



**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE VETERINARIA**

**¿LAS SOLUCIONES DE NA<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> Y NA<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> + AZÚCAR MODIFICAN LOS RESULTADOS  
Y GÉNEROS DIAGNOSTICADOS POR LA TÉCNICA DE MC. MASTER?**

por

**PACCE COLOM, Juan Matías  
SILVA SOLDINI, Paula Inés**

TESIS DE GRADO presentada como uno  
de los requisitos para obtener el título de Doctor en  
Ciencias Veterinarias  
Orientación: Medicina y Tecnología

MODALIDAD: Ensayo experimental

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2023**

**PÁGINA DE APROBACIÓN:**

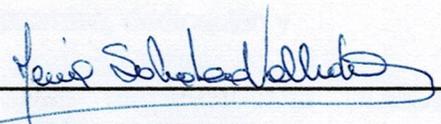
**Tesis de grado aprobada por:**

**Presidente de mesa:**



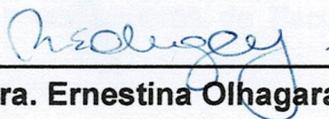
**Prof. Óscar Correa**

**Segundo miembro (Tutor):**



**Dra. María Soledad Valledor**

**Tercer miembro:**



**Dra. Ernestina Olhagaray**

**Fecha:** Miércoles 6 de Marzo de 2024.

**Autores:**



**PACCE COLOM, Juan Matías**



**SILVA SOLDINI, Paula Inés**

### **AGRADECIMIENTOS:**

- Agradecemos a nuestros familiares, por el apoyo incondicional y la motivación durante toda la carrera.
- A nuestra tutora Soledad Valledor por su compromiso, dedicación y responsabilidad.
- Al Laboratorio de Parasitología de Facultad de Veterinaria UDELAR, especialmente a Oscar Correa por la ayuda en cada práctica.
- A los funcionarios de biblioteca por la ayuda con la búsqueda de materiales y corrección de bibliografía.
- Por último, a nuestros amigos, amigas y compañeros de Facultad, por los momentos compartidos todos estos años.

## **TABLA DE CONTENIDO:**

PÁGINA DE APROBACIÓN:	2
AGRADECIMIENTOS:	3
TABLA DE CONTENIDO:	4
LISTA DE FIGURAS Y TABLAS	5
ABREVIATURAS	7
RESUMEN:	8
SUMMARY:	9
INTRODUCCIÓN	10
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	11
NGI más frecuentes en Uruguay	11
Ciclo biológico de parásitos gastrointestinales	13
Inmunidad en bovinos	14
Inmunidad en ovinos	14
Impacto productivo y control de los NGI	15
Técnicas diagnósticas	18
Técnica de conteo de huevos: Mc Master	21
HIPÓTESIS:	25
OBJETIVO GENERAL:	25
OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	25
MATERIALES Y MÉTODOS:	26
Diseño experimental:	26
Análisis estadístico:	28
RESULTADOS:	29
DISCUSIÓN	35
CONCLUSIONES:	37
BIBLIOGRAFÍA:	38

## **LISTA DE FIGURAS Y TABLAS**

Figura 1: Presentación estacional (aproximada) de los NGI de ovinos en el Uruguay.....	pág. 10
Figura 2: Distribución relativa de géneros de NGI en ovinos.....	pág. 11
Figura 3: Distribución relativa de géneros de NGI en bovinos.....	pág. 11
Figura 4: Ciclo de los NGI que parasitan ovinos y bovinos.....	pág. 12
Figura 5: Modelo conceptual del desarrollo de inmunidad en el bovino para los diferentes géneros de parásitos.....	pág. 13
Figura 6: Modelo conceptual del desarrollo de inmunidad en el ovino para los diferentes géneros de parásitos.....	pág. 14
Figura 7: Tipos de huevos de helmintos.....	pág. 16
Figura 8: Cámaras de conteo de huevos de helmintos.....	pág. 21
Figura 9: Pesaje en balanza digital de los 2 gr. de materia fecal de ovino.....	pág. 25
Figura 10: Homogenización de muestras junto con la solución.....	pág. 26
Figura 11: Muestras cargadas en compartimientos de Cámara de MM.....	pág. 26
Figura 12: Observación al microscopio.....	pág. 27
Figura 13: Resultado HPG de ambas soluciones graficados.....	pág. 30
Figura 14: Resultado HPG de ambas soluciones sin las muestras 10 a 21.....	pág. 33
Tabla I: Parámetros de comparación de las tres modificaciones seleccionadas de la técnica de conteo de MM.....	pág. 22
Tabla II: HPG de las 150 muestras para cada solución utilizada (sal y azúcar)...	pág. 29
Tabla III: Hallazgo con la solución de azúcar de otros huevos de diferentes géneros no incluidos en el HPG.....	pág. 29
Tabla IV: Datos sin normalizar.....	pág. 30
Tabla V: Datos con logaritmo.....	pág. 31
Tabla VI: Diferencias entre las soluciones.....	pág. 31
Tabla VII: Datos sin normalizar eliminando las muestras 10 a 21.....	pág. 33

Tabla VIII: Diferencias estadísticas entre las dos soluciones.....pág. 33

## **ABREVIATURAS**

AH: ANTIHELMÍNTICOS

CIP: CONTROL INTEGRADO DE PLAGAS

ETC: TÉCNICAS DE CONTEO DE HUEVOS

HPG: RECUENTO DE HUEVOS POR GRAMO

MM: MC. MASTER

NGI: NEMATODOS GASTROINTESTINALES

OPG: OOQUISTES POR GRAMO

PV: PESO VIVO

RA: RESISTENCIA ANTIHELMÍNTICA

TCC: TÉCNICA DE MCMASTER CLÁSICA MODIFICADA

TCI: TÉCNICA DE MCMASTER MODIFICADA EMPLEANDO LA CÁMARA DE INTA

## **RESUMEN:**

La ganadería en el Uruguay ocupa un rol preponderante, presentando las condiciones ideales para la producción. Las enfermedades parasitarias en los diferentes sistemas de producción pueden ser significativamente diferentes, sobre todo cuando modificamos el nivel de alimentación, el componente de categorías jóvenes, la dotación animal y relación bovino-ovino. Generando importantes pérdidas de la productividad, afectando en diversos aspectos como la depresión del apetito, cambios en las funciones gastrointestinales y alteraciones en el metabolismo proteico. Impactando en la economía de los establecimientos ganaderos por un aumento de los insumos (antihelmínticos y mano de obra) o por pérdidas productivas (mortalidad, disminución de peso vivo y de la producción de lana). Los programas de control tienen como objetivo reducir el número de tratamientos antihelmínticos, disminuyendo así la exposición del parásito al fármaco. Por esto, el desarrollo de métodos cuantitativos para determinar huevos por gramo, constituyó un importante avance en la estimación indirecta de las cargas parasitarias, es la unidad de medida utilizada en la técnica de Mc Master, la que nos permite conocer la cantidad de huevos de nematodos gastrointestinales en una unidad determinada de peso (gramos), considerándose una medida cuantitativa del nivel de infección en las ovejas. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la influencia de las soluciones de NaCl (cloruro de sodio) y NaCl + azúcar en los resultados de la técnica de Mc. Master. Se demostró que la solución de NaCl recupera más huevos que la de NaCl + Azúcar. Sin embargo, ésta última nos permite obtener géneros que la primera no. Por lo tanto, podemos concluir que la solución de NaCl, sigue siendo la que con seguridad seguiremos usando en los futuros diagnósticos, es económica y de fácil realización.

## **SUMMARY:**

Livestock farming in Uruguay occupies a predominant role, presenting ideal conditions for production. Parasitic diseases in different production systems can be significantly different, especially when we modify the level of feeding, the component of young categories, the animal complement and the cattle-sheep ratio. Generating significant losses in productivity, affecting various aspects such as depression of appetite, changes in gastrointestinal functions and alterations in protein metabolism. Impacting the economy of livestock establishments due to an increase in inputs (anthelmintics and labor) or due to productive losses (mortality, decrease in live weight and wool production). Control programs aim to reduce the number of anthelmintic treatments, thus reducing the exposure of the parasite to the drug. For this reason, the development of quantitative methods to determine eggs per gram constituted an important advance in the indirect estimation of parasite loads. It is the unit of measurement used in the Mc Master technique, which allows us to know the number of eggs of gastrointestinal nematodes in a given unit of weight (grams), considered a quantitative measure of the level of infection in sheep. The present study aimed to evaluate the influence of NaCl (salt) and NaCl + sugar solutions on the results of the Mc technique. Master. It was shown that the NaCl solution recovers more eggs than the NaCl + Sugar solution. However, the latter allows us to obtain genres that the former does not. Therefore, we can conclude that the NaCl solution continues to be the one that we will surely continue to use in future diagnoses, it is economical and easy to perform.

## **INTRODUCCIÓN**

Fox en el 1997 indica que las infecciones por nematodos gastrointestinales (NGI) en animales de producción, principalmente los rumiantes domésticos, representan una importante causa de pérdidas de la productividad en sistemas pastoriles de las regiones tropicales y subtropicales. Dichas pérdidas se centran en la fisiopatología de los NGI, quienes los afectan en diversos aspectos como la depresión del apetito, cambios en las funciones gastrointestinales y alteraciones en el metabolismo proteico (Sandoval, Morales, Ybarra, Barrios y Borges, 2011).

El parasitismo gastrointestinal en rumiantes representa una importante limitante del crecimiento, reproducción y supervivencia en animales susceptibles (Sandoval et al. 2011).

Desde 1611 hasta el día de hoy, la ganadería ocupa un rol preponderante en el Uruguay. El clima, la topografía, las pasturas y las aguadas naturales conforman un conjunto de condiciones propicias para la ganadería, que históricamente han sido el motor de la economía uruguaya (Fiel y Nari, 2013).

Uruguay es el único país de América del Sur que se encuentra enteramente en clima templado, presentando las 4 estaciones del año bien diferenciadas y una temperatura media de 17, 5° C. La humedad relativa alcanza valores de 70-75% y la precipitación anual acumulada es de 1400 mm. en el norte y 1100 mm. en el sur. A pesar de que existen diferencias significativas del comportamiento climático entre años, los sistemas de producción son en su gran mayoría pastoriles, donde la base forrajera es fundamentalmente de pasturas nativas, mejoramiento (praderas y coberturas) y el pastoreo es mixto (vacunos y ovinos juntos) (Castells, 2004).

En Uruguay, el pastoreo sobre el campo nativo generalmente es continuo, con escasos periodos de descanso en el año, mientras que en los mejoramientos intensivos (praderas), el pastoreo es rotativo, con importantes períodos de descanso durante el año, sobre todo tendientes a la recuperación de las especies forrajeras (Fiel y Nari, 2013).

Sin embargo, estas características generales se combinan de diferentes maneras y dan como resultado distintas orientaciones de los sistemas de cría, ciclo completo o invernada, de la relación ovino-bovino y del porcentaje de mejoramiento de pastura (Fiel y Nari, 2013).

El nivel de riesgo epidemiológico para las enfermedades parasitarias en los diferentes sistemas de producción puede ser significativamente diferente, sobre todo cuando modificamos el nivel de alimentación, el componente de categorías jóvenes, la dotación animal y relación bovino-ovino (Fiel y Nari, 2013).

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Los sistemas de producción, determinan la presencia de diversas enfermedades, entre las que se encuentran las parasitosis internas por NGI (Castells, 2004).

Los trichostrongylideos son nematodos del tracto gastrointestinal de los rumiantes, lagomorfos, aves, ungulados y roedores. Dentro de la familia Trichostrongylidae, se encuentran los NGI del abomaso e intestinos de los rumiantes, que causan las gastroenteritis verminosas, siendo los parásitos internos más comunes e importantes que afectan a los animales de producción (Cerutti, 2017).

### **NGI más frecuentes en Uruguay**

Como se muestra en la Figura 1, los géneros de nematodos de los ovinos del Uruguay, aparecen con diferente frecuencia a lo largo del año, dependiendo fundamentalmente de las condiciones climáticas (Castells, 2004).

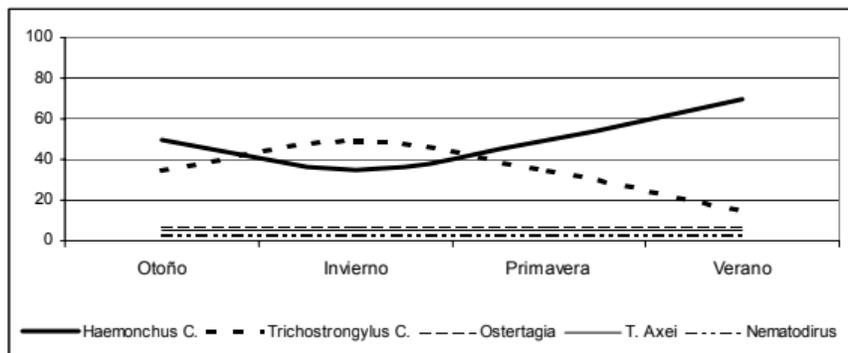


Figura 1: Presentación estacional (aproximada) de los NGI de ovinos en el Uruguay. Adaptado de Nari et al. 1986. (Fiel y Nari, 2013).

Haemonchus contortus y Trichostrongylus colubriformis son las especies de NGI más frecuentes y Trichostrongylus axei, Nematodirus sphatinger, Cooperia spp. y Ostertagia circumscripta son las menos frecuentes encontradas en los ovinos según un estudio del SUL, DILAVE, INIA, Facultad de Veterinaria y Facultad de Agronomía, realizado entre otoño de 2007 y otoño 2009, como se muestra en la figura 2 (Fiel y Nari, 2013).

## DISTRIBUCIÓN RELATIVA DE GENEROS DE NGI EN OVINOS

■ *Haemonchus contortus*    ■ *Trichostrongylus spp.*    ■ *Trichostrongylus axei*  
■ *Nematodirus spp.*    ■ *Ostertagia spp.*    ■ *Otros*

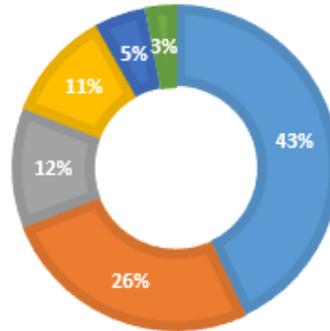


Figura 2: Prevalencia de géneros de nematodos adultos promedialmente encontrados en corderos rastreadores del Uruguay (Nari, A. et al, 1977). Adaptado de Fiel y Nari, 2013.

En los bovinos los géneros más frecuentes son *Cooperia* sp. con mayor prevalencia en invierno y *Ostertagia* spp. en primavera/verano; los géneros con menor importancia fueron: *Haemonchus* spp. en verano/otoño, *Trichostrongylus* sp en invierno/primavera y *Oesofagostomum* sp. verano/otoño, en estudios realizados por DILAVE y Facultad de Veterinaria entre 1982 y 1984 (Figura 3;Fiel y Nari, 2013).

## DISTRIBUCIÓN RELATIVA DE GENEROS DE NGI EN BOVINOS

■ *Cooperia* spp.    ■ *Ostertagia ostertagi*    ■ *Haemonchus placei*  
■ *Trichostrongylus* spp.    ■ *Oesophagostomum* spp.

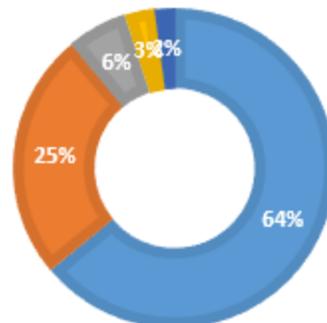


Figura 3: Distribución relativa de géneros de NGI en bovinos, reportados por Nari et al., 1977. Adaptado de Fiel y Nari, 2013.

De todas maneras, esta presentación estacional es solo orientativa, ya que una de las características más salientes del clima uruguayo es su irregularidad (Castells, 2004).

### Ciclo biológico de parásitos gastrointestinales

Los NGI presentan un ciclo biológico simple, directo, con una fase parasitaria sobre el hospedero y otra no parasitaria, de vida libre en la pastura (Castells, 2004); ésta última influenciada por las condiciones medioambientales. El animal parasitado aloja los NGI adultos en el tracto gastrointestinal, donde machos y hembras copulan y dan comienzo a la oviposición, eliminando los huevos mezclados con las materias fecales, contaminando el ambiente. En el exterior con condiciones de humedad alta (80-90%) y temperaturas medias (alrededor de 20 - 25°C), eclosiona la larva, pasando por tres etapas consecutivas (L1, L2 y L3) (Castells, 2004), con una duración de 12 a 15 días. Las L3 migran y se dispersan en la pastura gracias a la acción de las lluvias y pisoteo animal, éstas son infectivas para un nuevo hospedero y una vez ingerida en rumen o abomaso pierden la vaina que las protege y continúan su desarrollo hasta llegar a adultos (Cerutti, 2017). Ya en el interior de este, muda a L4 y luego madura a macho o hembra adulto (L5) que copulan para que la hembra cierre el ciclo con una nueva postura (Castells, 2004). Existen diferencias sutiles en la morfología de éstos huevos de NGI, a excepción de *Nematodirus* spp., es imposible diferenciar género y especie de ellos (Figura 4; Cerutti, 2017).

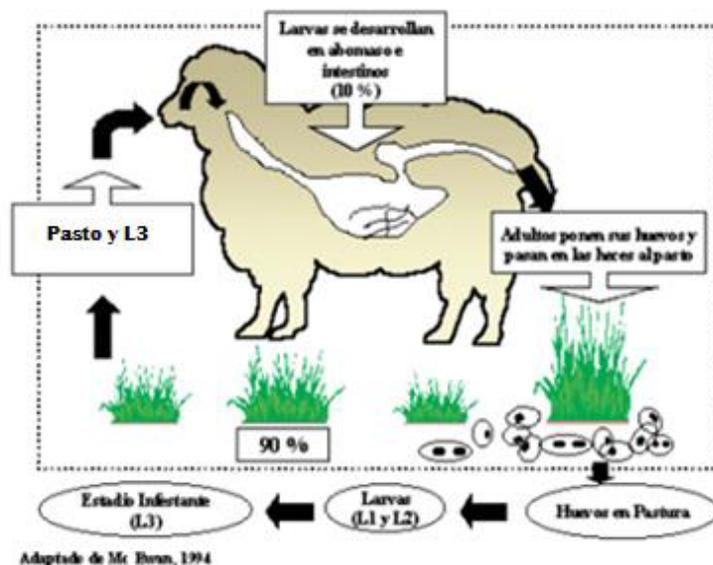


Figura 4: Ciclo de los NGI que parasitan ovinos y bovinos (Bonino y Mederos, 2003).

El ciclo en condiciones ideales dura entre 20 a 25 días, pero en realidad dependiendo del clima y del contacto huésped-parásito este ciclo se puede prolongar a un año o más (Castells, 2004).

## Inmunidad en bovinos

Nari y Risso en 1994 indican que el desarrollo de la inmunidad de los bovinos presenta diferencias de acuerdo con la especie considerada. En el caso de *Cooperia* spp y *Haemonchus placei* la inmunidad se establece al año de edad, mientras que para *Ostertagia* spp. y *Oesophagostomum* spp. ocurre cerca de los dos años de edad, como se demuestra en la figura 5 (Fiel y Nari, 2013).

En los estudios de Nari y Risso del 1994 se compararon los recuentos de huevos por gramo de materia fecal (HPG) de terneros nacidos en una parición extendida durante 4 meses. Los terneros nacidos en los últimos dos meses (cola de parición) mostraron niveles superiores de HPG que los nacidos en los dos primeros meses (cabeza de parición) (Fiel y Nari, 2013).

La inmunidad natural frente a los NGI en bovinos se completa a los dos años (Fiel y Nari, 2013).

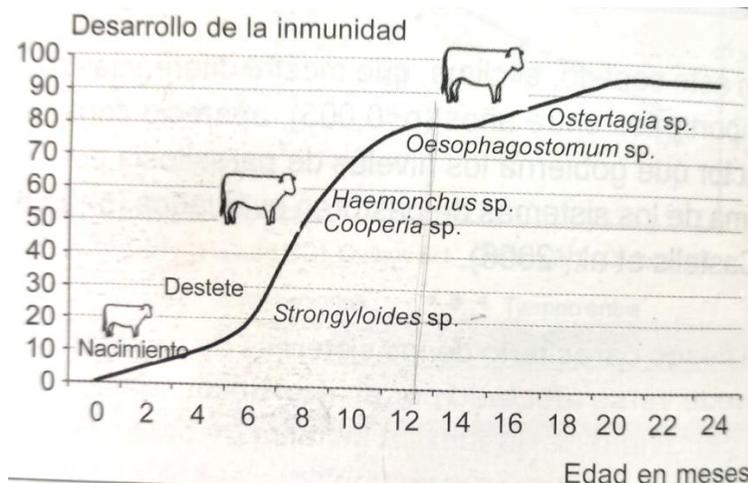


Figura 5: Modelo conceptual del desarrollo de inmunidad en el bovino para los diferentes géneros de parásitos. Extraído de Fiel y Nari (2013). (Basado en Armour, 1980; Nari y Risso, 1994).

## Inmunidad en ovinos

En la figura 6 vemos que *Trichostrongylus* spp. genera inmunidad adquirida y específica más rápidamente que *Haemonchus contortus* en los corderos que generalmente no eliminan su primera infección (Mc Clure, 2000). En trabajos se muestra claramente una baja heredabilidad a temprana edad y un aumento de esta a medida que transcurre el tiempo (Fiel y Nari, 2013).

El desarrollo de la inmunidad dependerá de factores genéticos y ambientales. La resistencia genética del ovino tiene una base inmunitaria y la heredabilidad de esta

característica (medida a través de HPG) es de 0,21 +/- 0,02 (Castells, 2008). Dentro de los factores ambientales, la edad, el plano nutricional, el nivel y la frecuencia de los desafíos son elementos que afectan la respuesta (Fiel y Nari, 2013).

Las ovejas adultas presentan un nivel razonable de inmunidad que les permite desempeñarse productivamente sin necesidad de tomar medidas, sin embargo, en el período próximo y sobre todo inmediato posterior al parto se produce un debilitamiento de la inmunidad en ellas, manifestándose como un aumento significativo en el HPG, debido a un aumento de parásitos adultos en la luz gastrointestinal, conociéndose como alza de lactación (Nari et al. en 1977; Castells y Bonino en 2001). Estudios han demostrado que más que los cambios hormonales asociados al parto y la lactancia, los que determinan la caída de la inmunidad son los niveles de energía-proteína, ya que los requerimientos aumentan dos a tres veces en ese período (Fiel y Nari, 2013).

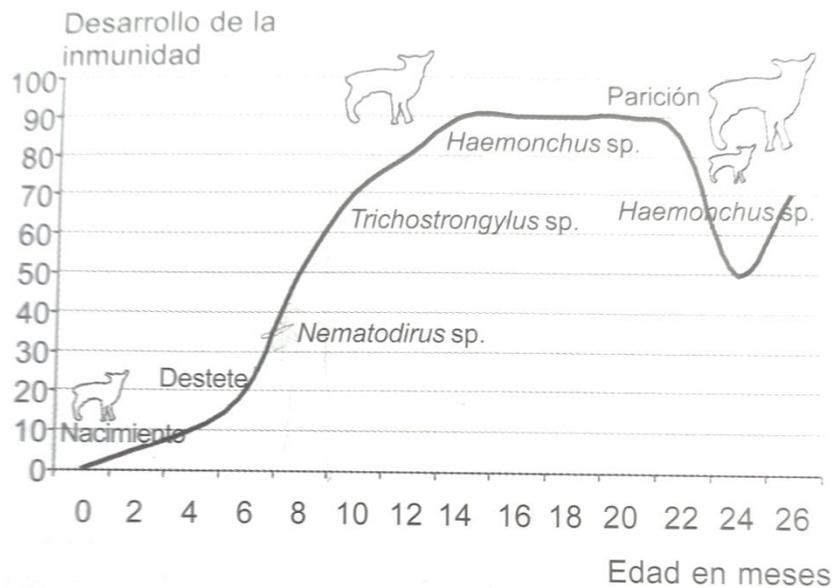


Figura 6: Modelo conceptual del desarrollo de inmunidad en el ovino para los diferentes géneros de parásitos. Extraído de Fiel y Nari, 2013. (Basado en W. Heine (com.pers); Armour, 1980; Nari y Risso, 1944).

### Impacto productivo y control de los NGI

Los NGI impactan en la economía de los establecimientos ganaderos a través de 2 vías, por un aumento de los insumos (antihelmínticos y mano de obra) o por pérdidas productivas (mortalidad, disminución de peso vivo (PV) y de la producción de lana) (Fiel y Nari, 2013).

Las pérdidas a nivel nacional son difíciles de estimar y pueden cambiar sustancialmente en breves períodos. Sin un buen control de los NGI en bovinos luego del destete, puede afectarse la evolución del PV en un 15% y comprometerse la reproducción (Fiel y Nari, 2013).

El impacto potencial directo de los NGI sobre categorías jóvenes de rumiantes, puede alcanzar hasta un 50% de mortandad, afectar en un 23,6% la evolución del PV, reducir en un 29,4% la producción de lana y dejar efectos permanentes de hasta un 8% en la ganancia del PV (Fiel y Nari, 2013).

El control de los NGI apunta a reducir al máximo el impacto productivo/económico. El uso de antihelmínticos (AH) sin criterios terapéuticos, farmacológicos, epidemiológicos entre otros, conduce al fracaso. Depender de un solo método de control ha demostrado no ser sustentable, por el desarrollo creciente de resistencia antihelmíntica (RA) (Castells, 2004).

El uso racional de los AH es fundamental en este control, no solo como estrategia para mantener su efectividad a lo largo del tiempo, sino como forma de preservar las características que distinguen a nuestra carne en el mundo (Saravia, 2008). El uso incorrecto y continuo de las drogas antihelmínticas ha generado a nivel mundial graves problemas de resistencia de los parásitos a las mismas (Bonino y Mederos, 2003).

La administración frecuente o inadecuada de antihelmínticos para tratar la infección por NGI ha contribuido a la evolución de la RA en la mayoría de las poblaciones de parásitos, lo que hace que estos tratamientos sean ineficaces (Boareki et al., 2021; Emery et al., 2016).

FAO define la RA como la habilidad de una población de parásitos, para tolerar dosis de tóxicos que serían letales para la mayoría de individuos en una población normal (susceptible) de la misma especie (Bonino y Mederos, 2003; Stone, 1972).

Los productores de ganado utilizan AH como medio principal para controlar los NGI en sus majadas, sin embargo, la creciente prevalencia de RA a estos fármacos requiere la modificación de las estrategias de tratamiento para que los AH se utilicen de forma más consciente (Paras, George, Vidyashankar, Kaplan, 2018; Leathwick y Besier, 2014; Kaplan y Vidyashankar, 2012).

Es por esto, que el control integrado (CIP) aplica nuevos métodos que las investigaciones van demostrando ser útiles para el control de los NGI (Castells, 2004). El CIP integra para dicho control, la interrelación de: productos químicos (drogas antihelmínticas de amplio y de reducido espectro); manejo del pastoreo; resistencia genética y biológicos (Bonino y Mederos, 2003). Todos estos programas de control de parásitos basados en la vigilancia tienen como objetivo reducir el número de tratamientos AH administrados en el transcurso de un año, disminuyendo así la exposición del parásito al fármaco y ayudando a retrasar el inevitable desarrollo de RA (Cain et al., 2021; Kaplan y Nielsen 2010).

El productor agropecuario y la profesión veterinaria en sus distintos ámbitos de acción deberán ser actores fundamentales para evitar que la RA siga progresando y se transforme en una restricción de nuestra producción ovina (Bonino y Mederos, 2003).

Según Cain et al. en el año 2021 y Kaplan y Vidyashankar en el 2012 indican que las pruebas diagnósticas de NGI son cada vez más importantes a medida que aumenta la RA en muchos parásitos de importancia veterinaria.

La intensidad de infección estimada con el HPG en el huésped vivo proporciona información valiosa que puede usarse para evaluar la eficacia AH (Das, Klausera, Stehra, Tuchschererb, Metges, 2020; Wongrak et al., 2015; Lester y Matthews, 2014; Kaufmann, et al., 2011; Permin et al., 2001) y para tomar decisiones de tratamientos de AH específicos (Paras et al., 2018).

En la figura 7 se demuestra que existen, como indicamos previamente, diferencias sutiles en la morfología de los huevos de los NGI que producen las gastroenteritis verminosas (Cerutti, 2017).

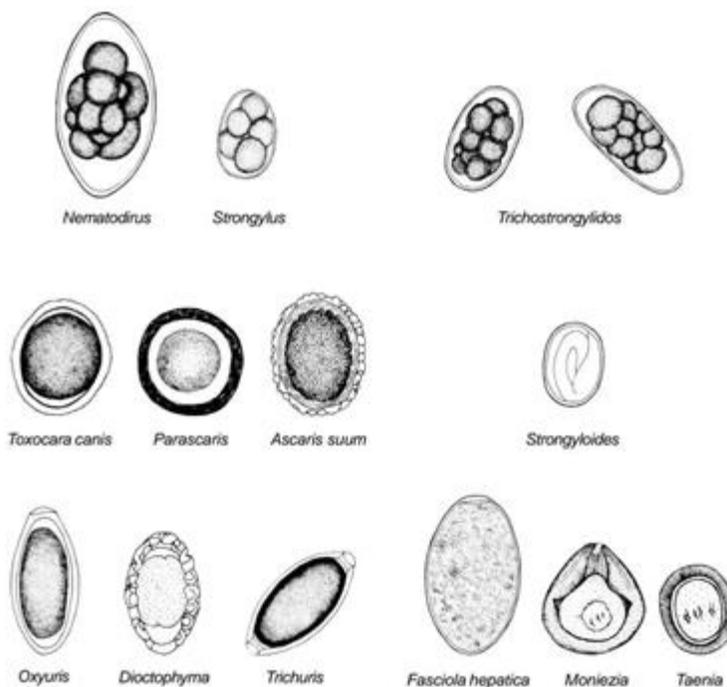


Figura 7: Tipos de huevos de helmintos (Vignau, Venturini, Romero, Eiras y Basso, 2005).

El análisis de materia fecal en el laboratorio (coproparasitario) es esencial para conocer la población de parásitos que están actuando en los animales. El resultado es expresado en HPG, permite monitorear las distintas cargas parasitarias y hace posible tomar decisiones en tiempo y forma (Saravia, 2008).

Para el control de los NGI debe disponerse de técnicas diagnósticas capaces de determinar la presencia de huevos, los niveles de infección y permitir inferir en base a estos resultados, el estado de alteraciones fisiológicas y el grado de afección sobre factores de importancia en la producción que estas generan (Sandoval et al., 2011).

Una característica importante de los NGI, es que no son directamente observables, por lo que se requieren para su diagnóstico, de pruebas de laboratorio, para demostrar su presencia y cuantificarlos (Sandoval et al., 2011; Benavides y Romero, 2008).

### **Técnicas diagnósticas**

Los métodos de examen fecal que se han descrito en la literatura son cualitativos o cuantitativos, los primeros proporcionan información sobre las especies presentes (determinan infectados o no infectados), mientras que los cuantitativos indican los niveles de infección. Ambos pueden ser una herramienta importante para determinar el estado de salud, el tratamiento posible a realizar y medidas de control a utilizar en un rodeo (Pereckiene et al., 2007).

Nicholls y Obendorf en 1994 mencionan que las técnicas cuantitativas evalúan el HPG, utilizan una solución de flotación y en ellas realizamos la lectura en el microscopio óptico de la alícuota de suspensión fecal (solución + materia fecal) de un volumen conocido (Cringoli, Rinaldi, Veneziano, Capelli y Scala, 2004).

El desarrollo de métodos cuantitativos para determinar el HPG, constituyó un importante avance en la estimación indirecta de las cargas parasitarias (Capello, Arce, Barbieri, Del Rio Alvarez, Lozina, 2020). Muchos factores pueden influir en el resultado de la técnica, afectando la sensibilidad, siendo los más importantes, el peso de las heces examinadas (Cringoli et al. 2004; Mes et al. 2001), la dilución de la materia fecal y el tamaño de las cámaras de conteo utilizadas (Vignau et al., 2005).

En el año 2012, Zajac y Conboy manifiestan que el método de flotación es la técnica coprológica más frecuentemente utilizada en Medicina Veterinaria, Reinemeyer y Nielsen en el 2013 y Melo- Franco, Alho, Calero-Bernal, Madeira de Carvalho en 2015 indican que se realiza con el propósito exclusivo de constatar la presencia o ausencia de huevos de helmintos y proceder a su identificación.

Los huevos de diferentes especies de parásitos tienen diferentes pesos específicos y tamaños; los huevos de ascáridos, al igual que los huevos de trematodos, son generalmente mucho más grandes y pesados en comparación con los huevos de tricostrongílideos y requieren de soluciones con una gravedad específica más alta para poder flotar (Pereckiene et al., 2007; MAFF, 1986). Explicando así que los diferentes

huevos flotarán de manera diferente en varios fluidos de flotación que varían en densidad (Das et al., 2020).

Algunas soluciones, al ser comparadas, han sido mejores que otras para hacer flotar huevos, las que contienen azúcar (sacarosa) o glucosa tienen mayor densidad específica (entre 1.200 y 1.350) que las soluciones salinas (1.200) y, por lo tanto, son más eficaces en general para los huevos más pesados, son más viscosas, más fáciles de controlar durante el llenado y se dispersan de manera más uniforme en la cámara sin formar burbujas de aire, las que pueden distorsionar los resultados del recuento. Las soluciones salinas saturadas también tienen la desventaja de cristalizar más fácilmente (Pereckiene et al., 2007).

En comparación con la solución salina, la solución de NaCl + azúcar con mayor densidad aumenta el tiempo de preparación de las muestras y tiende a aumentar la recuperación de huevos, como lo indican Das et al. en 2020. Además, Ballweber et al. en 2014 demostraron que la alta densidad no solo favorece la flotación de los huevos, sino que simultáneamente puede dificultar la lectura de las muestras debido a la distorsión y la cantidad de desechos recuperados en la preparación (Das et al., 2020).

En un estudio del año 2004, se probaron 14 soluciones de flotación, obteniendo diferencias significativas en los resultados. Los autores indican que las soluciones que hicieron flotar el mayor número de huevos fueron S1 (sacarosa y formaldehído), S5 (sacarosa y yodomercurato de potasio) y S10 (sacarosa y nitrato de sodio). Mientras que las de peor “desempeño”, fueron las soluciones S9 (cloruro de sodio y cloruro de zinc) y S13 (sulfato de zinc y yodomercurato de potasio) (Cringoli et al., 2004).

Dentro de las alternativas cuantitativas desarrolladas para la estimación de las cargas parasitarias, la que ofrece mayor aceptación y ventajas es el HPG (Capello et al., 2020). Diferentes autores indicaron que se complementa con la técnica de cultivo de heces para obtener las L3 y clasificarlas de acuerdo a sus características morfológicas, debido a que indicamos que los huevos son indiferenciables (Colditz et al., 2002; Niec, 1968). Este proceso requiere de tiempo y de entrenamiento específico del operador, existiendo también diferencias en el desarrollo de las distintas especies de parásitos en los cultivos, dependiendo de las condiciones de obtención de la muestra, lo que a veces llevaría a diagnósticos erróneos (Cerutti, 2017).

El HPG, es la unidad de medida de la técnica más utilizada (McMaster, MM) en el diagnóstico de nematodosis gastrointestinales, la que nos permite conocer la cantidad de huevos de NGI por gramo de materia fecal, considerándose una medida cuantitativa del nivel de infección en las ovejas (Boareki et al., 2021; Capello et al., 2020). Si bien, el HPG no determina con certeza la abundancia de NGI establecidos en el aparato digestivo, constituye una herramienta de alta valoración técnica y práctica para el control de enfermedades parasitarias (Capello et al., 2020).

Según Fiel et al. en el año 2011 y Capello et al. en 2020, las ventajas que ofrece el HPG son su practicidad, bajo costo, la rapidez en la obtención del resultado, y que se complementa perfectamente con el resto de las técnicas parasitológicas, enriqueciendo la información aportada por las mismas.

De acuerdo con Sandoval et al., 2011, Ward et al. 1997; Nichols y Obendorf 1994; Coles et al. 1992 indican que el HPG juega un papel crucial en el seguimiento de la carga de helmintos, determinando el grado de contaminación de pasturas, y en estudios epidemiológicos o identificación de RA. Los conteos de HPG, han sido ampliamente utilizados en estudios clínicos y evaluación de la eficacia de los tratamientos AH.

Hay varios métodos para la realización del HPG y estos difieren principalmente en sensibilidad, tiempo requerido para procesar las muestras y los conocimientos técnicos necesarios para su interpretación (Capello et al., 2020; Bosco et al., 2014; Nielsen et al., 2014).

Se utilizan muchos métodos para el conteo de HPG en ovejas (el método MM modificado y el método Triple Chamber MM, entre otros) que varían en cuanto al peso de la muestra, la solución de flotación, la centrifugación, el número de cámaras de MM y la sensibilidad de la detección de huevos (Boareki et al., 2021; Paras et al., 2018).

Las técnicas cuantitativas han mejorado considerablemente durante la última década (Das et al., 2020), introduciéndose como alternativas a la técnica estándar de McMaster nuevas técnicas como FLOTAC (Noel, Scare, Bellaw, Nielsen, 2017).

Un estudio realizado con parásitos tricostrongilidos del ganado ilustró que FLOTAC tenía mayor precisión y exactitud que las técnicas de MM y Wisconsin. La precisión de ambos métodos aumentó con niveles más altos de recuento de huevos, aunque se encontró que este efecto era más fuerte con MM que con FLOTAC (Noel et al., 2017). Pero, aunque FLOTAC proporciona simultáneamente lecturas altamente sensibles, precisas y exactas, para su implementación se requiere de un laboratorio equipado con una centrífuga, lo que implica un potencial limitado para su uso en granjas (Das et al., 2020).

Recientemente, se ha desarrollado una versión más fácil de usar de la técnica FLOTAC, denominada Mini-FLOTAC (Noel et al., 2017). Esta técnica no requiere centrifugación, pero aún así proporciona mediciones altamente sensibles, precisas y exactas (Cringoli et al., 2017). Un posible inconveniente de Mini FLOTAC puede ser el tiempo de mano de obra necesario para procesar las muestras (Das et al., 2020).

Al igual que con el MM, el Mini-FLOTAC tiene la ventaja de no requerir una centrífuga para el paso previo a la flotación (Noel et al., 2017). Según Cringoli et al. (2017) el diagnóstico de una muestra utilizando Mini FLOTAC tarda aproximadamente 12

minutos, que es mucho más que el tiempo requerido para MM, aproximadamente 6 minutos (Das et al., 2020; Noel et al., 2017). Según un estudio realizado por Das et al. 2020 la solución de azúcar con mayor densidad aumentó la precisión de ambas técnicas a expensas de un mayor tiempo de mano de obra.

### **Técnica de conteo de huevos: Mc Master**

En 1939, los investigadores australianos Gordon y Whitlock publicaron una técnica para obtener recuento de huevos de helmintos en las heces de ovejas, a la que le llamaron "Técnica MM" (De Souza, 1985). Fue desarrollado en el laboratorio MM de la Universidad de Sydney, Australia; es el más universalmente utilizado en parasitología veterinaria y es recomendado por la Asociación Mundial para el Avance de la Veterinaria Parasitológica para evaluar la eficacia de fármacos AH en rumiantes (Wood et al. 1995), así como para la detección de RA (Coles et al. 1992).

El MM se ha utilizado durante un tiempo relativamente largo (Gordon y Whitlock, 1939) para la cuantificación de huevos de nematodos en heces de una amplia gama de sistemas huésped-parásito. La "antigua" técnica es fácil de usar, requiere equipos simples y es relativamente barata en términos de insumos y costos de tiempo de mano de obra, pero tiene poca sensibilidad, particularmente en recuentos bajos de huevos de NGI (Dias de Castro et al., 2017; Mes, 2003) y precisión (Das et al., 2020; Daş et al., 2011).

Se utilizaba la cámara de MM de 2 celdillas que consta de 2 celdas, cada celda tiene 0,15 ml de volumen, y el volumen total es de 0,30 ml. (Sandoval et al., 2011) como se indica en la figura 8A.

Actualmente se emplea la cámara de MM (modificada por Roberts y O'Sullivan) que consta de 4 celdas de 1 x 2 cm. de lado y 2,5 mm de espesor, cada celda tiene 0,5 ml de volumen, y el conjunto 2 ml. como se indica en la figura 8B. La cara inferior de la tapa que cubre la cámara está dividida en franjas, cuyo ancho es abarcado por el campo de un microscopio común cuando se enfoca con el objetivo 10X (Vignau et al., 2005).

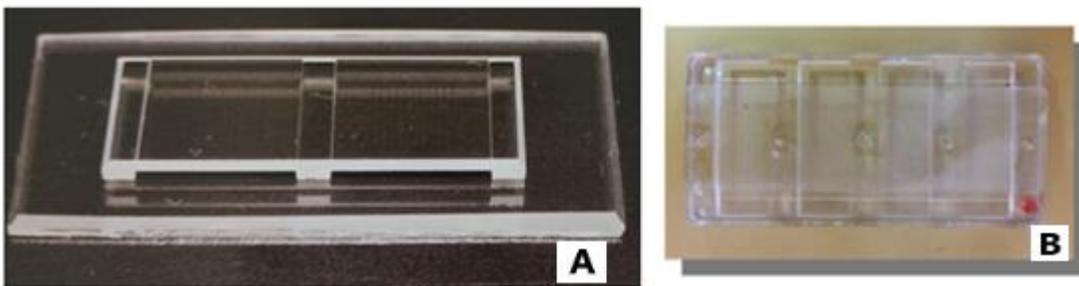


Figura 8: Cámaras de HPG. A) Cámara de MM de 2 celdillas (Valcárcel, 2009). B) Cámara de MM modificada INTA se observan 4 celdillas (Capello et al. en 2020).

La técnica de MM se fundamenta en el principio de flotación, es decir, la muestra de heces se mezcla en una solución sobresaturada de cloruro de sodio, donde los huevos menos pesados presentes en la muestra se separan de la materia fecal y suben a la superficie de dicha disolución (muestra + solución de alta densidad) (Sandoval et al., 2011; Capello et al., 2020).

En la literatura se encuentran muchas variaciones de la técnica de MM y muchos científicos continúan introduciendo nuevas modificaciones a este método (Karamon et al. 2008; Pereckiene et al. 2007; Rinaldi et al. 2007; Morgan et al. 2005; Ward et al. 1997; Nichols y Obendorf 1994; Coles et al. 1992), teniendo en cuenta factores de laboratorio como la solución de flotación, la dilución de la muestra, el tiempo de flotación y la elección del área (volumen) de la cámara de MM que se va a examinar (Cringoli et al., 2004).

Mines en el año 1977 describió modificaciones de la técnica MM y discutió la influencia de los factores como la destrucción de muestras fecales y la eliminación de burbujas de aire antes del recuento y el uso de ácido sódico para prevenir desarrollo de huevos de NGI en muestras recolectadas a campo (De Souza, 1985).

Se han realizado diferentes estudios en busca de sensibilidad y confiabilidad, de la técnica de MM, uno de ellos se centra en la comparación de tres modificaciones seleccionadas de dicha técnica, el método MM modificado por Wetzel, Zajíček y la técnica de Roepstorff y Nansen. Estos difieren en la cantidad de gramos de heces examinadas, en las soluciones de flotación NaCl (sal) y C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub> (Azúcar= Glucosa + Fructosa), en la centrifugación, en el número de cámaras utilizadas y en los factores de multiplicación. Para realizar este estudio, se recolectaron heces negativas (control), en bolsas de polietileno, las que fueron almacenadas en refrigerador a 4°C hasta la evaluación. Se agregó 1 ml de agua con un número conocido de huevos de *Ostertagia circumcincta* (conseguidos de ovinas infectadas previamente) a las heces (cantidad específica según el método evaluado), mezclando la muestra y los huevos para su homogeneización como indica la Tabla 1 (Jaroslav y Miloslav, 2011).

	McMaster technique modifications		
	Wetzel	Zajíček	Roepstorff and Nansen
Amount of faeces (g)	2	1	4
Flotation solution type	NaCl	MgSO <sub>4</sub> + Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	NaCl + glucose
Solution specific gravity	1.2	1.28	1.3
Centrifugation (RPM)	None	2,000	1,200
Centrifugation (RCF)	None	479	172
Centrifugation time (min)	None	2/1	5
Flotation time in chamber (min)	2-3	5	3-5
McMaster counting chamber	3	2	2
Multiplication factor	67	33	20

Tabla 1: Parámetros de comparación de las tres modificaciones seleccionadas de la técnica de conteo de MM. Observándose las diferentes soluciones que se utilizan en cada caso (Jaroslav y Miloslav, 2011).

Otro estudio consistió en comparar la eficacia de dos cámaras de MM diseñadas para el conteo en materia fecal de huevos NGI. Para el que se recolectaron muestras de heces individuales de 40 terneros directamente del recto, las que posteriormente se procesaron mediante la técnica de MM clásica modificada (TCC) que consta de dos compartimientos de 0,15 ml cada uno, con una sensibilidad de 100% y requiere de una muestra de 3 gramos de heces y la técnica de MM modificada empleando la cámara de INTA (TCI), que posee 4 compartimientos de 0,5 ml cada una y requiere de una muestra de 5 gramos de heces (Sandoval et al., 2011).

En las dos investigaciones, se prepararon concentraciones para cada método minimizando así el error estadístico. La técnica de Roepstorff y Nansen usó la dilución 1:14 y se observó la mayor confiabilidad. El método de Wetzel, utilizó 1:30, es la única que no usa centrifugación y tiene la confiabilidad más baja. Zajíček utiliza la dilución más baja 1:50, siendo el más sensible pero menos confiable porque la eficiencia se debe a una mayor cantidad de desechos que dificulta el examen microscópico claro, se puede pasar por alto un número de huevos y la probabilidad de error aumenta. Para TCC fueron utilizadas la dilución 1:15 y para TCI 1:20 (Jaroslav y Miloslav, 2011; Sandoval et al., 2011).

Los autores de esta investigación Sandoval y Morales en 2011, indican que las cámaras poseen características de confiabilidad, rapidez, sencillez y bajo costo, sin embargo, la TCI ofrece ventajas en cuanto a la detección de HPG, reflejado en los resultados que indican una mayor capacidad de detección de la técnica. Demostrado estadísticamente las diferencias significativas entre dichas técnicas coprológicas, la sensibilidad resultó ser de 89,5% para la TCC y de 100% para TCI y la especificidad de 100% para TCC y 33% para TCI.

Los hallazgos del estudio muestran que la mayor confiabilidad de la técnica de MM para estimar el recuento de huevos en heces de ovejas en pastoreo se obtiene cuando se utilizan soluciones de flotación basadas en sacarosa para NGI y yodomercurato de

potasio para *D. dendriticum*, diluciones que no excedan 1:15 y el área (volumen) del portaobjetos de McMaster de 1,0 ml. (Cringoli et al., 2004).

Petryszak en 1970, trabajando con recuento de huevos de NGI de ovejas, encontró que había una relación entre las técnicas de MM (100%), Willis-Schlaaf (36%) y B. Fullerborn (10%) y que la técnica MM ofrecía menos variación en los resultados y fue considerado el más ajustable en casos de altos niveles de infección, mientras que las otras dos técnicas fueron mejores en casos de bajo nivel de infección (De Souza, 1985).

Cuando se utiliza la técnica MM para animales con alto nivel de infección, existe un grado significativo de variación en el valor del HPG debido a la cantidad de heces utilizadas, sugiriendo la dilución como factor limitante; como sea esta correlación disminuye cuando se tienen animales con un nivel más bajo de infección (De Souza, 1985).

Las soluciones de NaCl y NaCl + Azúcar son las más utilizadas en el Laboratorio de Parasitología a nivel mundial para la detección de HPG a través del MM. Hay muchos factores que pueden influir en la técnica siendo uno de ellos la solución utilizada, como se detalló anteriormente las mismas presentan diferentes características que hacen que floten más o menos huevos, por eso decidimos realizar esta tesis.

### **HIPÓTESIS:**

Las densidades de las soluciones de NaCl (sal) y NaCl + Azúcar utilizadas en la técnica de Mc Master presentan diferencias significativas en el diagnóstico de parásitos gastrointestinales en rumiantes

### **OBJETIVO GENERAL:**

Demostrar si las soluciones de NaCl (sal) y NaCl + Azúcar modifican en la especificidad de los resultados del Mc. Master en cámaras con sensibilidad de 40.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

1. Elaborar la solución de NaCl (sal) a utilizar, con la densidad correcta y registrar las fechas de hechas.
2. Elaborar la solución de NaCl + Azúcar a utilizar, con la densidad correcta y registrar las fechas de hechas.
3. Elaborar la técnica de Mc. Master con la solución de NaCl (sal) y la solución de NaCl + Azúcar con sus densidades correspondientes.
4. Identificar y cuantificar los distintos huevos de NGI.
5. Cuantificar diferentes géneros no incluidos en el HPG (*Moniezia* spp y *Trichuris ovis* con cada solución).
6. Aplicar análisis estadísticos a los resultados obtenidos para cada solución elegida.

## **MATERIALES Y MÉTODOS:**

### **Diseño experimental:**

Se evaluaron 150 muestras de materia fecal de ovinos que llegaban aleatoriamente (diferentes categorías y campos) al Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Veterinaria Udelar.

Las muestras previamente fueron obtenidas directamente desde el recto, colocadas en bolsas de polietileno y refrigeradas 4° C hasta el examen diagnóstico que fue realizado entre las 24 y 72 horas siguientes para evitar la eclosión de los huevos.

Cada muestra fue analizada de forma comparada con solución de NaCl + Azúcar y con solución de NaCl en el laboratorio anteriormente mencionado.

Se prepararon:

Solución 1: NaCl: se hirvió agua y se colocó NaCl a granel, hasta conseguir la disolución de la misma, se homogeneizo hasta alcanzar la densidad de 1:20.

Solución 2: NaCl + Azúcar (por cada 100 ml de solución saturada de NaCl se agregaron 50 gramos de Azúcar). Se homogeneizo hasta alcanzar la densidad de 1:30.

Se midieron las densidades de ambas soluciones previamente al inicio de cada jornada, para evitar errores.

Se pesaron 2 gramos de materia fecal por muestra y por solución, se procesaron utilizando un mortero para disgregar la materia fecal, mezclarla con la solución correspondiente y homogenizarla. La suspensión fecal se filtra con un colador para eliminar partículas grandes y desechos.



Figura 9: Pesaje en balanza digital de los 2 gr. de materia fecal de ovino.

El filtrado de cada solución siempre fue homogeneizado por un operador, es decir, solución 1 por el operador 1 y solución 2 por el operador 2, evitando así errores de procesamiento. La homogenización correcta, con nuestra propia mano buscó que se distribuyeran uniformemente los huevos.



Figura 10: Homogenización de muestras junto con la solución correspondiente.

Se tomó una alícuota con pipeta y se procedió al llenado del compartimiento de la cámara de Mc. Master, el mismo se hizo evitando la formación de burbujas que pueden alterar los resultados del recuento.

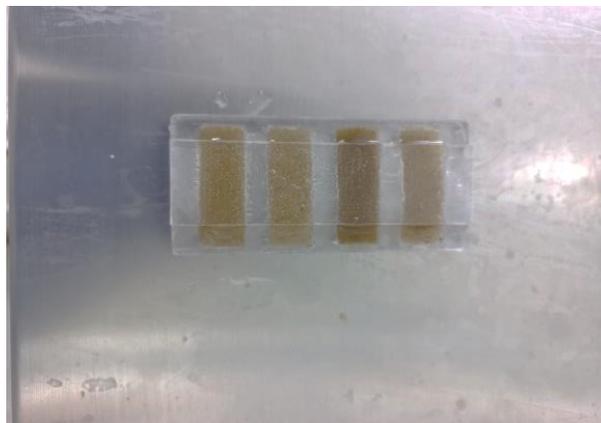


Figura 11: Muestras cargadas en compartimientos de Cámara de MM.

Se dejó reposar unos minutos para que el principio de flotación separe los huevos de los desechos y se comenzó a identificar y cuantificar los huevos en el microscopio óptico Olympus CX21 a 40X.

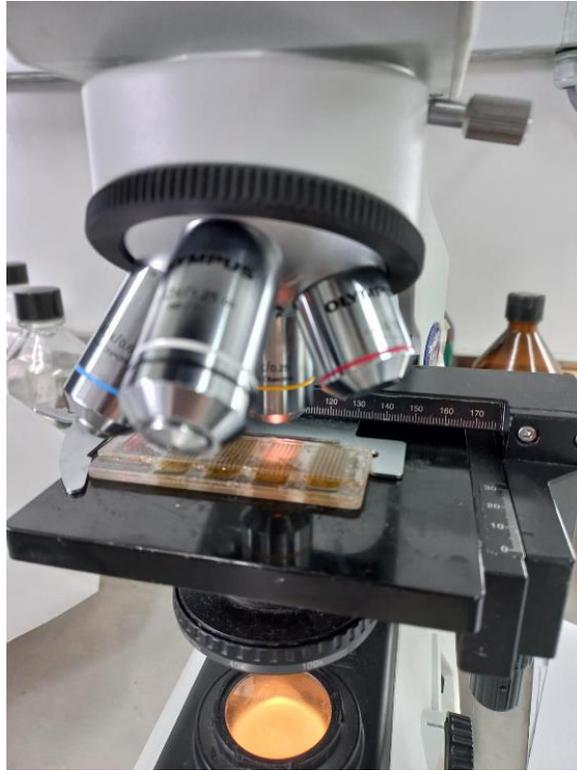


Figura 12: Observación al microscopio óptico, fue realizada a 40X.

El número de huevos contados se multiplicó por el factor de corrección, que es la sensibilidad utilizada en este experimento, que fue de  $\times 40$ .

### **Análisis estadístico:**

Los valores obtenidos de HPG, con ambas soluciones, fueron normalizados transformándolos a logaritmos en base 10 (Eady, 1985). Para determinar el efecto de los resultados que se obtuvieron se realizó un análisis de varianza mediante la prueba F para varianzas de 300 muestras, los datos se procesaron estadísticamente con el programa Past326b (software libre).

## **RESULTADOS:**

Se detallan, en la Tabla II, los resultados de HPG obtenidos con las 2 soluciones trabajadas. En la tabla III, se describen los diferentes géneros diagnosticados con la solución de NaCl + Azúcar, éstos son aquellos géneros no incluidos en HPG, ya que los podemos diferenciar e identificar.

Nº de muestra	Resultados	
	NaCl (A)	NaCl+Azúcar (B)
1	760	800
2	1360	1320
3	320	280
4	120	240
5	880	480
6	2840	2360
7	80	160
8	80	40
9	400	80
10	280	280
11	2200	80
12	520	0
13	960	40
14	760	0
15	320	0
16	400	0
17	2160	0
18	800	40
19	720	0
20	3600	0
21	440	360
22	0	0
23	0	0
24	40	40
25	0	0
26	160	40
27	0	0
28	0	0
29	0	0

Nº de muestra	Resultados	
	NaCl (A)	NaCl+Azúcar (B)
51	80	0
52	320	80
53	40	200
54	80	160
55	280	560
56	360	240
57	160	160
58	280	160
59	400	1000
60	40	240
61	0	0
62	480	120
63	40	120
64	600	160
65	80	80
66	240	40
67	160	40
68	240	40
69	280	120
70	640	1000
71	240	80
72	240	360
73	2800	2640
74	1160	920
75	680	720
76	40	120
77	320	280
78	320	480
79	400	200

Nº de muestra	Resultados	
	NaCl (A)	NaCl+Azúcar (B)
101	800	1560
102	720	760
103	240	320
104	80	120
105	400	240
106	80	0
107	0	160
108	80	40
109	400	200
110	320	320
111	120	0
112	40	0
113	0	40
114	0	0
115	40	40
116	0	0
117	120	280
118	320	280
119	240	400
120	40	0
121	120	80
122	80	120
123	40	0
124	40	40
125	0	0
126	0	0
127	80	40
128	0	80
129	0	40

30	0	0	80	200	360	130	40	0
31	240	240	81	120	240	131	40	120
32	1240	880	82	280	120	132	0	40
33	960	560	83	200	240	133	200	120
34	0	920	84	400	320	134	560	360
35	0	800	85	480	280	135	40	0
36	40	200	86	360	680	136	160	280
37	360	160	87	880	120	137	0	40
38	0	280	88	360	40	138	0	0
39	200	200	89	560	200	139	80	0
40	200	200	90	520	360	140	0	40
41	240	840	91	600	280	141	40	40
42	400	200	92	720	640	142	560	400
43	480	240	93	240	160	143	200	40
44	240	1960	94	120	200	144	160	360
45	400	80	95	200	120	145	360	80
46	320	320	96	800	80	146	280	80
47	40	200	97	160	200	147	0	360
48	360	600	98	320	200	148	440	160
49	200	150	99	200	120	149	0	80
50	240	0	100	400	280	150	320	80

Tabla II: HPG de las 150 muestras para cada solución utilizada (sal y azúcar).

Nº de muestra	Observación	Nº de muestra	Observación
13	Coccidias	62	Trichuris ovis
24	Moniezia spp	66	Trichuris ovis
27	Trichuris ovis	82	Trichuris ovis
35	Moniezia spp	83	Trichuris ovis
40	Coccidias	91	Trichuris ovis
41	Coccidias	93	Trichuris ovis
42	Trichuris ovis	147	Moniezia ovis
47	Trichuris ovis y Coccidias		

Tabla III: Diagnóstico con la solución de azúcar + NaCl de otros huevos y Ooquistes de diferentes géneros no incluidos en el HPG.

Destacamos que con la solución A se recuperaron huevos de Nematodirus en algunas muestras, pero no se obtuvieron de Moniezia spp., Trichuris ovis ni oquistes de coccidias.

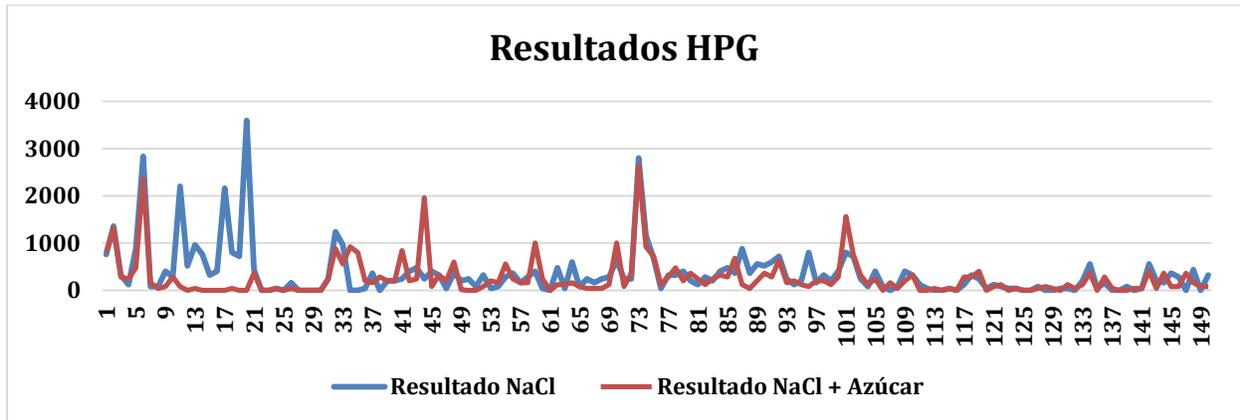


Figura 13: Resultado HPG de ambas soluciones graficados.

Los datos descriptivos, sin normalizar, de los ensayos, tomando en cuenta las diferentes soluciones, presentan una media de 356 para la solución 1 y 260 para la solución 2, como se detalla en la Tabla IV:

	A	B
Número de muestra	150	150
Mínimo	1	1
Máximo	3601	2641
Sumatoria	53510	39085
Media	356,7333	260,5667
Error estándar	43,08987	32,90526
Varianza	278510,5	162413,4
Desvió estándar	527,741	403,0055
Mediana	241	121
Coefficiente de Variación	147,9371	154,665

Tabla IV: Datos sin normalizar

Transformación del HPG: Cuando trabajamos con el HPG o recuento de huevos, que son eliminados en la materia fecal, sabemos que es una medida indirecta y representativa de la carga parasitaria que pueden presentar los animales. Además conocemos que los NGI en una población ovina, no presentan una distribución normal, como lo afirma (Eady, 1995), por lo que propone que los datos obtenidos de esta medida, deban ser transformados para poder ser analizados e interpretados, pero también indican que a pesar de existir distintas transformaciones siempre se debe seleccionar la más adecuada a la estructura de datos, debiendo probar, explorar, identificar y seleccionar aquella transformación que sea mejor para nuestros datos. Debido a esta distribución no normal de los valores de HPG y a que los programas

estadísticos y genéticos utilizados asumen homogeneidad de varianzas la normalización de los datos mediante algún tipo de transformación es una necesidad clara para no violar principios básicos y para ello, según cada estructura de datos en particular es que una u otra transformación pueda ser la más adecuada (Eady, 1995). Por ello una primera evaluación de la distribución de los datos y la transformación necesaria para normalizarlos resulta indispensable y un paso previo a los análisis del caso.

En la Tabla V se describen los resultados de la estadística descriptiva de los datos con logaritmo, de acuerdo a lo descrito por el autor Eady en 1995 se presentaron los datos por el programa estadístico Past326b (software libre) y este indicó ésta como la transformación más adecuada para nuestra investigación.

	A	B
Número de muestras	150	150
Mínimo	0	0
Máximo	3,556423	3,421768
Sumatoria	300,1437	272,4699
Media	2,000958	1,816466
Error estándar	0,08075473	0,08148148
Varianza	0,9781989	0,9958848
Desvió estándar	0,9890394	0,9979403
Mediana	2,382017	2,082785
Coefficiente de Variación	49,42829	54,93857

Tabla V: Datos normalizados.

Las diferencias estadísticas entre las dos soluciones fueron de 0.01903, siendo resultados significativos como se indica en la Tabla VI:

Test para medias iguales (Logaritmos)	
Prueba de Kruskal-Wallis para medianas iguales	
H (chi2):	5,445
Hc (tie corrected):	5,499
p (same):	0,01903

Tabla VI: Diferencias estadísticas entre las dos soluciones.

Analizamos los datos sin las muestras que consideramos presentan errores de manejo (10 a 21). Obteniendo la siguiente gráfica (Figura 14):

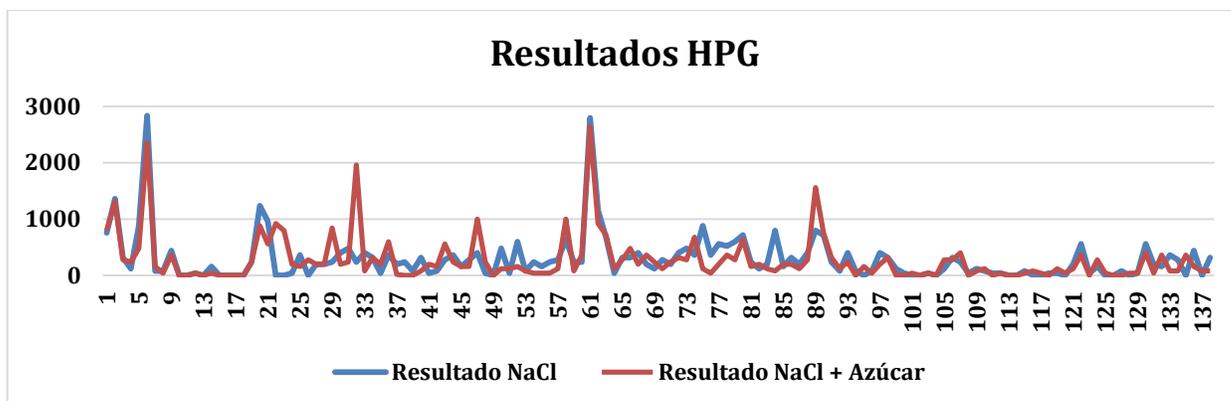


Figura 14: Resultado HPG de ambas soluciones sin las muestras 10 a 21.

	A	B
Número de muestras	129	129
Mínimo	1	1
Máximo	2841	2641
Sumatoria	40169	38464
Media	311,3876	298,1705
Error estándar	36,60965	37,1725
Varianza	172894,4	178251,5
Desvió estandar	415,8057	422,1984
Mediana	241	161
Coefficiente de variación	133,5332	141,5963

Tabla VII: Datos sin normalizar eliminando las muestras 10 a 21.

Las diferencias estadísticas entre las dos soluciones para los datos sin las muestras 10 a 21 fueron de 0,3845, no siendo significativas como se indica en la Tabla VIII:

Test para medias iguales (Logaritmos)	
Prueba de Kruskal-Wallis para medianas iguales	
H (chi2):	0,7514
Hc (tie corrected):	0,7564
p (same):	0,3845

Tabla VIII: Diferencias estadísticas entre las dos soluciones.

## DISCUSIÓN

Nuestra investigación sobre el comportamiento de dos soluciones para realizar el Mc. Master (modificado) fue realizada en base a que es una de las pruebas de diagnóstico coproparasitario, que es la indicada y aceptada en estudios de diagnóstico en busca de presencia de nematodos gastrointestinales, como lo indican Niec, R. (1968), Ueno, H. & Goncalves, P. (1970), Manual of Veterinary (1971), Dunn A. (1986), Núñez, J. (1987). Además, teniendo en cuenta que estas técnicas diagnósticas están supeditadas a factores que limitan la seguridad de los recuentos de huevos en las heces, como la fluctuación diurna, la distribución irregular de los huevos en las heces, lo cual tiene un valor relativo. La expulsión discontinua de elementos parasitarios en las heces muestreadas se constata en el procesamiento individual de las muestras. Otros factores son la cantidad de materia fecal que se eliminó por día lo cual pudo afectar el número de huevos por unidad de peso, la restricción de alimentos, enfermedades de los animales, composición específica de la carga parasitaria y también pueden existir variaciones del HPG, debidas al operador, la utilización de diferentes cámaras de Mc Master sin calibración previa en Manual of Veterinary (1971). De acuerdo a esto podemos indicar que en nuestros resultados, encontramos que la solución de azúcar es más engorrosa de preparar y lleva más tiempo, además de esto tenemos que homogenizar constantemente, ya que sino los datos obtenidos como resultado no serían reales.

Y los resultados de HPG como medida indirecta y representativa de la carga parasitaria que pueden presentar los animales, no presentan una distribución normal, debiendo ser transformados como lo afirman Eady, (1995). En nuestra investigación, basado en esto, debimos normalizar con logaritmo base 10.

Nuestros resultados, después de haber sido trabajados con las precauciones indicadas y la normalización correspondiente, demostraron que la solución de NaCl tiene mayor sensibilidad, recuperando más huevos que la solución de Azúcar, no coincidiendo con el estudio de Cringoli et al., 2004, donde se probaron 14 soluciones de flotación, obteniendo diferencias significativas en los resultados. Los autores indicaron que las soluciones que hicieron flotar el mayor número de huevos fueron todas en base a sacarosa (con variaciones en la elaboración) mientras que las de peor “desempeño” fueron a base a NaCl.

La solución de azúcar recupero además de los NGI, otros géneros que normalmente la solución de NaCl encuentra con menor frecuencia como *Moniezia spp.*, *Coccidias* y *Trichuris ovis*. La solución de NaCl + Azúcar presenta mayor densidad (1:30) por lo cual encontramos estos géneros que con NaCl (1:20) no fue posible. Como detallan algunos autores Das et al., 2020; Pereckiene et al., 2006; MAFF, 1986; los huevos de diferentes especies de parásitos tienen diferentes pesos específicos y tamaños; los huevos de ascáridos, al igual que los huevos de trematodos, son generalmente mucho más grandes y pesados en comparación con los huevos de tricostrongílideos y requieren de soluciones con una gravedad específica más alta para poder flotar explicando así que

los diferentes huevos flotarán de manera diferente en varios fluidos de flotación que varían en densidad.

En nuestra experiencia con el uso de la solución de azúcar coincidimos con Pereckiene et al., 2007, en que las soluciones de azúcar son más eficaces en general para los huevos más pesados, son más viscosas, más fáciles de controlar durante el llenado y se dispersan de manera más uniforme en la cámara sin formar burbujas de aire, las que pudieran distorsionar los resultados del recuento.

En nuestra investigación no se presentaron problemas de cristalización con la solución salina, como un problema indicado por Pereckiene et al., 2007, quienes comentan que las soluciones salinas saturadas también tienen la desventaja de cristalizar más fácilmente.

Luego de analizados los datos sin las muestras 10 a 21 que consideramos podrían tener algún error de manejo, siguen sin coincidir con Cringoli et al., 2004 al no tener diferencias significativas, no justificando realizar el Mc. Master con NaCl + Azúcar ya que recuperamos HPG con ambas soluciones y está última es más difícil de preparar.

## **CONCLUSIONES:**

- La solución de NaCl, continúa siendo la mejor solución, por económica y fácil de hacer, para los análisis de rutina en los laboratorios de diagnóstico.
- La solución de Azúcar permite el diagnóstico de otros géneros, que por sus huevos son diferenciables. Muchas veces no tomados en cuenta, pero capaces de afectar a categorías susceptibles.
- La solución de azúcar, hace que el operador deba ser siempre más constante con la mezcla de la dilución (materia fecal + solución) evitando errores en la alícuota a seleccionar para contar.

## **BIBLIOGRAFÍA:**

- Ballweber, L. R., Beugnet, F., Marchiondo, A. A., y Payne, P. A. (2014). American Association of Veterinary Parasitologists' review of veterinary fecal flotation methods and factors influencing their accuracy and use—Is there really one best technique?. *Veterinary Parasitology*, 204(1-2), 73-80.
- Benavides, E., y Romero, A. (2008). Control de los parásitos internos del ganado en sistemas de pastoreo en el trópico colombiano. *Carta Federan*, 71, 88-111.
- Boareki, M. N., Schenkel, F. S., Willoughby, O., Suárez-Vega, A., Kennedy, D., y Canovas, A. (2021). Comparison between methods for measuring fecal egg count and estimating genetic parameters for gastrointestinal parasite resistance traits in sheep. *Journal of Animal Science*, 99 (12), 1-10.
- Bonino, J., y Mederos, A. (2003). Resistencia antihelmíntica en ovinos. *Revista del Plan Agropecuario*, 107, 43-44.
- Bosco A., Rinaldi, L., Maurelli, M. P., Musella V., Coles, G.C., y Cringoli, G. (2014). Comparación de las técnicas FLOTAC, FECPAK y McMaster para el recuento de huevos de nematodos en ganado vacuno. *Parasitología Veterinaria*, 59, 625-628.
- Cain, J. L., Peters, K. T., Suri, P., Roher, A., Rutledge, M., y Nielsen, M. K. (2021). The effect of analyst training on fecal egg counting variability. *Parasitology Research*, 120, 1363-1370.
- Capello, B., Arce, A., Barbieri, F., Del Rio Alvarez, F., y Lozina, L. (2020). Estudio comparativo entre las técnicas de McMaster modificada INTA y Mini Flotac para el conteo de huevos de nematodos en materia fecal de caballos. *Revista de Divulgación Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental*, 7, 17-24.
- Castells, D. (2004). Epidemiología y control de nematodos gastrointestinales de ovinos en el Uruguay. *Revista INIA*, 359, 3-12.
- Cerutti, J. (2017). Técnica de inmunofluorescencia para identificación de Huevos del género *haemonchus* en ovinos (Tesis). Universidad de La Plata.
- Colditz, I., Le Jambre, L. F., y Hosse, R. (2002). Use of lectin binding characteristics to identify gastrointestinal parasite eggs in faeces. *Veterinary Parasitology*, 105, 219-227.
- Coles, G. C., Bauer C., Borgsteede, F. H., Geerts, S., Klei, T. R., Taylor, M. A., y Waller, P. J. (1992). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 44, 35–44.
- Cringoli G., Rinaldi, L., Veneziano, V., Capelli, G., y 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, 121-131.
- Daş, G., Klausera, S., Stehra, M., Tuchscherer, A., y Metges, C. (2020). Accuracy and precision of McMaster and Mini-FLOTAC egg counting techniques using egg-spiked faeces of chickens and two different flotation fluids. *Veterinary Parasitology*, 283, 109158.
- De Souza, A. C. (1985). Estudio estadístico de contagens de ovos de nematódeos, realizadas na câmara mcmaster e pelo sistema lamínula-lâmina no método centrífugo-flotação (Tesis). Universidad Federal Rural de Río de Janeiro.
- Dias de Castro, L. L., Abrahão, C. L.H., Buzattia, A., Molento, M. B., Bastianetto, E., Rodríguez, D. S., y 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.
- Dunn, A., y Keymer, A. (1986). Factors affecting the reliability of the McMaster technique. *Journal of Helminthology*, 60(4), 260-262.
- Eady, S. J. (1995). Implications of non-normal distribution of faecal egg count for measuring worm resistance in Merino sire evaluation schemes. En *Proceedings of the 11th Conference of the Australian Association of Animal Breeding and Genetics* (pp. 79-83), Adelaide.
- Fiel, C., y Nari, A. (2013). Enfermedades parasitarias de importancia clínica y productiva en rumiantes. Montevideo: Hemisferio Sur.
- Fox, M. (1997). Pathophysiology of infection with gastrointestinal nematodos in domestic ruminants: recent developments. *Veterinary Parasitology*. 72(3-4):285-308.
- Gordon, H. M., y Whitlock, H.V. (1939). Modification of the helminth egg counting chamber. *Journal of the council for Scientific and Industrial Research*. 12, 50-52.
- Jaroslav, V., y Miloslav, P. (2011). Which McMaster egg counting technique is the most reliable? *Parasitology Research*, 109, 1387-1394.
- Kaplan, R. M., y Nielsen, M. K. (2010). An evidence-based approach to equine parasite control: It ain't the 60s anymore. *Equine Veterinary Education*, 22(6), 306-316.
- Kaplan, R. M., y Vidyashankar, A. N. (2012). An inconvenient truth: global worming and anthelmintic resistance. *Veterinary Parasitology*, 186(1-2), 70-78.
- Kaufmann, F., Daş, G., Sohnrey, B., y Gaulty, M. (2011). Helminth infections in laying hens kept in organic free range systems in Germany. *Livestock Science*, 141(2-3), 182-187.
- Leathwick, D. M., y Besier, R. B. (2014). The management of anthelmintic resistance in grazing ruminants in Australasia—strategies and experiences. *Veterinary Parasitology*, 204(1-2), 44-54.

- Lester, H. E., y Matthews, J. B. (2014). Faecal worm egg count analysis for targeting anthelmintic treatment in horses: points to consider. *Equine Veterinary Journal*, 46(2), 139-145.
- MAFF. (1986). *Manual of Veterinary Parasitological Laboratory Techniques*. Londres: HMSO.
- Melo Franco, B., Alho, A., Calero-Bernal, R., y Madeira de Carvalho, L. (2015). Principales parasitosis intestinales. Métodos simples y prácticos de diagnóstico laboratorial en équidos. Recuperado de [https://www.produccion-animal.com.ar/produccion\\_equinos/Enfermedades/61-parasitosis.pdf](https://www.produccion-animal.com.ar/produccion_equinos/Enfermedades/61-parasitosis.pdf)
- Mes, T. H. (2003). Technical variability and required sample size of helminth egg isolation procedures. *Veterinary Parasitology*, 115(4), 311-320.
- Nari, A., Cardozo, H., Berdie, J., Canabez, F., y Bawden, R. (1977). Dinámica de población para nematodos gastrointestinales de ovinos en Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, 14(66), 11-23.
- Nari, A. y Risso, E. (1994). Epidemiología y control de nematodos gastrointestinales. *Enfermedades parasitarias e importancia económica en bovinos*, 55-201. Editorial Hemisferio Sur.
- Nicholls, J., y Obendorf, D. L. (1994). Application of a composite faecal egg count procedure in diagnostic parasitology. *Veterinary Parasitology*, 52(3-4), 337-342.
- Niec, R. (1968). *Cultivo e identificación de larvas infectantes de nematodos gastrointestinales del bovino y ovino*. Buenos Aires: INTA.
- Nielsen, M. K., Pfister, K., y von Samson-Himmelstjerna, G. (2014). Selective therapy in equine parasite control. Application and limitations. *Veterinary Parasitology*, 202(3-4), 95-103.
- Noel, M. L., Scare, J. A., Bellaw, J. L., y 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.
- Núñez, J. L. (1987). *Fundamentos de Parasitología Veterinaria*. Buenos Aires: Hemisferio Sur.
- Paras, K. L., George, M. M., Vidyashankar, A. N., y Kaplan, R. M. (2018). Comparison of fecal egg counting methods in four livestock species. *Veterinary Parasitology*, 257, 21-27.
- Pereckiene, A., Kaziūnaite, V., Vysniauskas, A., Petkevičius, S., Malakauskas, A., Šarkuėnas, M., y Taylor, M. A. (2007). A comparison of modifications of the McMaster method for the enumeration of *Ascaris suum* eggs in pig faecal samples. *Veterinary Parasitology*, 149, 111-116.

- Permin, A., y Ranvig, H. (2001). Genetic resistance to *Ascaridia galli* infections in chickens. *Veterinary Parasitology*, 102(1-2), 101-111.
- Sandoval, E., Morales, G., Ybarra, Ni., Barrios, M., y Borges, J. (2011). Comparación entre dos modelos diferentes de cámaras de McMaster empleadas para el conteo coproscópico en el diagnóstico de infecciones por nematodos gastrointestinales en rumiantes. *Zootecnia Tropical*, 29 (4), 495-501.
- Saravia, A. (2008). Control de parásitos gastrointestinales. Afinando la estrategia. *Plan Agropecuario*, 128, 36-38. Recuperado de [https://www.planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R128/R\\_128\\_36.pdf](https://www.planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R128/R_128_36.pdf)
- Tarazona Vilas, J.M. (1973) *Helmintología*. En *Manual de Técnicas de Parasitología Veterinaria* (pp. 9-84). Zaragoza: Acribia.
- Ueno, H., y Goncalves, P. C. (1970). *Manual para diagnóstico das Helminthos es de Rumiantes* (2ª ed., pp. 1-51). Tokio: Japan International Cooperation Agency.
- Valcárcel, F. (2009). *Atlas de Parasitología ovina*. Ciudad de León: Servet.
- Vignau, M. L., Venturini, L. M., Romero, J. R., Eiras, D. F., y Basso, W. U. (2005). *Parasitaria practica y modelos de enfermedades parasitarias en los animales domésticos* (Vol. 1). Buenos Aires: Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.
- Ward, M. P., Lyndal-Murphy, M., y Baldock, F. C. (1997). Evaluation of a composite method for counting helminth eggs in cattle faeces. *Veterinary Parasitology*, 73(1-2), 181-187.
- Wongrak, K., Daş, G., von Borstel, U. K., y Gauly, M. (2015). Genetic variation for worm burdens in laying hens naturally infected with gastro-intestinal nematodes. *British Poultry Science*, 56(1), 15-21.
- Zajac, A.M. y Conboy, G.A. (2012). *Veterinary clinical parasitology* (8th ed.). West Sussex: Wiley-Blackwell. ISBN-13:978-0-8138-2053-8.