, apresentou comportamento diferente, conforme a técnica utilizada.

Na comparação entre as técnicas usando-se o teste "F" de Snedecor em nível de 5% de probabilidade, não houve diferença significativa quando se empregou a solução saturada de açúcar. Este resultado discorda daqueles registrados por LEVINE et al. (1960), em que a técnica de McMaster foi superior à centrífugo-flutuação direta para contagem de ovos de *Strongyloidea*, utilizando-se a solução saturada de açúcar.

TABELA 1. Comparação entre as soluções de açúcar e cloreto de sódio por meio das técnicas MM e CFM em exames coproparasitológicos de ovinos.

| Soluções saturadas | Técnicas | | | | | | | |
|--------------------|--------------|----------------------------|--------------|----------------------|----------------------|----------------------------|--------------|----------------------|
| | McMaster | | | | Centrífugo-flutuação | | | |
| | Nº de exames | Nº de contag. positiva (%) | Média de opg | Média de opg transf. | N.º de exames | Nº de contag. positiva (%) | Média de opg | Média de opg transf. |
| Açúcar | 25 | 17 (68) | 530,00 | 15,94 ^a | 25 | 25 (100) | 437,92 | 15,51 ^a |
| NaCl | 25 | 20 (80) | 680,00 | 18,59 ^a | 25 | 25 (100) | 268,80 | 11,80 ^b |

Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente ($P > 0,05$).

OPG = n.º de ovos por grama de fezes

TABELA 2. Análise da variância para os números de ovos de helmintos transformados para $\sqrt{\text{opg} + 0,5}$.

| FV | GL | SQ | QM | F |
|-----------------|----|-------------|----------|-----------|
| Técnicas (T) | 1 | 325,0383 | 325,0382 | 14,0816** |
| Soluções (S) | 1 | 7,0919 | 7,0919 | 0,3072 ns |
| Interação T x S | 1 | 252,8861 | 252,8861 | 10,9558** |
| Animais | 24 | 21.815,4681 | 908,9778 | 39,3795** |
| Resíduo | 72 | 1.661,9397 | 23,0825 | |

** significativo em de 1% de probabilidade, pelo teste "F" de Snedecor.

ns = não significativo em nível de 5% de probabilidade, pelo teste "F" de Snedecor.

GL = grau de liberdade, SQ = soma dos quadrados, QM = quadrado médio e F = frequência

A confirmação de tais observações pode ser avaliada quando se utilizou o teste de correlação entre as soluções saturadas independentemente das técnicas adotadas. Por essa correlação verificou-se significância ($P < 0,01$) pelo teste “T” de Student, indicando que, independente da técnica, houve um aumento na contagem de ovos, quando se empregou a solução de açúcar.

Este estudo permitiu registrar 100% de positividade quando foi utilizada a técnica de CFM empregando-se as duas soluções saturadas; já com a técnica de MM, obteve-se 68% de positividade para a solução saturada de açúcar e 80% para a de NaCl (Tabela 1). Estes resultados estão próximos àqueles registrados por WASSAL & DENHAM (1969), que recuperaram 84% a 95% dos ovos de *Nematodirus* das fezes de bovinos e ovinos, utilizando solução saturada de NaCl, e com HUBERT & KERBOEUF (1984), que obtiveram 93% dos ovos de nematóides de ruminantes pela técnica centrifugo-flutuação contados à coproscopia.

Embora a técnica MM não tenha detectado positividade para algumas amostras que apresentavam opg baixo, nas contagens positivas o número de ovos foi sempre superior, independente do tipo de solução empregada quando comparado com centrifugo-flutuação, fornecendo uma boa estimativa da eficiência da técnica. As vantagens da técnica McMaster são a rapidez e a facilidade de obtenção dos resultados, além de ser muito utilizada em avaliações epidemiológicas quando o nível de parasitismo é comparado entre animais ou rebanhos (ROSSANIGO & GRUNER, 1991).

A CFM mostrou-se mais eficiente, detectando positividade mesmo quando o opg está baixo, porém é mais demorada, o que constitui uma desvantagem. No entanto, utilizando-se esta técnica, mesmo tendo-se usado apenas um grama de fezes, obteve-se um resultado importante para as investigações quantitativas na espécie ovina, uma vez que a centrifugação possibilita a concentração dos ovos, tornando-a mais sensível.

CONCLUSÕES

A técnica de McMaster, por necessitar de menos tempo para emprego, é adequada para avali-

ações epidemiológicas. Recomenda-se o uso da solução saturada de açúcar, uma vez que a de NaCl tende a corroer o material óptico e deformar os ovos, se a leitura não for rápida. A técnica CFM é mais adequada quando se trabalha com pequena quantidade de fezes, uma vez que a sua sensibilidade é maior, embora seja de emprego mais demorado.

REFERÊNCIAS

ALCAINO, H.; BAKER, N. F. Comparison of two flotation methods for detection of parasite eggs in feces. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 164, n. 6, p. 602-620, 1974.

FARR, M.M.; LUTTERMOSER, G. W. Comparative efficiency of zinc sulfate and sugar solutions for the simultaneous flotation of coccidial oocysts and helminth eggs. **The Journal of Parasitology**, v. 27, p. 417-424, 1941.

FIGUEIREDO, P.C.; SERRA-FREIRE, N. M.; GRISI, L. Eimerias de bovinos leiteiros do Estado do Rio de Janeiro: técnica de diagnóstico e espécies identificadas. **Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro**, v. 24, p. 3-10, 1984.

GORDON, H. McL; WHITLOCK, A.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep feces. **Journal Council Scientific Industry Research Australia**, v. 12, p. 50-52, 1939.

HUBERT, J.; KERBOUEF, D. A new method for culture larvae used in diagnosis of ruminant gastrointestinal strongylosis: comparison with fecal cultures. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 48, p. 63-71, 1984.

LEVINE, N. D.; MEHRA, K. N.; CLARK, D. T.; ALVES, I. J. A comparison of nematode egg counting techniques for cattle and sheep feces. **American Journal of Veterinary Research**, p. 511-515, 1960.

MAYHEW, R. L. Studies on bovine gastrointestinal parasites a flotation method for the recovery of parasitic eggs using cane sugar. **Transactions of**

American Microscopis Societs, v. 81, p. 264-247, 1962.

RODRIGUES, M. L. A.; SOUTO-MAIOR; M. P, ANJOS; D. H.; OLIVEIRA, M. D. L. Comparação entre as técnicas McMaster e centrífugo-flutuação para contagem de ovos de helmintos intestinais de eqüinos. **Revista da Universidade Rural**, v. 17, n. 2, p. 101-102, 1995.

ROSSANIGO, C. E.; GRUNER, L. Accuracy of two methods for counting eggs of sheep nematode parasites. **Veterinary Parasitology**, v. 39, p. 115-121, 1991.

SIMON, J.; TODD, K.; MEYER, R. C. Some Diagnostic Pathologic Procedures for the Equine Practitioner, **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 155, n. 12. p. 1828-1830,1969.

ZAR, H. J. **Biostatistical analysis**. 4. ed. New Jersey: Prentice Hall. 1984. 620p.

WASSAL, D.A.; DENHAM, D.A. A method for recovery of nematode eggs from feces. **Parasitology**, v. 59, p. 279-282, 1969.