

OPTIMIZACIÓN DE LOS MÉTODOS DE CONSERVACIÓN DE MUESTRAS COPROLOGICAS PARA DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO

Martí-Marco A.¹, Lizana, V.^{1,2}, Sirotteau, D.¹, Cardells J.^{1,2}

¹Servicio de Análisis, Investigación y Gestión de Animales Silvestres (SAIGAS), Facultad de Veterinaria, Universidad CEU Cardenal Herrera (Valencia – España). ²Wildlife Ecology & Health group (WE&H) - Universidad Autónoma de Barcelona- España

INTRODUCCIÓN

Las parasitosis digestivas en los animales tanto domésticos como silvestres son frecuentes, aunque no suele ser causa de muerte en animales adultos, si que puede debilitar a los animales y que otros agentes más virulentos produzcan la muerte de los mismos. A menudo se solicita a los laboratorios veterinarios que diagnostiquen parasitosis y evalúen la carga parasitaria. En ocasiones, es necesario conservar las muestras fecales durante más tiempo de lo aconsejable para su posterior diagnóstico, especialmente cuando se trata de grandes cantidades de muestras, o de aquellas tomadas en ubicaciones alejadas del lugar del procesamiento, como es el caso de las muestras que provienen de animales silvestres. Es por ello que es importante encontrar un método de conservación lo más adecuado posible para mantener las características de las formas parasitarias para su posterior recuento.

OBJETIVO

El objetivo principal de este estudio se basa en la valoración del estado de conservación de las formas diagnósticas según el grupo parasitario en muestras fecales para el recuento de formas parasitarias.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las coprológicas se llevaron a cabo mediante la técnica de flotación de McMaster modificado. Se realizaron 450 coprológicas de muestras de heces de pequeños rumiantes, tanto silvestres como domésticos, antes de las 24 h de su recogida y conservadas a 4 °C, de las que resultaron positivas, se conservó la mitad de la muestra en congelación a -20 °C y la otra mitad en formol al 10 %, durante 30 días, y después se volvió a realizar la coprológica mediante la técnica de McMaster (figura 1). Los resultados se analizaron con la prueba T de Student, calculados mediante el programa R Commander 385i.

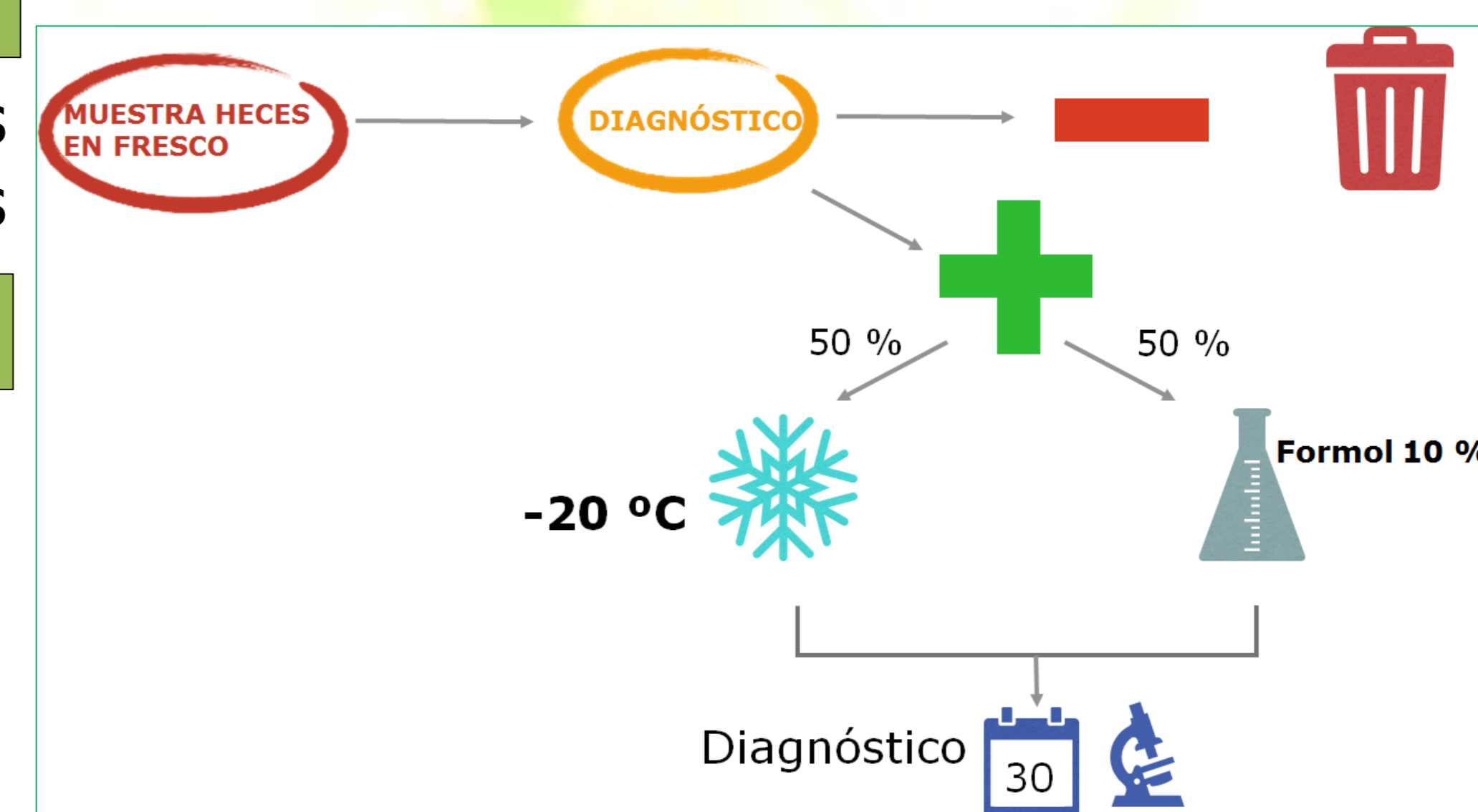


Figura 1. Diagrama del protocolo de trabajo

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observó que, en todas las muestras fecales positivas a algún parásito, también lo fueron tras su periodo de conservación, por tanto las dos formas de conservación son apropiadas para el diagnóstico cualitativo de las parasitosis digestivas.

Tras la realización de la prueba T Student con R-comander 385i con muestras pareadas, con un intervalo de confianza del 0,95. No existen diferencias significativas entre los recuentos de ooquistes en fresco y los congelados y si entre los ooquistes en fresco y los conservados en formol (tabla 1). Respecto a los recuentos para huevos de nematodos los resultados fueron dispares, para los nematodos existen diferencias significativas entre los recuentos en fresco y cualquiera de las dos formas de conservación. Existe una regresión lineal entre huevos de estromgilado en fresco y en congelación cuyo coeficiente es 0.53498. Con lo cual si multiplicamos el recuento de huevos conservados en congelación por la pendiente, los resultados obtenidos muestran que no hay diferencias significativas entre ellos.

Tabla 1. Resultados estadísticos de la prueba T Student de los recuentos coprológicos

| RECuentos | t | p |
|--|----------|----------|
| Ooquistes en heces frescos vs ooquistes en heces congelados | t=0,086 | p=0,4657 |
| Ooquistes en heces fresco vs ooquistes en heces conservados en formol | t= 3,219 | p=0,0008 |
| <i>Nematodirus</i> spp. en heces frescas vs <i>Nematodirus</i> spp. en heces congeladas | t=0,331 | p=0,3703 |
| <i>Nematodirus</i> spp. en heces frescas vs <i>Nematodirus</i> spp. conservado en formol | t=0,728 | p=0,2339 |
| Huevos de tipo estromgilado en heces frescas vs huevos de tipo estromgilado en heces congeladas | t=2,577 | p=0,0056 |
| Huevos de tipo estromgilado en heces frescas vs huevos de tipo estromgilado conservado en formol | t=3,129 | p=0,0112 |

Se encontraron anomalías en los ooquistes y en los huevos conservados en congelación, decoloración, pérdida de la estructura inicial y vacuolización, pero no en los de formol (figuras 3 y 4).

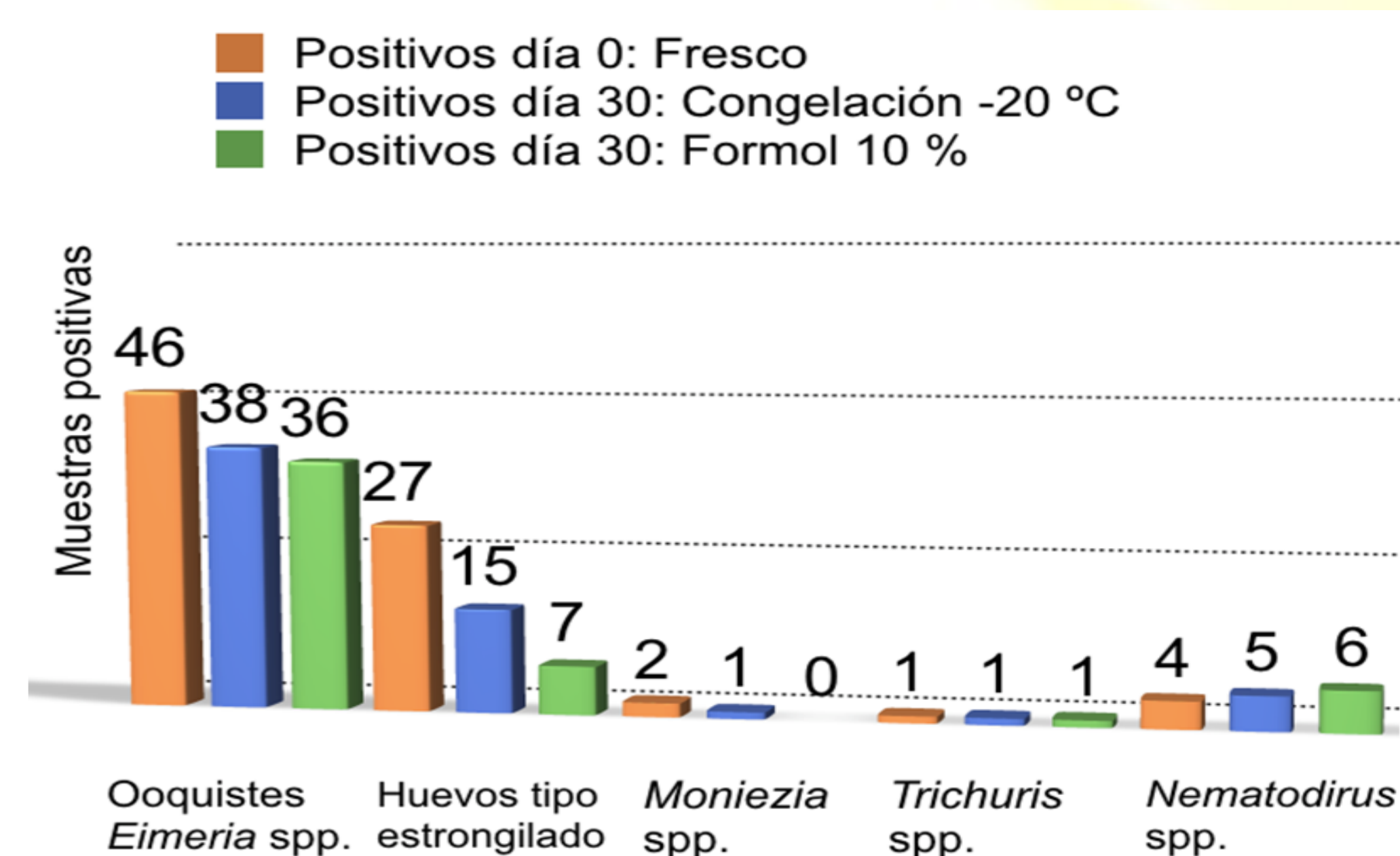


Figura 2. Muestras positivas según la forma diagnóstica y grupo parasitario



Figura 3. Anormalidades de los ooquistes tras la congelación



Figura 4. Anormalidades de los huevos de estromgilados tras la congelación

CONCLUSIONES

La conservación de las muestras, tanto en congelación como en formol 10%, es válida para su posterior recuento de ooquistes y huevos de *Nematodirus* spp.

En el caso de huevos de tipo estromgilado sí que existen diferencias significativas entre las muestras en fresco y conservadas, sin embargo aplicando un tratamiento estadístico se observa que los datos siguen una regresión lineal de forma que sí podrían realizarse correctamente los recuentos de estos huevos.

Los ooquistes y los huevos de nematodos presentaban anomalías tras su conservación en congelación, mientras que los conservados en formol no.

BIBLIOGRAFÍA

- HU, X.L., LIU, G., WANG, W.X., ZHOU, R., LIU, S.Q., LI, L.H., HU, D.F. (2015). Methods of preservation and flotation for the detection of nematode eggs and coccidian oocysts in faeces of the forest musk deer. *Veterinary Parasitology* 167, 55-61.
- NIELSEN, M.K., VIDYASHANKAR, A.N., ANDERSEN, U.V., DELISI, K., PILEGAARD, K., KAPLAN, R.M. (2010). Effects of fecal collection and storage factors on stronglyid egg counts in horses. *Veterinary Parasitology* 167, 55-61.
- SCHURER, J., DAVENPORT L, WAGNER B, JENKINS E (2014). Effects of sub-zero storage temperatures on endoparasites in canine and equine feces. *Veterinary Parasitology* 204: 310-315.
- WARD, M.P., LYNDAL-MURPHY, M., BALDOCK, F.C., (1997). Evaluation of a composite method for counting helminth eggs in cattle faeces. *Veterinary Parasitology* 73, 186-187.