









Original

Desempeño de McMaster y Mini-Flotac en el diagnóstico de *Paramphistomum* spp. en bovinosPerformance of McMaster and Mini-Flotac Techniques in the Diagnostic of *Paramphistomum* spp. in Bovines

Enrique Casado Simón*, Marbelys González Salotén*, Arnelis Díaz Fernández*, Zaul Gutiérrez Lastra*, Julio Madera Quintana**, Amilcar Arenal Cruz*

* Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Camagüey Ignacio Agramonte Loynaz, Camagüey, Cuba.

** Vicerrectoría de Informatización, Universidad de Camagüey Ignacio Agramonte Loynaz, Camagüey, Cuba.

Correspondencia: enrique.casado@reduc.edu.cu

Recibido: Febrero, 2020; Aceptado: Febrero, 2020; Publicado: Marzo, 2020.

RESUMEN

Antecedentes: La Paramphistomosis es una enfermedad parasitaria emergente que causa cuantiosas pérdidas económicas, su diagnóstico es muy difícil. El objetivo del presente estudio fue evaluar el desempeño de las técnicas coprológicas McMaster y Mini- FLOTAC en el diagnóstico de *Paramphistomum* spp. de muestras provenientes de bovinos.

Métodos: Se analizó la recuperación de huevos de *Paramphistomum* spp. de McMaster y Mini-Flotac en muestras de heces de bovinos con cantidades conocidas de hpg. Se emplearon diferentes soluciones de flotación de $ZnCl_2$ y $ZnSO_4$, ambas con densidades de 1,45 y 1,50 mg/mL. Posteriormente se determinó el desempeño de McMaster y Mini- Flotac en muestras de heces de bovinos destinados al sacrificio ($n=40$); y otras provenientes de rebaños lecheros ($n=155$).

Resultados: Se obtuvieron similares exactitudes en la recuperación de huevos en ambas técnicas para hpg conocidos en diferentes soluciones de flotación (59-77 %). La precisión fue similar tanto en McMaster (16,93-25,83 %) y Mini-Flotac (17,83-25,05 %). Se observó linealidad de los conteos de hpg entre McMaster y Mini-Flotac tanto en muestras de heces de bovinos al sacrificio ($R^2=0,93$), como de muestras de rebaños lecheros ($R^2=0,71$). Las prevalencias de *Paramphistomum* spp. en rebaños lecheros fueron 42,9 % con McMaster y 43,5 % con Mini-FLOTAC.

Conclusiones: Ambas técnicas coprológicas tienen alta precisión y recuperación en la detección de huevos de *Paramphistomum* spp. en heces de bovinos, lo que indica la aplicabilidad para el diagnóstico parasitológico.

Como citar (APA)

Casado Simón, E., González Salotén, M., Díaz Fernández, A., Gutiérrez Lastra, Z., Madera Quintana, J., & Arenal Cruz, A. (2020). Desempeño de McMaster y Mini-Flotac en el diagnóstico de *Paramphistomum* spp. en bovinos. *Revista de Producción Animal*, 32(1).



©El (los) autor (es), Revista de Producción Animal 2020. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Attribution-NonCommercial 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), asumida por las colecciones de revistas científicas de acceso abierto, según lo recomendado por la Declaración de Budapest, la que puede consultarse en: Budapest Open Access Initiative's definition of Open Access.

Palabras clave: diagnóstico, exactitud, *Paramphistomum*, prevalencia (*Fuente: CAB*)

ABSTRACT

Background: Paramphistomosis is an emerging, hard to diagnose, parasitic disease, which causes enormous economic losses. The aim of this study was to evaluate the performance of two coprological techniques: McMaster and Mini- Flotac to diagnose *Paramphistomum* spp. from bovine samples.

Methods: *Paramphistomum* spp. egg recovery through McMaster and Mini-Flotac was analyzed in bovine fecal samples, with known quantities of epg. Different floating solutions of ZnCl₂ and ZnSO₄ were used, with densities of 1.45 and 1.50 mg/mL. Then, the performances of McMaster and Mini-Flotac were determined in fecal samples from sacrifice bovines (n=40), as well as samples from dairy herds (n=155).

Results: Both techniques yielded similar egg recovery accuracies, for known epg in different floating solutions (59-77 %). Accuracy was similar both in McMaster (16.93-25.83%) and Mini-Flotac (17.83-25.05%). Linearity was observed in epg counts between McMaster and Mini-Flotac, in both fecal samples from sacrifice bovines ($R^2=0.93$) and from dairy herds ($R^2=0.71$). The prevalences of *Paramphistomum* spp. in dairy herds were 42.9% (McMaster), and 43.5% (Mini-Flotac).

Conclusions: The two coprological techniques are highly accurate, with significant recovery at detecting *Paramphistomum* spp. eggs in bovine feces, thus indicating the feasibility of these parasitological diagnostic techniques.

Key words: diagnosis, accuracy, cattle, *Paramphistomum*, prevalence (*Source: CAB*)

INTRODUCCIÓN

La Paramfistomosis es una enfermedad parasitaria ocasionada por trematodos que afectan a rumiantes y diversas especies silvestres, especialmente en regiones tropicales (Rojas *et al.*, 2015). Puede causar una gastroenteritis aguda y anemia con alta morbilidad especialmente en animales jóvenes (Kifleyohannes *et al.*, 2015). Este trematodo puede causar cuantiosas pérdidas económicas que se enmarcan en reducciones en la producción de lana, carne y leche.

Rangel-Ruiz, Albores-Brahms y Gamboa-Aguilar (2003) y Silva (2006) resaltan que se trata de una enfermedad emergente puesto que se conoce de su extensión. Este incremento puede ser debido a una sobreestimación de la prevalencia de *Fasciola hepatica* en regiones con geografía donde coexisten simultáneamente ambos trematodos. Así como, a la no disponibilidad de fármacos eficaces en el tratamiento de la paramfistomosis en nuestro medio (Pinedo *et al.*, 2010).

El diagnóstico clínico de *Paramphistomum* es muy difícil debido a la falta o parecido de signos con otras parasitosis. Los métodos inmunológicos y la detección de anticuerpos en el suero todavía no son concluyentes para el diagnóstico del parásito (Rieu *et al.*, 2007). Asimismo, el diagnóstico de este parásito se hace de forma rutinaria y consiste en la demostración de huevos en

las heces de los bóvidos infestados, con la técnica coprológica de sedimentación (Piña, 2013; Silva, 2006).

McMaster es una técnica muy utilizada en los laboratorios veterinarios ya que es posible variarla por el volumen de las heces a examinar (Bosco, 2014). Mini-Flotac es una nueva técnica de la familia de las FLOTAC (Godber *et al.*, 2015) y fue introducida en los últimos tiempos como una alternativa a McMaster (Cringoli *et al.*, 2010). Para nuestro conocimiento no existen informes del empleo de Mini-Flotac en el diagnóstico de *Paramphistomum* spp.

El diagnóstico de trematodos digeneos que existe en Cuba es escaso, a esto se le añade el hecho que existen pocos estudios específicos para el tratamiento y control de esta trematodiasis en rebaños bovinos afectados por este parásito en nuestro país (Vázquez *et al.*, 2015). Si tenemos en cuenta además que el método de diagnóstico usado en Cuba para la detección de huevos de trematodos es el de sedimentación simple, método coprológico cualitativo de baja fiabilidad, se hace necesario buscar métodos alternativos más fiables.

Por lo anteriormente expuesto en el trabajo nos proponemos como objetivo comparar el desempeño de las técnicas coprológicas McMaster y Mini- FLOTAC en el diagnóstico de *Paramphistomum* spp. de muestras provenientes de bovinos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para cumplir los objetivos del presente trabajo se realizaron dos experimentos. En el primero se evaluó la recuperación de huevos de *Paramphistomum* spp. en muestras de heces fecales con cantidades conocidas de huevos por gramos de heces, con el empleo de diferentes soluciones de flotación. En el segundo se tomaron muestras de heces fecales de bovinos destinados al sacrificio y bovinos provenientes de rebaños lecheros, para comparar las técnicas de McMaster y Mini-Flotac en el diagnóstico de *Paramphistomum* spp.

Toma de muestras

Las muestras de heces fecales de bovinos destinados al sacrificio se obtuvieron en el matadero sanitario Guanamaquilla del municipio de Camagüey, se tomaron un total de 40 muestras directamente del recto de los animales. Además, se tomaron muestras de heces, de 155 rebaños de vacas en ordeño, provenientes de la Empresa Pecuaria Triángulo 3 del municipio Camagüey. De cada rebaño se colectaron al azar heces de 20 vacas en ordeño y se unieron cantidades iguales en peso para formar la muestra del rebaño.

Todas las muestras fueron selladas en bolsas de polietileno, identificadas y refrigeradas. Posteriormente se trasladaron al Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Camagüey.

Colecta de huevos y preparación de muestras conocidas.

Directamente del rumen de los bovinos sacrificados se tomaron aproximadamente 15 *Paramphistomum* spp. adultos vivos. Se lavaron con NaCl al 0,9 % y se colocaron en vasos de precipitado de cristal de 400 mL, con solución de PBS 1X (KH₂PO₄ 1,8 mmol/L; Na₂HPO₄ 8,4 mmol/L; KCl 12,6 mmol/L y NaCl 136,8 mmol/L, pH 7,2).

Los trematodos se mantuvieron a temperatura ambiente durante su traslado al Laboratorio de Parasitología de la Universidad de Camagüey. Posteriormente se realizó un último lavado con PBS 1X para eliminar restos de sangre y contenido ruminal. Se incubaron en vaso precipitado con 100 mL de PBS 1X durante 4 horas a 37 °C para la ovoposición. Luego se retiraron los individuos, y los huevos se obtuvieron por decantación del sobrenadante, hasta un volumen final de 10 mL de solución de PBS 1X. El conteo de huevos se realizó con cinco réplicas de 100 µL.

Preparación de las muestras de heces con cantidades conocidas de huevos del tremado.

El contenido en el vaso precipitado con los huevos de *Paramphistomum* spp. se decantó hasta 5 mL y se volvió a realizar el conteo de huevos. La concentración de huevos se ajustó a 1000 hpg en heces (previamente esterilizadas en autoclave a 121 °C y 1 atm durante 15 minutos) libres de huevos del parásito. Se realizaron diferentes diluciones con heces libres de huevos para concentraciones conocidas de 5, 25, 125, 250, 500 y 1000 de hpg.

Comparación de soluciones de flotación para la detección de huevos de *Paramphistomum* spp.

Se tomaron tres gramos de heces de cada concentración conocida de hpg y se le añadieron 27 mL (dilución 1:10) de una de las siguientes soluciones de flotación: ZnSO₄ 1,45 g/mL, ZnCl₂ 1,45 g/mL, ZnCl₂ 1,5 g/mL y ZnCl₂ + Sacarosa 1,5 g/mL. Posteriormente se mezclaron y se filtraron en un tamiz 1 mm. La suspensión se homogenizó y se llenaron las cámaras de Mini-Flotac y McMaster. Las cámaras se dejaron reposar al menos por 10 minutos y se observaron al microscopio (10X) para el conteo de huevos. Los factores de dilución fueron de 5 para Mini-Flotac y 10 para McMaster. Se consideró como muestra positiva la que tuviera al menos un huevo de *Paramphistomum* spp.

Determinación de *Paramphistomum* spp. por conteo de hpg en bovinos destinados al sacrificio y rebaños lecheros.

A las 40 muestras de heces fecales de bovinos destinados al sacrificio, y las 155 de rebaños de vacas en ordeño, se les realizaron tres réplicas de cada una de las técnicas coprológicas en estudio, para un total de seis conteos por muestras. Se tomaron tres gramos de materia fecal de cada grupo por unidad o réplica de las heces de los animales sacrificados, y se diluyeron en 27 mL de solución saturada de sacarosa con ZnCl₂ con una densidad de 1,52 g/mL. Posteriormente, se desarrolló el procedimiento descrito en la sección anterior.

Análisis estadístico.

Se utilizó el paquete estadístico Graphpad Prism 7.0 (2016) para los análisis de regresión entre McMaster y Mini-Flotac, y de hpg conocido y observado. Para la comparación de los CV (%) se utilizó el ANOVA bifactorial, los factores estudiados fueron la técnica utilizada y la densidad. El valor de exactitud se obtuvo según el valor de recuperación de las pendientes de la regresión lineal entre el hpg conocido y el observado. El porcentaje de precisión para cada técnica se calculó por la sustracción al 100 por ciento del CV (%). La Sensibilidad, Especificidad, Valor Predictivo Negativo (VPN), Valor Predictivo Positivo (VPP) y la prevalencia se determinaron mediante el software online MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium.

RESULTADOS

Análisis de recuperación de huevos de *Paramphistomum* de muestras de heces

Las técnicas coprológicas como McMaster (McM) y Mini- FLOTAC (MF) mostraron una amplia gama de posibilidades para el diagnóstico de *Paramphistomum* spp. en bovinos a diferentes concentraciones de hpg (5, 25, 125, 250, 500 y 1000) y densidades (1,45 y 1,5 g/mL) como muestra la figura 1.

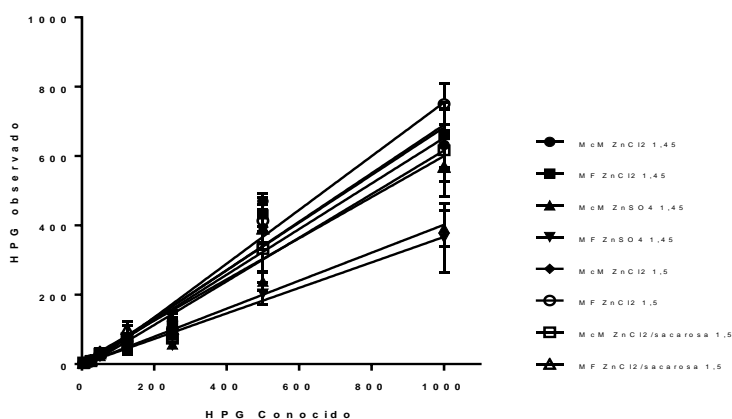


Figura 1. Determinación de huevos de *Paramphistomum* spp. en muestras de heces fecales con cantidades conocidas de huevos del parásito (hpg conocido, en el rango de 5- 1000). McM (McMaster), MF (Mini-FLOTAC).

Las pendientes indican similares valores de recuperación en las técnicas McMaster y Mini-Flotac. Sin embargo, las soluciones de $ZnSO_4$ en la densidad de 1,45 g/mL presentaron valores más bajos de recuperación con ambas cámaras, que el resto de las soluciones. Los porcentajes de recuperación de las soluciones de $ZnCl_2$ estuvieron entre el 59 y 70 % (Tabla 1).

Tabla 1. Ecuaciones que describen la detección de huevos de *Paramphistomum* spp. en heces con cantidades conocidas de huevos del parásito.

Desempeño de McMaster y Mini-Flotac en el diagnóstico de *Paramphistomum* spp. en bovinos

Solución de flotación	Densidad (g/mL)	Ecuación	R ²
McM ZnCl ₂	1,45	Y= 0,69*X - 3,81	0,94
MF ZnCl ₂	1,45	Y= 0,70*X - 8,15	0,97
McMZnSO ₄	1,45	Y= 0,40*X - 1,43	0,97
MF ZnSO ₄	1,45	Y= 0,37*X - 0,74	0,98
McM ZnCl ₂	1,50	Y= 0,66*X - 4,98	0,97
MF ZnCl ₂	1,50	Y= 0,77*X - 20,15	0,98
McM ZnSO ₄	1,50	Y= 0,69*X - 12,68	0,96
MF ZnSO ₄	1,50	Y = 0,59*x - 7,19	0,98

MF: Mini- FLOTAC, McM: McMaster Y= Cantidad de huevos por gramos de heces observados, X = cantidad de huevos por gramos de heces conocidos.

Los coeficientes de variación (CV) para las técnicas en estudio fueron similares (Tabla 2).

Tabla 2. Coeficiente de variación (CV) y precisión de McMaster y Mini- FLOTAC con diferentes soluciones de flotación.

Solución	Densidad (mg/mL)	CV (%)	Precisión (%)
McM ZnCl ₂	1,45	21,32	78,68
MF ZnCl ₂	1,45	22,02	77,98
McMZnSO ₄	1,45	16,93	83,07
MF ZnSO ₄	1,45	25,05	74,95
McM ZnCl ₂	1,50	21,72	78,28
MF ZnCl ₂	1,50	17,83	82,17
McM ZnSO ₄	1,50	25,83	74,62
MF ZnSO ₄	1,50	19,01	80,99

MF: Mini- FLOTAC, McM: McMaster.

Comparación

Los valores de hpg detectados por ambas técnicas presentaron relación lineal ($R^2 = 0,93$). La pendiente de la regresión mostró un valor de 1,36 lo que indica que Mini-Flotac logró detectar un 36 % más de huevos que McMaster (Figura 2).

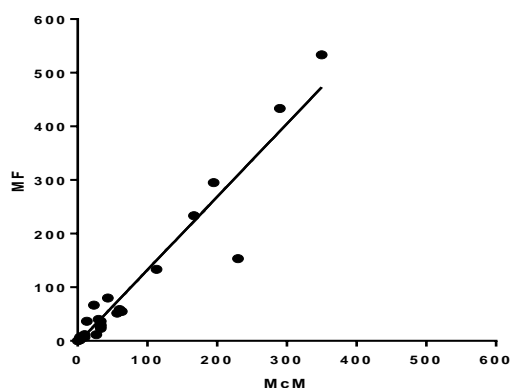


Figura 2. Detección de huevos por gramos de heces de *Paramphistomum* spp. con McMaster (McM-X) y Mini-FLOTAC (MF-Y) en la solución de flotación: ZnCl₂ (1,45 g/mL), MF = 1,36*McM - 4,11. R²=0,93 (n=40).

En la solución de flotación de $ZnCl_2$ y la densidad de 1,5 se encontraron valores similares para sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos en la detección de huevos de *Paramphistomum* spp. por ambos métodos (Tabla 3).

Tabla 3. Sensibilidad, especificidad y valores predictivos de la detección del conteo de huevos determinados con McMaster y Mini- FLOTAC.

	McMaster $ZnCl_2$ 1,50 g/mL	Mini- FLOTAC $ZnCl_2$ 1,50 g/mL
Sensibilidad	77,38% [66,95% -85,80%]	77,38% [66,95%- 85,80%]
Especificidad	91,67% [77,53%- 98,25%]	91,67% [77,53- 98,25%]
Valor Predictivo Negativo	63,46% [53,60%- 72,31%]	63,46% [53,60%- 73,61%]
Valor Predictivo Positivo	95,59% [53,60%- 98,47%]	95,59% [87,93%-98,47%]

[Intervalo de confianza 95 %]

La figura 3 representa el análisis de regresión lineal para las muestras provenientes de rebaños lecheros, la ecuación que lo describe es: $MF = 0,76*McM + 1,38$, ($R^2 = 0,71$). La pendiente indica que detectó Mini- FLOTAC un 24 % menos que McMaster.

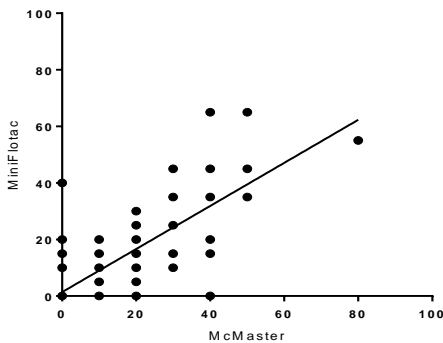


Figura 3. Detección de huevos de *Paramphistomum* spp. por gramos de heces bovinas (muestras de rebaños lecheros). McMaster (McM) y Mini-Flotac (MF), Solución de flotación $ZnCl_2$ (1,50 g/mL), $MF = 0,76*McM + 1,38$ ($R^2 = 0,71$) (n=155).

Los valores de prevalencia en la detección de huevos de *Paramphistomum* spp. para rebaños lecheros fue para McMaster 42,9 y para Mini- FLOTAC 43,5. Ambas técnicas coprológicas mostraron alta sensibilidad, aunque Mini-Flotac mostró una tendencia a mayor por ciento (91,1 %) comparada con McMaster (87 %). De igual forma el valor predictivo negativo fue superior en Mini-Flotac (91,9 %) que McMaster (88,7 %). No se detectaron falsos positivos en el análisis de las muestras (Tabla 4).

Tabla 4. Sensibilidad, especificidad y valores predictivos de la detección del conteo de huevos determinados con McMaster y Mini-FLOTAC de *Paramphistomum* spp. en muestras heces bovinas de rebaños lecheros.

	MacMaster	Mini- FLOTAC
Sensibilidad	86,99% [80,57% -91,51%]	91,1% [85,36%- 92,74%]
Especificidad	100% [97,49%- 100%]	100% [97,49- 100%]
Valor Predictivo Negativo	88,69% [83,01%- 92,64%]	91,98% [86,76%- 95,25%]
Valor Predictivo Positivo	100% [97,06%- 100%]	100% [97,19%-100%]

[Intervalo de confianza al 95 %]

DISCUSIÓN

Los estudios para evaluar la exactitud y precisión en la detección de huevos de parásitos en animales se basan en muestras de heces de individuos infestados natural o experimentalmente (Ojeda-Robertos *et al.*, 2014). Por esta razón el número real de huevos podría ser incorrecto. En nuestro trabajo las muestras se prepararon con un número conocido de huevos del parásito, lo que permitió determinar la verdadera precisión y exactitud de las técnicas en el diagnóstico de *Paramphistomum* spp. en bovino.

La exactitud en los conteos de huevos es imprescindible al evaluar el fenómeno de resistencia parasitaria frente a los antihelmínticos (Eysker y Ploeger, 2000). El incremento de la exactitud ayuda, además, a la predicción positiva en muestras con pocas cantidades de huevos, con menor variabilidad (Barda *et al.*, 2013; De Castro *et al.*, 2017). Métodos de conteo de huevos más exactos y precisos permiten obtener diagnósticos más fiables y evaluar mejor la efectividad de los tratamientos antiparasitarios.

En el presente trabajo ambas técnicas mostraron similares exactitud y precisión, con muestras conocidas de hpg, independientemente de la solución de flotación. Los bajos CV y alta precisión en McMaster pueden estar dados porque se empleó 10 como factor de dilución y las lecturas incluyeron toda el área de las cámaras. Se conoce que la exactitud y precisión en McMaster están directamente relacionada con el área de lectura (Cringoli *et al.*, 2004).

Existen evidencias de estudios que comparan las técnicas de Mini-Flotac y McMaster en el diagnóstico de huevos de nematodos en ganado bovino y helmintos en humanos (Bosco, 2014; Glinz *et al.*, 2010). Silva *et al.* (2013) detectaron que la exactitud de McMaster y Mini-FLOTAC son similares. Sin embargo, se reportan menores coeficientes de variación en Mini-Flotac comparado con McMaster, en la detección en parásitos gastrointestinales para equinos (Noel *et al.*, 2017).

La recuperación de huevos de *Paramphistomum* spp. en bovinos detectados en nuestro estudio con el uso de las técnicas McMaster y Mini-Flotac fueron similares a los reportados por Rinaldi *et al.* (2014). Los autores evaluaron estas técnicas en muestras de heces agrupadas de ovinos en la detección de huevos de strongylus gastrointestinales. Asimismo, nuestros resultados de recuperación de huevos de parásitos comparando ambas técnicas son superiores a los descritos en otros estudios (Noel *et al.*, 2017). Estudios similares en ovinos demostraron que Mini-Flotac resultó mejor en la detección de huevos de parásitos gastrointestinales en esta especie (Rinaldi *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2013).

La técnica McMaster es el método de diagnóstico coprológico más utilizado universalmente en parasitología veterinaria (Vadlejch *et al.*, 2011). En experimentos de comparación entre

McMaster y Mini- FLOTAC en el diagnóstico de huevos de *Eimeria* spp. en ovinos infestados de forma natural, Mini-Flotac proporcionó valores más altos de hpg ($P < 0,05$), que McMaster (Silva *et al.*, 2013). Los valores de hpg con Mini-Flotac obtenidos en nuestro estudio parecen un poco contradictorios, en el caso de las muestras de los bovinos a sacrificio fue mayor en Mini-Flotac; sin embargo, en muestras agrupadas de rebaños lecheros los conteos de McMaster fueron superiores. La densidad de la solución de flotación empleada, así como el tipo y/o consistencia de las heces pueden influir en el diagnóstico parasitológico (Cringoli *et al.*, 2010). Las muestras provenientes de los rebaños lecheros tuvieron menos carga parasitaria, atribuible a que fueron agrupadas, lo cual pudiera reducir la precisión del diagnóstico y similitud entre ambas técnicas.

Experimentos de comparación entre conteos fecales de huevos de nematodos gastrointestinales a través del empleo de McMaster y Mini-Flotac para equinos y bovinos muestran resultados de hpg similares en ambas técnicas. Sin embargo, los CV fueron significativamente más bajos para Mini-Flotac; por lo que los autores recomendaron esta técnica en animales con conteo fecales bajos (De Castro *et al.*, 2017). Las dificultades con los métodos coprológicos reclaman la necesidad de métodos más sensibles que permitan un diagnóstico más certero de la infestación de *Paramphistomum* en vacas y su impacto económico (Rieu *et al.*, 2007).

Existe un aumento del número de estudios sobre la prevalencia de *Paramphistomum* spp. debido a la reducción que ocasiona el parásito en la productividad ganadera. En el distrito de Moyabamba, Perú, las prevalencias del parásito fueron de un 55 % en rebaños lecheros (Rojas *et al.*, 2015). De igual manera, en Holanda detectaron prevalencias entre el 82,6 y el 83,3 % (Ploeger *et al.*, 2015), valores superiores a los detectados en el presente trabajo. La alta prevalencia de *Paramphistomum* spp. encontrada en nuestro estudio puede estar relacionada con la presencia de biotopos en las áreas de pasturas; además, todas las categorías de animales pastan juntas, sin embargo, es necesario realizar un estudio de riesgo que permita la toma de medidas en el control de la paramfistomosis.

CONCLUSIONES

Ambas técnicas coprológicas tienen alta precisión y recuperación en la detección de huevos de *Paramphistomum* spp. en heces de bovinos, lo que indica la aplicabilidad para el diagnóstico parasitológico.

REFERENCIAS

Barda, B. D., Rinaldi, L., Ianniello, D., Zepherine, H., Salvo, F., Sadutshang, T., ... & Albonico, M. (2013). Mini-FLOTAC, an innovative direct diagnostic technique for intestinal parasitic infections: experience from the field. *PLoS neglected tropical diseases*, 7(8). DOI: 10.1371/journal.pntd.0002344

- Bosco, A. (2014). *The coprological diagnosis of gastrointestinal nematode infections in small ruminants* (Doctoral dissertation, PhD Thesis. Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli, Italia). https://scholar.google.com/scholar?cluster=8947850278994057232&hl=es&as_sdt=0,5
- Cringoli, G., Rinaldi, L., Maurelli, M. P., & Utzinger, J. (2010). FLOTAC: new multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. *Nature protocols*, 5(3), 503-515. <https://www.unboundmedicine.com/medline/citation/20203667/FLOTAC: new multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans>
- Cringoli, G., Rinaldi, L., Veneziano, V., Capelli, G., & Scala, A. (2004). The influence of flotation solution, sample dilution and the choice of McMaster slide area (volume) on the reliability of the McMaster technique in estimating the faecal egg counts of gastrointestinal strongyles and *Dicrocoelium dendriticum* in sheep. *Veterinary parasitology*, 123(1-2), 121-131. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.05.021>
- De Castro, L. L. D., Abrahão, C. L., Buzatti, A., Molento, M. B., Bastianetto, E., Rodrigues, D. S., ... & de Almeida Borges, F. (2017). Comparison of McMaster and Mini-FLOTAC fecal egg counting techniques in cattle and horses. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 10, 132-135. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2017.10.003>
- Eysker, M., & Ploeger, H. W. (2000). Value of present diagnostic methods for gastrointestinal nematode infections in ruminants. *Parasitology*, 120(7), 109-119. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0031182099005752>
- Glinz, D., Silué, K. D., Knopp, S., Lohourignon, L. K., Yao, K. P., Steinmann, P., ... & Utzinger, J. (2010). Comparing diagnostic accuracy of Kato-Katz, Koga agar plate, ether-concentration, and FLOTAC for *Schistosoma mansoni* and soil-transmitted helminths. *PLoS neglected tropical diseases*, 4(7). <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20103244486>
- Godber, O. F., Phythian, C. J., Bosco, A., Ianniello, D., Coles, G., Rinaldi, L., & Cringoli, G. (2015). A comparison of the FECPAK and Mini-FLOTAC faecal egg counting techniques. *Veterinary parasitology*, 207(3-4), 342-345. <https://pubag.nal.usda.gov/catalog/5353178>
- Kifleyohannes, T., Kebede, E., Hagos, Y., Weldu, K., & Michael, M. G. (2015). Prevalence of Paramphistomosis in Ruminants in Ashenge, Tigray Ethiopia. *Acta Parasitologica Globalis*, 6(2), 83-86. https://scholar.google.com/scholar?cluster=11222483539226911862&hl=es&as_sdt=0,5

- Noel, M. L., Scare, J. A., Bellaw, J. L., & Nielsen, M. K. (2017). Accuracy and precision of mini-FLOTAC and McMaster techniques for determining equine strongyle egg counts. *Journal of Equine Veterinary Science*, 48, 182-187. DOI: 10.1016/j.jevs.2016.09.006
- Ojeda-Robertos, N. F., Medina-Reynes, A., Garduza-Arias, G., & Rangel-Ruiz, L. J. (2014). Dinámica de excreción de huevos de *Fasciola hepatica* y *Paramphistomum* spp en ganado bovino de Tabasco. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 1(1), 73-80. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S200790282014000100008&script=sci_arttext&tlng=en
- Pinedo, V., Chávez, V., Casas, A., Suárez, A., Sánchez, P., & Huamán, U. (2010). Prevalencia de trematodes de la familia Paramphistomatidae en bovinos del distrito de Yurimaguas, provincia de alto Amazonas, Loreto. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 21(2), 161-167. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172010000200003
- Piña, D., 2013. Paramphistomosis bovina. Título de Médico Veterinario Zootecnista. Universidad de Cuenca, Ecuador.
- Ploeger, F., Abalos, M., Birner, T., Konopka, P., Legras, B., Müller, R., & Riese, M. (2015). Quantifying the effects of mixing and residual circulation on trends of stratospheric mean age of air. *Geophysical Research Letters*, 42(6), 2047-2054. <https://ui.adsabs.harvard.edu/abs/2015EGUGA..17.7029P/abstract>
- Rangel-Ruiz, L. J., Albores-Brahms, S. T., & Gamboa-Aguilar, J. (2003). Seasonal trends of *Paramphistomum cervi* in Tabasco, Mexico. *Veterinary parasitology*, 116(3), 217-222. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2003.07.002>
- Rieu, E., Recca, A., Bénét, J. J., Saana, M., Dorchie, P., & Guillot, J. (2007). Reliability of coprological diagnosis of *Paramphistomum* sp. infection in cows. *Veterinary parasitology*, 146(3-4), 249-253. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.02.033>
- Rinaldi, L., Levecke, B., Bosco, A., Ianniello, D., Pepe, P., Charlier, J., ... & Vercruysse, J. (2014). 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. *Veterinary parasitology*, 205(1-2), 216-223. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.06.011>
- Rojas, K., Serrano-Martínez, E., Tantaleán, M., Casas, G. C., & Quispe, M. (2015). Presencia de *Cotylophoron* sp en Bovinos de la Provincia de Moyobamba, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 26(3), 519-524. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S160991172015000300019&script=sci_arttext&tlng=pt

- Silva, A. P. (2006). Parafistomosis bovina: enfermedad emergente en el área mediterránea. In *Veinte años de buiatría: actas del XIV Congreso Internacional de la Federación Mediterránea de Sanidad y Producción de Rumiantes, Lugo-Santiago de Compostela, 12-15 de julio de 2006* (pp. 19-23). Universidade de Santiago de Compostela. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2336346>
- Silva, L. M. R., Vila-Viçosa, M. J. M., Maurelli, M. P., Morgoglione, M. E., Cortes, H. C. E., Cringoli, G., & Rinaldi, L. (2013). Mini-FLOTAC for the diagnosis of Eimeria infection in goats: an alternative to McMaster. *Small ruminant research*, 114(2-3), 280-283. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2013.06.017>
- Vadlejch, J., Petrtýl, M., Zaichenko, I., Čadková, Z., Jankovská, I., Langrová, I., & Moravec, M. (2011). Which McMaster egg counting technique is the most reliable?. *Parasitology research*, 109(5), 1387-1394. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00436-011-2385>
- Vázquez, A. A., Sánchez, J., Alba, A., Pointier, J. P., & Hurtrez-Boussès, S. (2015). Natural prevalence in Cuban populations of the lymnaeid snail *Galba cubensis* infected with the liver fluke *Fasciola hepatica*: small values do matter. *Parasitology research*, 114(11), 4205-4210. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00436-015-4653-2>

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

La participación de los autores fue la siguiente: Concepción y diseño de la investigación: EC, MG y AA. Análisis e interpretación de los datos: EC, ZG, JM y AA. Redacción del artículo: EC, AD y AA

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existen conflicto de intereses.