

COMPARAÇÃO ENTRE A TÉCNICA DE MCMMASTER PADRÃO E SUAS MODIFICAÇÕES

Thamire Santos Cardoso¹
Gabriela Taipeiro Corrêa¹
Thirssa Helena Grando²
Cassio Henrique Caramori¹
Paulo Henrique Braz²

RESUMO

As parasitoses gastrintestinais são as infecções estabelecidas no tubo gastrintestinal, e podem ser causadas por parasitos como os helmintos e coccídeos. O diagnóstico desses parasitas pode ser realizado de diversas maneiras e técnicas, sendo a mais conhecida, prática e rápida a técnica popularmente conhecida como método OPG, que determina o número de ovos do parasita por grama de fezes para calcular a carga parasitária do animal. O OPG apesar de ser a técnica mais utilizada, apresenta muita variabilidade nos resultados e diversas modificações foram descritas a fim de melhorar a eficiência da técnica. Por isso, o objetivo deste trabalho foi comparar modificações das técnicas que resultam no número de OPG para determinar se alguma das modificações se equipara ao resultado da técnica padrão. Para seu desenvolvimento foi realizada a coleta de um pool de amostras de animais da espécie ovino, naturalmente infectados por helmintos; as amostras foram processadas por quatro modificações da técnica padrão, conhecido como o “Método de Gordon e Whitlock modificado”, utilizando-se a câmara McMaster, a fim de tentar estimar a carga parasitária dos animais. Para cada técnica foram feitas cinco repetições utilizando a mesma amostra fecal homogeneizada, em todas as repetições e em todas as técnicas. Concluímos que a técnica padrão mostrou ser a técnica mais eficiente e viável, visto que os seus resultados diferiram estatisticamente das demais técnicas mesmo que algumas modificações produzam uma menor quantidade de resíduo ou que necessitem uma menor quantidade de amostra.

Palavras-chave: OPG, ovinocultura, endoparasitas, exame coproparasitológico

COMPARISON BETWEEN THE STANDARD MCMMASTER TECHNIQUE AND ITS MODIFICATIONS

ABSTRACT

Gastrointestinal parasites are infections established in the gastrointestinal tract and can be caused by parasites such as helminths and coccidia. The diagnosis of these parasites can be performed in several ways and techniques, the best known, practical, and fast being the technique popularly known as the OPG method, which determines the number of parasite eggs per gram of feces to calculate the parasite load of the animal. The OPG, despite being the most used technique, presents a lot of variability in the results and several modifications have been described to improve the efficiency of the technique. Therefore, the objective of this work was to compare modifications of the techniques that result in the number of OPG to determine if any of the modifications equate to the result of the standard technique. For its development, a pool of samples of animals of the sheep species, naturally infected by helminths, was collected;

¹ Discente no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Farroupilha (IFFar). Correspondência: thamiregremio@gmail.com

² Docente no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Farroupilha (IFFar). thirssa.grando@iffarroupilha.edu.br

the samples were processed by four modifications of the standard technique, known as the “Modified Gordon and Whitlock Method”, using the McMaster chamber, in order to try to estimate the parasite load of the animals. For each technique, five repetitions were performed using the same homogenized fecal sample, in all repetitions and in all techniques. We concluded that the standard technique proved to be the most efficient and viable technique, since its results differed statistically from the other techniques, even if some modifications produced a smaller amount of residue or required a smaller amount of sample.

Keywords: OPG, sheep, endoparasites, coproparasitological examination

COMPARACIÓN ENTRE LA TÉCNICA MCMASTER ESTÁNDAR Y SUS MODIFICACIONES

RESUMEN

Los parásitos gastrointestinales son infecciones establecidas en el tracto gastrointestinal y pueden ser causadas por parásitos como helmintos y coccidios. El diagnóstico de estos parásitos se puede realizar de varias formas y técnicas, siendo la más conocida, práctica y rápida la técnica popularmente conocida como método OPG, que determina el número de huevos del parásito por gramo de heces para calcular la carga parasitaria del animal. La OPG, a pesar de ser la técnica más utilizada, presenta mucha variabilidad en los resultados y se han descrito varias modificaciones con el fin de mejorar la eficiencia de la técnica. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue comparar las modificaciones de las técnicas que dan como resultado el número de OPG para determinar si alguna de las modificaciones equivale al resultado de la técnica estándar. Para su desarrollo se recolectó un pool de muestras de animales de la especie ovino, naturalmente infectados por helmintos; las muestras fueron procesadas por cuatro modificaciones de la técnica estándar, conocida como “Método de Gordon y Whitlock Modificado”, utilizando la cámara McMaster, con el fin de tratar de estimar la carga parasitaria de los animales. Para cada técnica se realizaron cinco repeticiones utilizando la misma muestra fecal homogeneizada, en todas las repeticiones y en todas las técnicas. Concluimos que la técnica estándar demostró ser la técnica más eficiente y viable, ya que sus resultados diferían estadísticamente de las otras técnicas, aunque algunas modificaciones produjeron una menor cantidad de residuo o requirieron una menor cantidad de muestra.

Palabras clave: OPG, ganadería ovina, endoparásitos, examen coproparasitológico

INTRODUÇÃO

As parasitoses gastrintestinais são as infecções estabelecidas no tubo gastrintestinal, causadas por parasitos como os helmintos e coccídios. No Brasil, os ruminantes de produção são parasitados por diferentes helmintos, os quais são relacionados a diversos prejuízos nos índices produtivos. Dentre estes parasitos, helmintos dos gêneros *Cooperia*, *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Nematodirus*, *Oesophagostomum* e *Strongyloides* são considerados os principais vilões no desenvolvimento de bovinos e ovinos nas diferentes regiões do país (1, 2, 3).

As infecções por esses helmintos gastrintestinais em animais de criação determinam importantes perdas econômicas devido à efeitos diretos e indiretos decorrentes do parasitismo como subdesenvolvimento dos animais, mortalidade, perda de peso, redução na produção de leite e efeitos na reprodução (4,5).

O controle destas infecções se faz de extrema necessidade e pode ser feito de diversas maneiras, sendo algumas delas, o manejo do rebanho e das pastagens, uso de fármacos como os anti-helmínticos (6), e alguns métodos levam em consideração a avaliação do grau do parasitismo.

O diagnóstico clínico para determinação dessas patologias é baseado nos sinais apresentados pelos animais e deve ser confirmado com o diagnóstico laboratorial, por meio de exame de fezes, no qual as parasitoses são determinadas (6). O diagnóstico laboratorial pode ser realizado de diversas maneiras e técnicas, sendo a mais conhecida, prática e rápida a técnica de Gordon e Whitlock (McMaster) popularmente conhecida como OPG – Ovos por grama de fezes, utilizado para contagem de ovos de nematoides, cestoides e oocistos de protozoários nas fezes dos animais por meio de um método de flutuação usando uma câmara específica chamada de McMaster, sendo um exame microscópico quantitativo e qualitativo (7,8).

Esta técnica é indicada como uma medida confiável e representativa, pois apresenta sensibilidade no teste e é usada como indicativo para o grau de infecção parasitária (8). O OPG pode ser realizado principalmente para o diagnóstico de parasitose de bovinos, caprinos, ovinos, equídeos e suínos e tem a vantagem de ser utilizado como um guia para interpretação da contagem de ovos de Helmintos em ruminantes, pois ele estima a carga parasitária do animal e serve de parâmetro para avaliar a sensibilidade de fármacos bem como para a realização de tratamento anti-helmíntico (9), este que indica ainda o grau de infecção por helmintos, e pode ser usado como um parâmetro na determinação do limiar de tratamento, bem como muito utilizada na verificação da eficácia de produtos químicos com atividade anti-helmíntica, mediante a redução do número de ovos por grama de fezes (10).

Apesar do OPG ser a técnica mais viável, há muita variabilidade nos resultados devido à diferentes aplicações e modificações feitas da mesma técnica. Algumas adaptações aumentam a quantidade de fezes buscando maior sensibilidade no teste, outras reduzem a quantidade de fezes pela metade buscando gerar menos resíduos descartáveis, porém essas adaptações podem obter resultados diferentes. Por isso, o objetivo deste trabalho é comparar modificações das técnicas que resultam no número de OPG para determinar se alguma das modificações se equipara ao resultado da técnica padrão.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada a coleta com base em um valor previamente estimado de 80 gramas de um *pool* de amostras de animais naturalmente infectados, da espécie ovina, de 3 fêmeas adultas do rebanho de cria do setor de ovinocultura do Instituto Federal Farroupilha do *campus* Frederico Westphalen no Rio Grande do Sul. A coleta de fezes foi realizada diretamente da ampola retal e as amostras foram armazenadas em recipiente adequado e refrigeradas para manter a viabilidade até seu processamento. As amostras foram homogeneizadas a fim de que o teste das técnicas fosse feito a partir de uma amostra única. Em seguida foram processadas por quatro modificações da técnica de OPG. Para cada modificação foi feito cinco repetições utilizando a mesma amostra fecal em todas as repetições e a cada leitura de modificação foi feito um intervalo de 3 minutos entre processamento e início da leitura.

A técnica de Gordon e Whitlock modificada (11) foi usada como padrão de comparação com as demais técnicas. Esta técnica consiste na utilização de 2 gramas de fezes e 58 mL de solução saturada de açúcar. Por fim, multiplica-se o resultado por 100 para determinar a quantidade de números de ovos por gramas de fezes na amostra analisada, essa metodologia é a descrita para ovinos; para bovinos, suínos e equinos utiliza-se 4 gramas de fezes, 56 mL de solução e o fator de multiplicação é 50.

Na modificação 1 (12) foi utilizado 3 gramas de fezes e 42 ml de solução, gerando assim uma solução mais densa. Na modificação 2 (13) foi utilizado 4 gramas de fezes e 60 ml de solução, objetivando ter uma maior concentração da amostra fecal. Na modificação 3 (14) foi utilizado 4 gramas de fezes e 26 ml de solução saturada de açúcar, com o intuito de gerar menos resíduos e maior sensibilidade por ter uma maior quantidade de amostra. Na modificação 4 (modificação utilizada de forma empírica em alguns laboratórios de parasitologia) foi utilizado 1 grama de fezes e 29 ml de solução saturada de açúcar, esperava-se que com essa modificação gerasse menos resíduos e que apresentasse resultados tão precisos quanto em uma aplicação da técnica padrão, pois simplesmente dividiu-se pela metade os valores descritos na técnica padrão, essa técnica é realizada empiricamente em alguns laboratórios.

As modificações realizadas foram baseadas em descrições na literatura e de uso comum em laboratório, todas seguem os mesmos procedimentos da técnica padrão a única diferença é a quantidade de amostra, de solução e o fator de multiplicação (conforme a tabela 1).

Para a realização dos cálculos estatísticos foi utilizado o programa BioEstat - Versão 5.3. O teste utilizado foi o ANOVA Fatorial e as amostras foram correlacionadas entre elas para determinar as diferenças estatísticas.

Tabela 1. Relação das quantidades de amostras e de solução, e o fator de multiplicação em cada uma das técnicas testadas.

Técnica	Quantidades		Fator de multiplicação	Referência
	amostra	solução		
Padrão	2 g	58 mL	100	Gordon HM & Whitlock HV (1939)
Modificação 1	3 g	42 mL	50	Monteiro SG (2017)
Modificação 2	4 g	60 mL	50	Molento, MB et al, (2011)
Modificação 3	4 g	26 mL	25	Taylor MA (2017)
Modificação 4	1 g	29 mL	50	N/C

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando os resultados da média final das técnicas testadas, a técnica padrão apresentou uma média de 1380 ovos por gramas de fezes (OPG), a modificação 1 a média de 710 ovos gramas de fezes, a modificação 2 a média de 960 ovos por gramas de fezes, a modificação 3 a média de 275 ovos por gramas de fezes e a modificação 4 a média de 400 ovos por gramas de fezes, conforme descrito na tabela 2.

Tabela 2. Contagem de ovos por grama de fezes (OPG) a partir das técnicas; P = técnica padrão (11); M 1 = modificação 1 (12); M 2 = modificação 2 (13); M 3 = modificação 3 (14); M 4 = modificação 4 (modificação utilizada de forma empírica em alguns laboratórios de parasitologia).

	P	M 1	M 2	M 3	M 4
Número de ovos contados	13,8 ^a	14,2 ^a	19,2 ^a	11 ^a	8 ^b
Valor final de OPG	1380 ^a	710 ^b	960 ^b	275 ^c	400 ^b

Legenda: Letras iguais na mesma linha significam que não diferem estatisticamente $p < 0,05$.

Com base nesses resultados podemos observar que nenhuma das técnicas apresentou resultados estatisticamente iguais à técnica padrão, demonstrando que nenhuma dessas técnicas possa ser utilizada com o mesmo intuito que a técnica padrão como, por exemplo, o teste de eficácia de produtos químicos com atividade anti-helmíntica (11).

Porém, se avaliarmos o número de ovos contados em cada uma das técnicas podemos observar que as modificações 1, 2 e 3 (tabela 2), são estatisticamente iguais, demonstrando que o fator de multiplicação de cada uma dessas modificações possa não estar correto, e que se fosse feita uma padronização da técnica ela poderia ser tão eficiente quanto a técnica padrão e alcançaria os objetivos de ou aumentar a sensibilidade do teste ou de diminuir a quantidade de resíduo.

Por se tratar de uma técnica quantitativa, a técnica de OPG é considerada mais exata, onde são analisados diversos parâmetros, para a obtenção do cálculo, como a área da câmara de McMaster, a quantidade de fezes expelida pelo animal diariamente e a quantidade de ovos produzidos pelos helmintos, sendo utilizada para a avaliação da carga parasitária (15). Porém, Santos et al. (16) relataram resultados, onde a técnica de Willis-Molay, que se trata de uma técnica qualitativa se mostrou mais eficiente, recuperando um número maior de gêneros de parasitas em comparação com outras duas técnicas quantitativas, a técnica de Gordon e Whitlock modificado e a técnica de Kato Katz. Por isso a busca de técnicas mais próximas do ideal já vem sendo realizada por diversos autores, técnicas que estimem a carga parasitária do animal e que deem o diagnóstico clínico mais preciso. Como foi observado por Abidu-Figueiredo et al. (17), na intenção de tornar mais preciso o diagnóstico de parasitoses gastrintestinais, se possível com baixo custo operacional, fácil, rápida execução e maior sensibilidade na recuperação de ovos.

CONCLUSÃO

Conclui-se que a técnica padrão mostrou ser a mais eficiente e viável economicamente e na facilidade de sua realização, visto que os resultados diferiram estatisticamente das demais. Ainda que as outras modificações buscassem uma técnica com menos resíduo ou com maior amostragem de fezes para torná-la mais sensível e específica, a técnica descrita por Gordon e Whitlock modificado é a mais correta e segura para ser utilizada, com base no estudo feito, foi visto que ela segue sendo a que oferece os melhores resultados ao teste.

REFERÊNCIAS

1. Ramos CI, Bellato V, Souza AP, Avila VS, Coutinho GC, Dalagnol CA. Epidemiologia das helmintoses gastrintestinais de ovinos no Planalto Catarinense. *Cienc Rural*. 2004;34(6):1889-95.
2. Amarante AFT. Controle integrado de helmintos de bovinos e ovinos. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2004;13 Supl 1:68-71.
3. Costa MSVLF. Dinâmica das infecções por helmintos gastrintestinais de bovinos na região do vale do Mucuri, MG [dissertação]. Belo Horizonte (MG): Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, Universidade Federal de Minas Gerais; 2007.
4. West DM, Pomroy WE, Kenyon PR, Morris ST, Smith SL, Burnham DL. Estimating the cost of subclinical parasitism in grazing ewes. *Small Rumin Res*. 2009;86(1-3):84-6.
5. Sutherland IA, Scott I. *Gastrointestinal nematodes of sheep and cattle: biology and control*. Iowa: Wiley-Blackwell; 2010.
6. Suarez VH. Helminthic control on grazil ruminants and environmental risks in South America. *Vet Res*. 2002;33(5):563-73.

7. Girão ES, Leal JA. Diagnóstico de verminoses em ruminantes. Teresina: Embrapa Meio-Norte; 1999. (Documentos; n. 42).
8. Gordon HM, Whitlock HV. A new technique for counting nematode eggs in sheep feces. J Council Sci Ind Res. 1939;12(1):50-2.
9. Rinaldi L, Lavecke B, Bosco A, Ianniello D, Pepe P, Charlier J, et al. Comparison of individual and pooled faecal samples in sheep for the assessment of gastrointestinal strongyle infection intensity and anthelmintic drug efficacy using McMaster and Mini-FLOTAC. Vet Parasitol. 2014;205(1-2):216-23.
10. Amarante AFT, Amarante MRV. Advances in the diagnosis of the gastrointestinal nematode infections in ruminants. Braz J Vet Res Anim Sci. 2016;53(2):127-37.
11. Ueno H, Gonçalves PC. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes. 4th ed. Tokyo: JICA; 1998.
12. Taylor MA, Coop RL, Wall RL. Parasitologia veterinária. 4a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. Diagnóstico laboratorial de parasitismo: método de McMaster modificado melhorado; p. 254.
13. Monteiro SG. Parasitologia na Medicina Veterinária. 2a ed. Rio de Janeiro: Roca; 2017. Técnicas laboratoriais; Cap. 33, p. 334-43.
14. Molento MB. Protocolos básicos de laboratório para a realização de metodologias fenotípicas e genotípicas. In: Molento MB, Niciura SCM, Chagas ACS, editores. Manual prático: metodologias de diagnóstico da resistência e de detecção de substâncias ativas em parasitas de ruminantes. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; 2011. Cap. 11, p. 117-53.
15. Sandes HMM, Cruz NLN, Pontes RM, Monteiro MFM, Alves LC, Faustino MAG. Comparação entre a técnica de sheather modificada e a técnica de opg no exame coproparasitológico de ovinos. In: Anais da 11a Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão - JEPEX; 2011; Recife (PE). Recife: UFRPE; 2011. p. 1-3.
16. Santos KR, Ciro ER, Miranda LSR, Lino MN, Sousa SC Jr. Comparação entre três técnicas coproparasitológicas na investigação de parasitos intestinais de seres humanos. Rev Eletronica Acervo Saude. 2020;(52):e3521.
17. Abidu-Figueiredo M, Reinecke RK, Serrafreire NM. Comparação entre três técnicas coproparasitológicas para a contagem de ovos de nematóides gastrintestinais de suínos. Rev Cienc Tecnol. 2008;8(1):7-11.

Recebido em: 14/06/2022

Aceito em: 15/12/2022