

A eficácia de diferentes soluções saturadas empregando-se a técnica de Gordon & Whitlock modificada no diagnóstico coproparasitológico de galinhas domésticas*

The effectiveness of different saturated solutions using modified Gordon & Whitlock technique in coprological diagnostic of domestic fowls

Rodrigo Caldas Menezes,** Dalton Garcia de Mattos Júnior,*** Heloísa Helena Magalhães Soares Monteiro****

Resumo

As soluções saturadas de NaCl (d = 1,200), açúcar (d = 1,280) e de NaNO₃ (d = 1,260) foram comparadas pela técnica de Gordon & Whitlock modificada empregando-se um *pool* de fezes frescas de galinhas domésticas (*Gallus gallus*) criadas sob diversas condições com o objetivo de se conhecer a melhor solução na recuperação de ovos de helmintos e oocistos de coccídios. Foi utilizada análise estatística após três a quatro repetições de exame para cada solução saturada empregada, totalizando 165 exames realizados em 16 propriedades. Concluiu-se que houve diferença significativa entre os diferentes índices de recuperação de ovos encontrados pelas três soluções saturadas e que a solução de NaNO₃ foi a mais eficiente na recuperação de ovos de helmintos e oocistos de protozoários em fezes de aves.

Palavras-chave: diagnóstico; helmintos; *Gallus gallus*.

Introdução

A eimeriose e as helmintoses sempre estiveram entre as principais etiologias de doenças em aves no Brasil. Em 37 anos de pesquisas realizadas na Seção de Ornitopatologia do Instituto Biológico de São Paulo, foram examinadas 70.117 aves, onde constatou-se que essas moléstias ocupavam os primeiros postos de frequência (Mendes et al., 1976). Nos últimos anos, com a modernização das práticas de manejo em avicultura, principalmente com o emprego de sistemas de confinamento, houve uma significativa redução dos problemas causados pelas helmintoses (Ruff, 1991). A eimeriose, no entanto, continua a causar graves prejuízos (Nonaka et al., 1991). Porém, tem ocorrido no Brasil o desenvolvimento da criação de aves domésticas, ornamentais e silvestres, cujos sistemas de manejo e criação estão geralmente voltados para os métodos extensivo ou semi-intensivo. Esses sistemas de manejo favorecem a disseminação de doenças causadas por helmintos, determinando grandes perdas econômicas pela quebra de produtividade dos acometidos e no aumento da taxa de mortalidade.

As helmintoses gastrintestinais de aves ainda carecem de estudos, principalmente no que se refere à lacuna de co-

nhecimentos sobre as técnicas de diagnóstico dessas parasitoses (Reinecke, 1983). Várias técnicas coproparasitológicas são utilizadas (Colville, 1991), mas poucos experimentos foram realizados, não havendo padronização das mesmas no Brasil.

É de fundamental importância determinar os parasitas presentes, sem a necessidade de necropsia. Assim, o exame coproparasitológico elimina o sacrifício de aves para tal fim e direciona a escolha de apropriadas drogas antiparasitárias, às quais os parasitas presentes são sensíveis, evitando a seleção de resistência a esses medicamentos. Além disso, ao identificar potenciais fontes de infecção, ajudam a desenvolver um plano de prevenção para as aves individualmente e para o plantel (Greiner, 1994).

Para Greiner (1989), nas aves, geralmente não há correlação direta entre o número de ovos por gramas de fezes e o número de helmintos adultos presentes. Porém, segundo esse autor, comparando a contagem de ovos entre grupos de aves tratadas e não-tratadas, pode ser obtida informação sobre o efeito de um anti-helmíntico (Greiner, 1994). Voeten e Braunius (1981), em seus trabalhos, concluíram que a contagem de oocistos na cama de aves é um confiável indicador para avaliar o efeito de um

*O presente trabalho faz parte da monografia defendida pelo acadêmico na disciplina Estágio Curricular Supervisionado como requisito para obtenção do grau de Médico Veterinário.

**Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária - Bolsista do PIBIC/PROPP - UFF.

***Prof. Disciplina de Doenças Parasitárias do Departamento de Patologia e Clínica Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense (UFF), Rua Dr. Vital Brazil Filho 64, 24230-340 Niterói, RJ, Brasil.

****Médica Veterinária autônoma.

coccidiostático. De acordo com Stoll (1923), a principal finalidade de contagem de ovos por grama de fezes é a de medir o grau em que os hospedeiros estão contaminando o ambiente. É essa contaminação que é responsável pela manutenção da tensão de infestação desse ambiente (Rocha, 1971).

As técnicas quantitativas empregadas têm obtido baixa fidedignidade, havendo alto índice de resultados falsos positivos e de falsos negativos. Em inquérito parasitológico realizado em 29 pintos de mesma procedência e idade, foi feita tanto a contagem de ovos de *Syngamus trachea* por grama de fezes, como também dos helmintos adultos pertencentes a essa espécie. Através dos resultados obtidos conclui-se que cerca de 20% dos exames de fezes não foram fidedignos (Rocha, 1971). Em trabalhos de Lauzao et al. (1985), das três espécies de cestóides e uma de nematóide diagnosticadas por necropsia helmintológica em 1.050 galinhas, só o nematóide *Ascaridia galli* foi encontrado na análise coprológica utilizando-se método de flutuação. Por isso, segundo Nonaka et al. (1991), um método mais fidedigno é necessário para determinar o nível de contaminação da cama com ovos e oocistos, e, indiretamente, para avaliar o risco de infecção.

O objetivo do presente trabalho foi o de encontrar uma técnica quantitativa mais específica e fidedigna no diagnóstico coproparasitológico de aves realizando análise da eficácia de três diferentes soluções saturadas, com densidades preestabelecidas, utilizadas dentro da técnica de Gordon & Whitlock modificada segundo Ueno & Gonçalves (1994), na recuperação de ovos de helmintos e oocistos de coccídios em fezes de galinhas domésticas (*Gallus gallus*).

Material e métodos

No experimento foram utilizadas fezes frescas de galinhas domésticas (*Gallus gallus domesticus* L., 1758) pertencentes a diferentes faixas etárias e oriundas de 16 criações de quintal localizadas no Estado do Rio de Janeiro.

Um *pool* de fezes frescas, pesando em torno de 50g e pertencentes a cerca de 5 a 10 galinhas (*Gallus gallus domesticus*), era coletado do solo após a observação da defecação dos galináceos. O material era acondicionado adequadamente, etiquetado e enviado ao Laboratório de Doenças Parasitárias da Faculdade de Veterinária da UFF. Esse *pool* era homogeneizado, conservado sob refrigeração e examinado dentro de um prazo máximo de 48 horas. A quantidade de fezes utilizada por exame foi de 2g.

Na realização dos exames foi utilizada a técnica de Gordon & Whitlock segundo Ueno & Gonçalves (1994), sendo empregadas as seguintes soluções: solução saturada de açúcar de densidade igual a 1,280, solução saturada de NaCl de densidade 1,200 e solução saturada de NaNO_3 com densidade de 1,260 g/ml. Do mesmo *pool* de fezes fres-

cas coletadas eram realizadas de três a quatro repetições de exames para cada solução saturada empregada, totalizando de nove a 12 exames, respectivamente, por material obtido de cada uma das 16 propriedades visitadas. Foram processados 165 exames no total. Para verificar a significância estatística entre os diferentes índices de recuperação encontrados foi empregada a técnica de Análise de Variância (ANOVA) para dados não balanceados (Scheffé, 1959), onde foram consideradas as diferentes propriedades visitadas e o distinto número de repetições de exame por material obtido.

Resultados

A Tabela 1 demonstra as médias obtidas para cada solução e a eficácia das três soluções saturadas frente à recuperação de ovos de nematóides, cestóides e de oocistos de coccídios em 165 exames realizados, utilizando a técnica de Gordon & Whitlock modificada.

Tabela 1: Médias aritméticas e percentuais de ovos e oocistos/g de fezes recuperados pelas três diferentes soluções saturadas.

Parasitas	Sol. NaCl		Sol. Açúcar		Sol. NaNO_3	
	Média	%	Média	%	Média	%
Nematóides	424	25,8	500	30,4	720	43,8
Cestóides	78	36,4	27	12,7	109	50,8
Coccídios	334	34,4	224	22,9	414	42,6

* Média = média aritmética.

Do total de ovos de helmintos, 27% foram recuperados pela solução saturada de NaCl, 28,3% pela solução saturada de açúcar e 44,6% pela solução saturada de NaNO_3 .

Através dos resultados da Análise de Variância para dados não balanceados (Tabelas 2, 3 e 4), foi demonstrado que tanto as diferenças entre a quantidade de ovos de nematóides, cestóides como também de oocistos de coccídios recuperados mostraram-se estatisticamente significantes.

Tabela 2: Resultado da Análise de Variância para os ovos de nematóides recuperados pelas diferentes soluções saturadas

Fonte de Variação	GL	SQ tipo III	Quadrado Médio	Valor de F	Pr > F
Propriedade	15	92535439.4	6169029.3	95.57	0.0001
Solução	2	3025350.9	1512675.4	23.43	0.0001

Tabela 3: Resultado da Análise de Variância para os ovos de cestóides recuperados pelas diferentes soluções saturadas

Fonte de Variação	GL	SQ tipo III	Quadrado Médio	Valor de F	Pr > F
Propriedade	15	6157232.32	410482.15	45.5 ⁹	0.0001
Solução	2	141296.30	70648.15	7.85	0.0006

Tabela 4: Resultado da Análise de Variância para os oocistos de coccídios recuperados pelas diferentes soluções saturadas.

Fonte de Variação	GL	SQ tipo III	Quadrado Médio	Valor de F	Pr > F
Propriedade	15	50453456.8	3363563.8	55.32	0.0001
Solução	2	1132382.3	566191.1	9.31	0.0001

Diferentes tipos de ovos de helmintos foram encontradas em fezes de galinhas domésticas provenientes das 16 criações de quintal visitadas, localizadas no Estado do Rio de Janeiro. Os resultados, obtidos num total de 165 exames realizados, estão representados na Tabela 5 com as respectivas freqüências com que estes ovos foram recuperados.

Tabela 5: Percentuais dos diferentes tipos de ovos de helmintos encontrados no experimento

Ascarídeos	<i>Capillaria</i> spp	Cestóides	<i>Strongyloides</i> sp
68,88 %	18,10 %	11,54 %	1,47 %

Discussão

Os resultados obtidos com a utilização da solução saturada de NaNO_3 (500g / 1000 ml de água) confirmaram, em parte, as observações de Greiner (1994). Segundo esse autor, essa é a melhor solução saturada para a obtenção de ovos de cestóides, nematóides e também de acantocéfalos em fezes de aves, utilizando-se de métodos de flutuação. Para o preparo da solução, ele dilui 568g de nitrato de sódio em um litro de água, proporção semelhante à que foi empregada no experimento. Porém, com relação a oocistos de coccídios, ele afirma que a solução saturada de açúcar (500g de açúcar / 320 ml de água) é a melhor na obtenção dessas estruturas. Já de acordo com os resultados alcançados neste experimento, onde foi utilizada a técnica quantitativa de Gordon & Whitlock modificada, a solução saturada de açúcar de densidade igual a 1,280 g/ml (500g / 391 ml de água) não foi satisfatória quando comparada às outras duas utilizadas, na recuperação de oocistos de coccídios.

Farr & Luttermoser (1941), comparando a eficiência do sulfato de zinco (densidade 1,200 g/ml) e da solução de açúcar nas densidades de 1,200 e 1,270 g/ml na centrifugo flutuação de ovos de helmintos e de oocistos de coccídios em fezes de aves, concluíram que a solução de sulfato de zinco foi a mais eficiente na flutuação de oocistos. Entretanto, foi a que obteve piores resultados na recuperação de ovos de nematóides.

Para Honer (1992), a solução saturada utilizada dentro da técnica de Gordon & Whitlock é de grande importância. Fatores como densidade e temperatura ambiente influenciam no poder de flutuação do meio utilizado, contribuindo para uma maior ou menor contagem de ovos por grama de fezes. Também, segundo ele, a solução saturada empregada provavelmente exerce efeitos superficiais sobre os ovos, como a solvatação, influenciando na eficácia de recuperação. Isso explicaria por que, às vezes, um meio de densidade inferior tem um maior poder de flutuação do que um outro de densidade superior. Esse fato foi observado no presente experimento onde, por meio da utilização da solução saturada de nitrato de sódio, houve uma maior recuperação de ovos de helmintos e de oocistos de coccídios do que pela solução saturada de açúcar, de maior densidade.

Comparando os percentuais de ovos de helmintos recuperados de acordo com a Tabela 5, nota-se uma semelhança na freqüência com que esses ovos foram encontrados em pesquisas realizadas por outros autores. Mendes et al. (1976), no Brasil, trabalharam com a técnica de McMaster modificada, utilizando solução saturada de NaCl , e Nonaka et al. (1991), nos EUA, empregaram um método de centrifugo flutuação com solução saturada de açúcar (densidade 1,120 g/ml) em cama de galinhas domésticas. Nos resultados de ambos, assim como neste experimento, os ovos de helmintos mais freqüentemente encontrados foram os de ascarídeos (*Ascaridia* e/ou *Heterakis*), seguidos pelos de *Capillaria* spp, sendo que os ovos do gênero *Strongyloides* foram pouco recuperados. Discordando do trabalho de Mendes et al. (1976), a presente pesquisa não revelou ovos de espirurídeos, porém foram encontrados ovos de cestóides. Isso se deve possivelmente à ocorrência e freqüência desses parasitos, que foram diferentes nas duas situações.

Conclusões

- A solução saturada de NaNO_3 (d = 1,260 g/ml) demonstrou ser a mais eficiente e a mais indicada na recuperação de ovos de nematóides, cestóides e de oocistos de coccídios, sendo a mais recomendada para o diagnóstico coproparasitológico de aves, apesar de ter custo mais elevado.
- A solução saturada de açúcar (d = 1,280 g/ml) foi superior a de NaCl (d = 1,200 g/ml) na recuperação de ovos de helmintos de aves.
- A solução saturada de NaCl (d = 1,200 g/ml) nas presentes condições demonstrou ser a mais eficaz que a solução de açúcar na recuperação de oocistos de coccídios, sendo indicada quando não houver disponibilidade da solução de NaNO_3 .

Abstract

Saturated solutions of NaCl (sp gr 1.200), sugar (sp gr 1.280) and NaNO₃ (sp gr 1.260) were compared by the modified Gordon & Whitlock technique using a pool of domestic fowl faeces intending to find out which is the best in recovering helminth eggs and oocysts. Statistical analysis was used after 3 to 4 examinations for each saturated solution, totalizing 165 examinations done in 16 farms. As a conclusion it was noticed that there was statistical significance between the different recovering rates found by the three saturated solutions and that the NaNO₃ solution was the most effective in recovering helminth eggs and protozoan oocysts in fowl feces.

Keywords: diagnostic; helminths; *Gallus gallus*.

Referências bibliográficas

- COLVILLE, J. *Diagnostic Parasitology for Veterinary Technicians*. Amer. Vet. Publ., Inc, 266 p., 1991.
- FARR, M. M. & LUTTERMOSER, G.W. Comparative efficiency of zinc sulfate and sugar solution for the simultaneous flotation of coccidial oocysts and helminth eggs. *The Journal of Parasitology*, n. 27, p. 417-424, 1941.
- GREINER, E. C. Parasite diagnosis by fecal examination. *Journal Association of Avian Veterinarians*, v. 3, n. 2, p. 69-72, 1989.
- GREINER, E. C., RITCHIE, B. W. Parasities, p. 1008-1028. In GJ Harrison, BW Ritchie, LR Harrison. *Avian Medicine: principles and application*, Wingers Publishing, Inc, EUA, 1994.
- HONER, M. R. Métodos de diagnóstico-fidedignidade das técnicas empregadas, p. 121-129. In III SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA, *Anais*, Camboriú, 1982.
- LAUZAO, Z., BARAK, G., MONTERO, D., C ANA CRUZ. Efectividad de las pruebas coprológicas en el diagnóstico helmintológico de la gallina doméstica. *Rev. Cub. Cienc. Vet.*, v. 16, n. 2, p. 153-155, 1985.
- MENDES, M. F. M., WOELZ, C. R., ABDALLA, S. I. Investigaçã copro-parasitológica em aves (*Gallus gallus* L., 1758), naturalmente infestadas na região de Campo Florido, Minas Gerais, Brasil. *Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, v. 13, n. 1, p. 213-217, 1976.
- NONAKA, N., DONOGHUE, A. R., MANZONI, A. M. et al. A survey of helminth parasites in backyard flocks in Michigan by litter examination. *Avian Diseases* n. 35, p. 554-558, 1991.
- REINECK, R. K. *Veterinary Helminthology*. Buttework Publ., Pretoria & Durban, 350 p., 1983.
- ROCHA, U. F. Alguns aspectos populacionais das endoparasitoses de aves, p.149-163. In JR July, JC Panetta, JA Bottino, *Atualização em Avicultura e Ornitopatologia*, Verbo Divino, São Paulo, 213 p., 1971.
- RUFF, M. D. Nematodes and acantocephalans, p.731-763. In HJ Barnes, W. M., Reid et al., *Diseases of Poultry*, 9. ed. Iowa State University Press, EUA, 1991.
- SHEFFÉ, H. *The Analysis of Variance*. John Wiley and Sons Inc, New York, 350 p., 1959.
- STOLL, N. R. Investigations on the control of hookworm disease, XVIII. The relation between the number of the eggs found in human feces and the number of hookworm in the host. *Am. J. Hyg*, v. 3, n. 2, p. 156-179, 1923.
- UENO, H. & GONÇALVES, P. C. *Manual para Diagnóstico das Helmintoses de Ruminantes*. JICA, Tokyo, 165 p., 1994.
- VOETEN, A. C., BRAUNIUS, W. W. Subclinical coccidiosis in broilers. A comparative investigation of detection methods. *Arch. Geflueglkd* n. 45, p. 189-193, 1981.