

ADAPTAÇÃO DA TÉCNICA DE DENNIS, STONE & SWANSON PARA DIAGNÓSTICO COPRO-PARASITOLÓGICO DE INFECÇÃO NATURAL POR *Eurytrema* sp EM BOVINOS*

PACÍFICO ANTÔNIO DINIZ BELÉM
Professor Adjunto
Universidade Federal de Viçosa

MAURO RODRIGUES DE OLIVEIRA
Professor Adjunto
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP
Campus de Botucatu

CARLOS ROBERTO PADOVANI
Professor Adjunto
Instituto de Biociências da UNESP
Campus de Botucatu

BELÉM, P.A.D.; OLIVEIRA, M.R.; PADOVANI, C.R. Adaptação da técnica de Dennis, Stone & Swanson para diagnóstico copro-parasitológico de infecção natural por *Eurytrema* sp em bovinos. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, v.29, n.2, p.303-7, 1992.

RESUMO: Foram efetuadas contagens de ovos de *Eurytrema* sp em fezes de bovinos naturalmente infectados e os resultados indicaram que o método de exame copro-parasitológico empregado, independentemente da carga parasitária do hospedeiro, tem 94,2% de probabilidade de diagnosticar casos de infecção, quando se efetua um único exame. Ademais, ficou comprovado que o número de ovos de *Eurytrema* sp por grama de fezes obedece a um modelo de distribuição binomial negativa e se caracteriza pela sua pequena magnitude.

UNITERMOS: *Eurytrema*; Contagem de ovos de parasitas; Fezes, bovinos

INTRODUÇÃO

As poucas técnicas disponíveis para contagem de ovos de *Eurytrema* sp em fezes de bovinos (OPG) são, de

modo geral, muito trabalhosas^{1,8,10,11,12,13} e, de nenhuma delas, se conhece a probabilidade de ocorrência de casos falsos negativos, parâmetro útil para se ter uma idéia da eficiência da técnica adotada.

Diante do exposto e das reconhecidas simplicidade e eficiência da técnica de DENNIS et al.² (1954) para diagnóstico das infecções por *Fasciola* e *Paramphistomum* em bovinos¹², a mesma foi submetida a modificações e, a seguir, passou-se a avaliá-la também para diagnóstico de infecção natural por *Eurytrema* sp. Este trabalho, portanto, objetiva descrever os resultados desta pesquisa.

MATERIAL E MÉTODO

Foram examinadas amostras fecais de 38 bovinos de ambos os sexos, pertencentes a diferentes raças e oriundos de diversas propriedades rurais, abatidos em São Manoel, Estado de São Paulo, entre 23/11/87 e 25/01/88, e de um outro necropsiado na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Campus de Botucatu (FMVZ/UNESP). Todos eram adultos, criados em regime de pasto e procedentes de municípios da mesorregião do Sudoeste Paulista.

Após a evisceração de cada animal, o pâncreas era examinado e, quando parasitado, uma amostra mínima de 10 g de fezes contida na ampola retal era recolhida, acondicionada em sacos plásticos individuais, previamente identificados, e transportada até a FMVZ/UNESP onde era submetida a exame parasitológico pela técnica de DENNIS et al.² (1954) com as seguintes modificações:

1. após homogeneização da amostra de fezes, colhia-se 1 g, que era dissolvida dentro de um béquer contendo aproximadamente 20 ml de solução detergente a 0.5%^{**};
2. os tamises empregados, confeccionados segundo GIRÃO e UENO⁴ (1985), possuíam telas metálicas de 250 malhas/polegada^{***};
3. as suspensões de fezes eram filtradas através dos tamises e recolhidas em cálices de sedimentação de 125 ml;
4. eram adicionados 40 ml de solução detergente, através do tamis, a cada vez que se procedia à lavagem do material retido;
5. cada etapa da sedimentação levava 10 minutos;
6. não se utilizava corante;

* Parte da tese: BELEM, P.A.D. *Aspectos ligados ao diagnóstico da infecção por Eurytrema sp em bovinos*. Botucatu, 1991. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

** Limpol - BOMBRIIL - S/A.

*** Material: aço inox - Vibrotex Telas Metálicas Ltda.

7. em virtude do pequeno tamanho dos ovos de *Eurytrema* sp, sua contagem no sedimento de cada amostra de fezes (OPG) era efetuada ao microscópio óptico e com aumento de 100 vezes. Para isto, lâminas marcadas com riscos longitudinais paralelos, feitos o mais próximo possível com lápis de diamante, eram inicialmente colocadas no microscópio. Em seguida, com auxílio de uma pipeta Pasteur, transferiam-se para as lâminas alíquotas do sedimento obtido, as quais eram distribuídas transversalmente, dentro de áreas imaginárias de 1 a 1,5 cm de largura, dispostas de maneira que as faixas de líquido não se fundissem. Aí, então, cada uma destas, sem ser coberta por lamínula, era examinada percorrendo-a em zig-zag e os ovos encontrados, cumulativamente, contados nos campos delimitados pelas linhas paralelas da lâmina (Fig. 1). Por fim, examinado todo o sedimento, cada cálice era lavado algumas vezes com 1 a 2 ml de água e, a cada operação destas, o líquido era processado como se fosse um novo sedimento. O exame era dado por encerrado quando não mais aparecia nenhum material oriundo da sedimentação da amostra de fezes. A soma dos ovos encontrados equivalia ao OPG.

A análise estatística dos dados consistiu em verificar, por meio do teste de Kolmogorov e Smirnov para uma amostra se, ao nível de 5% de significância, havia aderência da distribuição do número de ovos de *Eurytrema* sp por grama de fezes às distribuições probabilísticas binomial negativa ou Poisson⁷.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme resultados (Tab. 1), 87,2% dos casos de infecção por *Eurytrema* sp foram detectados pelo método copro-parasitológico utilizado e, dentre os que não o foram, quatro exibiam número de parasitas muito pequeno. Em contraposição, diagnosticaram-se três casos em que o número de parasitas era igualmente muito baixo (34, 35 e 42 espécimes). Ao se confrontarem os dados da Tab. 1 com a literatura compulsada, vê-se que MARTIN⁶ (1972) também teve dificuldade em demonstrar ovos nas fezes de animais que albergavam, nos pâncreas, número inferior a 100 espécimes de *Eurytrema* sp e que diversos autores 1,8,10,11,13 depararam com resultados falsos negativos ao exame parasitológico de fezes, a despeito da diversidade de técnicas utilizadas. Explicando-se estes casos, poder-se-ia supor que, tal como consideraram CHINONE e ITAGAKI¹ (1976), possam decorrer de oscilações da ovipostura e consequente eliminação dos ovos com as fezes ou se tratar de infecções recentes ou, ainda, situações cuja carga parasitária seja pequena. De fato, a julgar pelos resultados obtidos e os trabalhos de MARTIN⁶ (1972) e CHINONE; ITAGAKI¹ (1976), quando a carga parasitária é muito baixa a

ovipostura também o é, fato que, sem dúvida, dificulta o diagnóstico parasitológico da infecção por *Eurytrema* sp.

Estudando-se a distribuição de probabilidades de ocorrência do OPG na helmintose em questão, e sua aderência às distribuições binomial negativa ou de Poisson, verificou-se que, coincidindo com as observações de HUNTER e QUENOUILLE⁵ (1952) acerca do OPG de nematóides gastrointestinais, os dados ajustaram-se à primeira ($D = 0,1838, P > 0,10$):

$$P(\text{OPG} = x) = 0,0580506 \cdot 0,9419494^x \text{ com } x = 0,1,2,\dots$$

A partir do cálculo de $1 - P(\text{OPG} = 0)$ pode-se inferir que, ao se empregar a técnica de DENNIS et al.² (1954), tal como modificada, há, independentemente do grau de infecção, 94,2% de probabilidade de que casos de infecção natural por *Eurytrema* sp em bovinos venham a ser diagnosticados. Além disto espera-se que, não sendo baixa a carga parasitária e tampouco recente a infecção, a probabilidade indicada venha a aumentar. Analogicamente, o mesmo deverá ocorrer se se repetir o exame parasitológico por meio da técnica considerada.

Outra constatação que pode ser feita ao se examinar o modelo matemático é que valores elevados de OPG têm probabilidade remota de serem encontrados (Fig. 2). Esta pequena magnitude do OPG, nos casos de infecção por *Eurytrema* sp, foi também observada por SAKAMOTO et al.^{9,10} (1984, 1980) e VIANA¹³ (1985) e parece ocorrer, também, no caso de parasitismo por outros trematódeos de bovinos, como *Fasciola hepatica*^{3,12} e *Paramphistomum* sp¹⁴. Todavia, é difícil encontrar uma explicação para este fenômeno, sobretudo se se considerar que a ovipostura média "in vitro" para *E. coelomaticum*¹⁵ iguala ou supera aquelas descritas para *Oesophagostomum* spp, *Ostertagia* spp, *Trichostrongylus* spp, *Cooperia* spp e *Nematodirus* spp¹² e, apesar disto, o OPG para *Eurytrema* sp é bem inferior àquele verificado nos casos de infecção pelos referidos nematóides¹².

CONCLUSÕES

- 1) a distribuição de probabilidades de ocorrência da variável OPG, entre animais parasitados, obedece um modelo de distribuição binomial negativa segundo a equação $P(\text{OPG} = x) = 0,580506 \cdot 0,9419494^x$, com $x = 0,1,2,\dots$
- 2) um único exame copro-parasitológico, por meio da técnica empregada, tem 94,2% de probabilidade de comprovar casos de infecção por *Eurytrema* sp em bovinos, independentemente da carga parasitária do hospedeiro;
- 3) à medida que aumentam os valores possíveis de ocorrência do OPG, sua probabilidade associada diminui a tal ponto que, para valores elevados, ela tende a zero;

4) o OPG caracteriza-se pela sua pequena magnitude.

BELÉM, P.A.D.; OLIVEIRA, M.R.; PADOVANI, C.R. Adaptation of the Dennis, Stone & Swanson's technique for parasitologic diagnostic of *Eurytrema* sp infection in cattle. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, v.29, n.2, p.303-7, 1992.

SUMMARY: Fecal samples were taken from 39 *Eurytrema* sp naturally infected cattle in order to determinate the egg count per gram of faeces. The results showed that the method employed has 94.2% of probability to detected natural cases of infection with only one examination and this value is not related to the parasite load. Besides, it was proved that the number of eggs per gram of faeces in *Eurytrema* sp naturally infected cattle has low counts and follows a binomial negative frequency distribution model.

UNITERMS: *Eurytrema*; Parasite egg count; Faeces of cattle

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01-CHINONE, S.; ITAGAKI, H. Development of *Eurytrema pancreaticum* (TREMATODA). II. Development in definitive hosts. *Bull. Azabu vet. Coll.*, v.1, p.73-81, 1976.
- 02-DENNIS, W.R.; STONE, W.M.; SWANSON, L.E. A new laboratory and field diagnostic test for fluke ova, in feces. *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, v.124, p.47-50, 1954.
- 03-GIRÃO, E.S.; UENO, H. Diagnóstico coprológico quantitativo da fasciolose de ruminantes no Rio Grande do Sul. *Pesq. agropec. bras.*, v.20, p.461-6, 1985.
- 04-GIRÃO, E.S.; UENO, H. Técnica de quatro tamises para o diagnóstico coprológico quantitativo da fasciolose dos ruminantes. *Pesq. agropec. bras.*, v.20, p.905-12, 1985.
- 05-HUNTER, G.C.; QUENOUILLE, M.H. A statistical examination of the worm egg count sampling technique for sheep. *J. Helminth.*, v.26, p.157-70, 1952.
- 06-MARTIN, O.C. The incidence of *Eurytrema pancreaticum* (Loos, 1907) in dairy cattle at the DTRI Farm. *Philipp. Agric.*, v.56, p.25-34, 1972.
- 07-OSTLE, B. *Estatística aplicada*. 3.ed. México, Limusa-Wiley, 1973.
- 08-RAGUSA, A.L.; CAMPOS, M.S. Identificação de hospedeiro intermediário de *Eurytrema coelomaticum* (Giard & Billet, 1882) Looss, 1907, (TREMATODA - DICROCOELIIDAE) em fazendas de criação de bovinos, no estado de São Paulo - Brasil. *Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo.* v.13, p.269-87, 1976.
- 09-SAKAMOTO, T.; KONO, I.; MOHRI, S. Studies on *Eurytrema coelomaticum*. IV. Comparison between anthelmintic effects of drugs against *Eurytrema coelomaticum* "in vitro" and "in vivo". *J. Fac. Agric. Iwate Univ.*, v.17, p.211-27, 1984.
- 10-SAKAMOTO, T.; KONO, I.; YASUDA, N.; YAMAMOTO, Y.; NAKAGAWA, H. Studies on *Eurytrema coelomaticum*. II. The anthelmintic efficiency of nitroxynil and praziquantel against *Eurytrema coelomaticum* in cattle. *Mem. Fac. Agr. Kagoshima Univ.*, v.16, p.93-101, 1980.
- 11-SAKAMOTO, H.; TASHIRO, T.; WATANABE, S.; SAKAMOTO, T.; KONO, I.; YASUDA, N. Clinicopathological findings of cattle infected with *Eurytrema coelomaticum*. *Bull. Fac. Agric. Kagoshima Univ.*, v.30, p.117-22, 1980.
- 12-UENO, H.; GONÇALVES, P.C. *Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes*. 2.ed. Tóquio, Japan International Cooperation Agency, 1988.
- 13-VIANA, S.S.S. *Técnica coproscópica de sedimentação para concentração de ovos de Eurytrema Looss, 1907*. São Paulo, 1985. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de São Paulo.

14-WILMOTT, S.; PESTER, F.R.N. Variations in faecal egg-counts in *Paramphistome* infections as determined by new technique. *J. Helminth.*, v.26, p.147-56, 1952.

VETERINÁRIA, 5., Belo Horizonte, 1987. Resumos. Belo Horizonte, 1987. p.4.

15-YAMAMURA, M.H.; DEZOTI, W. Observações sobre a ovipostura média diária de *Eurytrema coelomaticum* em condições experimentais. In: SEMINÁRIO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA

Recebido para publicação em 19/03/92

Aprovado para publicação em 21/05/92

TABELA 1 - Frequências observadas do OPG e correspondente(s) número(s) de espécimes de *Eurytrema* sp encontrado(s) nos pâncreas de 39 bovinos naturalmente infectados e abatidos na cidade de São Manoel, São Paulo, entre 23/11/87 e 25/01/88.

OPG	Frequência observada	Número de espécimes de <i>Eurytrema</i> sp por bovino
0	5	4 - 44 - 46 - 72 - 356
1	3	34 - 218 - 254
2	2	35 - 124
3	1	391
4	1	712
5	1	132
6	2	315 - 323
7	2	143 - 210
8	1	177
11	1	148
12	3	231 - 477 - 578
15	2	167 - 228
16	2	143 - 342
18	1	357
19	1	42
20	1	372
21	2	580 - 1045
24	1	1159
37	2	203 - 394
40	1	943
42	1	1165
62	1	662
66	1	759
80	1	204

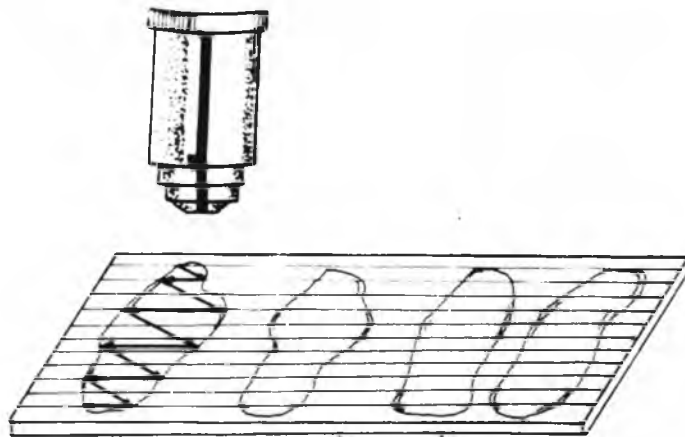


FIGURA 1 - Representação esquemática do exame microscópico do sedimento para contagem do OPG: lâmina riscada longitudinalmente contendo alíquotas do sedimento distribuídas em sentido transversal, das quais uma sendo examinada.

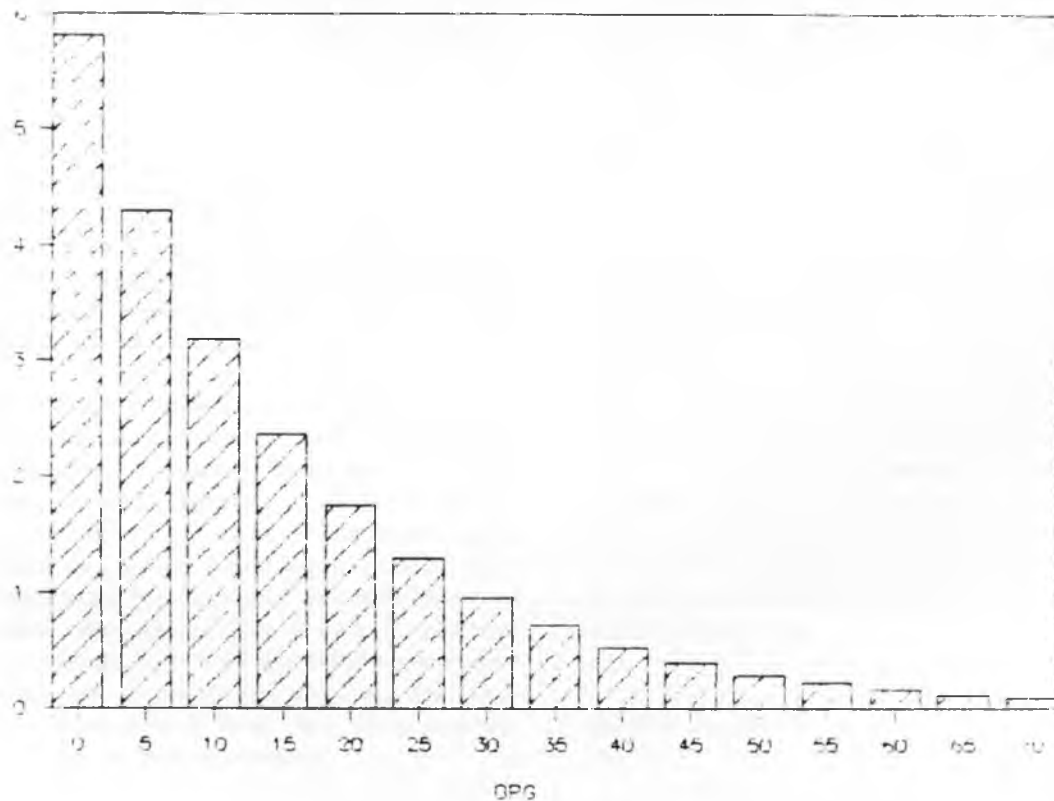


FIGURA 2 - Probabilidades associadas ($P [OPG = x]$) aos valores do OPG de bovinos naturalmente infectados por *Eurytrema* sp e procedentes da mesorregião do Sudoeste Paulista.