

COMPARAÇÃO ENTRE AS TÉCNICAS DE BAERMANN MODIFICADA E DONALD UTILIZADAS PARA RECUPERAR LARVAS INFECTANTES DE NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS DE RUMINANTES DA PASTAGEM

ABISAIR A. DE CASTRO¹; LUCIANA R. DE ALMEIDA²; FÁBIO J. M. DA SILVA³; DANIEL DA S. GUEDES JÚNIOR⁴; CARLO J. F. DE OLIVEIRA⁴; ERIKA I. DE ORNELAS⁵; ADIVALDO H. DA FONSECA⁶

ABSTRACT:- CASTRO, A.A. DE; ALMEIDA, L.R. DE; SILVA, F.J.M. DA; GUEDES JÚNIOR, D.S.; OLIVEIRA, C.J.F. DE; DE ORNELAS, E.I.; FONSECA, A.H. DA. [Comparison between modified Baermann and Donald techniques used for the recovery of Parasitologia Veterinária gastrointestinal nematodes infective larvae from pasture.] Comparação entre as técnicas de Baermann modificada e Donald utilizadas para recuperar larvas infectantes de nematóides gastrintestinais de ruminantes da pastagem. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 12, n. 2, p. 88-91, 2003. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFRRJ - IV, DPA, Laboratório de Doenças Parasitárias, Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ 23890-000, Brazil. E-mail: abisair@ufrj.br

The larvae density estimate on herbage have been used in epidemiologic studies to define seasonal or monthly changes of pasture contamination with trichostrongyles third-stage larvae, therefore, providing an index of the exposure risk to grazing animals. In this way, a comparative study between Baermann and Donald techniques was performed for the recovery of ruminant gastrointestinal nematodes infective larvae from pasture. To develop the study, six naturally infected fecal samples were placed on the lawn. After 21 and 28 days, grass samples were collected and processed by each proposed technique. The statistical analysis showed that there is no significant difference between the results. Thus, both techniques can be used to recover infective larvae from pasture.

KEY WORDS: Larvae recovery, herbage, cattle, *Haemonchus*, *Oesophagostomum*.

RESUMO

A estimativa do número de larvas infectantes de nematóides na vegetação tem sido utilizada em estudos epidemiológicos para determinar as variações sazonais ou mensais de contaminação da pastagem, e com isso estabelecer o risco de infecção dos hospedeiros. O presente estudo, foi realizado para avaliar recuperação de larvas infectantes de nematóides gastrintestinais de bezerros da pastagem. Para o desenvolvimento do estudo, seis amostras de fezes naturalmente

infectadas foram depositadas a campo. Após 21 e 28 dias do depósito, amostras de gramínea foram coletadas e processadas pelas técnicas propostas. A análise estatística, demonstrou que não houve diferença significativa entre os resultados e dessa forma as duas técnicas podem ser utilizadas para recuperar larvas das pastagens.

PALAVRAS-CHAVE: recuperação de larvas, vegetação, bovinos, *Haemonchus*, *Oesophagostomum*.

As nematodioses gastrintestinais de ruminantes ocorrem comumente em diversos níveis de infecção, reduzindo a produtividade dos rebanhos. Estes helmintos têm evolução direta e a fase pré-parasítica ocorre no ambiente. A estimativa do número de larvas infectantes de trichostrongilídeos na pastagem, é parte integrante do estudo da ecologia e da epidemiologia desses nematóides parasitas de ruminantes. Várias técnicas têm sido descritas com a finalidade de avaliar a intensidade de larvas infectantes, L3, na pastagem

¹Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFRRJ - IV, DPA, Laboratório de Doenças Parasitárias, Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: abisair@ufrj.br

²Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFRRJ.

³Bolsista de Iniciação Científica, FAPERJ, UFRRJ

⁴Bolsista de Iniciação Científica, CNPq - UFRRJ

⁵Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos, RJ.

⁶Disciplina de Doenças Parasitárias, DESP, UFRRJ.

(TAYLOR, 1939; DINABURG, 1942; ROHRBACHER JR. 1957; DURIE, 1959; DONALD, 1967; BAWSEN, 1969; TODD JR., 1970; CHIEJINA, 1982). Taylor foi o primeiro pesquisador a utilizar a técnica de Baermann (CORT et al., 1922), para recuperar larvas infectantes das pastagens. Em seguida, Dinaburg (1942), Rohrbacher Jr. (1957), Durie (1959) afirmaram que a mesma era ineficiente para recuperar L3 da vegetação. Donald (1967) descreveu e testou sua técnica verificando excelentes percentuais de recuperação de larvas nas pastagens. Alguns pesquisadores têm utilizado esta técnica como método apropriado para suas pesquisas (VIANA, 1999; MATTOS JUNIOR, 2000; PIMENTEL NETO et al., 2000; ALMEIDA, 2003).

O presente estudo foi elaborado com o objetivo de comparar as técnicas de Baermann (CORT et al., 1922) e Donald (DONALD, 1967) quanto à recuperação de larvas infectantes da pastagem. O mesmo foi conduzido no laboratório de Doenças Parasitárias, Convênio Embrapa, UFRRJ. Aproximadamente 1,3kg de fezes foram obtidas diretamente da ampola retal de bezerros naturalmente infectados. As amostras fecais foram homogeneizadas, e destas, foram retiradas alíquotas para determinação do número de ovos por grama de fezes (o.p.g.) de acordo com a técnica modificada de Gordon e Whitlock (1939) e, para a coprocultura (ROBERTS; O'SULLIVAN, 1959). As larvas recuperadas foram identificadas utilizando-se a chave descrita por Keith (1953). Para a contaminação da pastagem com L3, seis amostras de 200g, contendo aproximadamente 3800 o.p.g, foram depositadas a campo à distância de 70cm aproximadamente. O local escolhido para o depósito foi considerado homogêneo, em relação à irradiação solar, à precipitação pluviométrica e, à vegetação, a qual era constituída por grama-batatais, *Paspalum notatum*. Decorridos 21 e 28 dias, a gramínea circundante de cada amostra de fezes foi coletada em quatro pontos distintos ao redor da mesma, numa área de 10,5 x 5,5cm (SOARES, 1980). Em seguida, cada amostra de gramínea foi homogeneizada, dividida em duas alíquotas de sete gramas e processada de acordo com as técnicas de Baermann

e Donald. Para o processamento pela técnica de Baermann, utilizou-se funis de vidro com diâmetro de aproximadamente 15cm, com borracha de látex presa à sua parte posterior e fechada com uma pinça. Dentro do funil um tamis com diâmetro de aproximadamente dez cm e 17/18 malhas/polegadas. As amostras de gramíneas picadas foram envolvidas em gaze colocadas dentro dos tamises, estes conjuntos foram mergulhados nos funis contendo água destilada esterilizada aquecida à 50°C. Após 24 horas, cinco ml do sedimento foram recuperados em tubos de ensaio. Duas horas depois, o sobrenadante foi desprezado e o sedimento montado em lâmina com lugol a 5%, e o número de L3 foi quantificado e identificado segundo Keith (1953). Para o processamento da técnica de Donald, as amostras de gramínea foram acondicionadas em potes plásticos, com 2.250ml de solução *mamalian ringer's*. Estas amostras foram picadas e homogeneizadas nesta solução com três gotas de teepol®, detergente não-iônico. Após seis horas, as amostras foram tamizadas em malhas de 145 micras e deixadas em repouso por pelo menos três horas. Posteriormente, foram realizadas três lavagens, com intervalo mínimo de três horas sendo o sobrenadante sifonado e o líquido restante homogeneizado e passado para cálices menores. Depois dessa etapa as amostras passaram por duas centrifugações: a primeira com um volume inicial de 120ml por cinco minutos a 300g e a segunda com volume de 20-30ml por três minutos a 90g. O sedimento resultante dessa última centrifugação foi ressuscitado em 100ml de iodeto de potássio cuja densidade era de 1,63molar, em cálice de separação, por dez minutos. Os cinco ml recuperados do sobrenadante foram destinados a leitura onde acrescentou-se uma gota de hipossulfito de sódio e as larvas quantificadas e identificadas segundo Keith (1953). Os valores médios dos números de L3 recuperados em cada técnica, foram comparados utilizando-se o teste de Wilcoxon, a 5% de probabilidade (SIEGEL, 1975).

De acordo com os resultados apresentados na Tabela

® Shell do Brasil.

Tabela 1. Número das amostras, número total e média de larvas infectantes de nematóides gastrintestinais de *Haemonchus* sp. e *Oesophagostomum* sp, recuperadas pelas técnicas de Baermann e Donald, 21 e 28 dias após o depósito.

Técnicas		Larvas recuperadas 21 dias						Larvas recuperadas 28 dias após o depósito							
		A1*	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	Total	Média
Baermann	<i>Haemonchus</i>	886	852	224	938	695	863	363	1275	527	1183	490	215	8511	709
	<i>Oesophagostomum</i>	94	102	16	84	96	58	14	98	25	88	41	32	748	62
	Total	980	954	240	1022	791	921	377	1373	552	1271	531	247	9259	772a
Donald	<i>Haemonchus</i>	416	1217	99	586	710	512	647	607	504	1106	940	318	7662	639
	<i>Oesophagostomum</i>	59	90	27	65	59	48	41	39	39	228	72	32	799	67
	Total	475	1307	126	651	769	560	688	646	543	1334	1012	350	8461	705a

Letras idênticas na mesma coluna indicam que não houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade.

* = Amostra recuperada

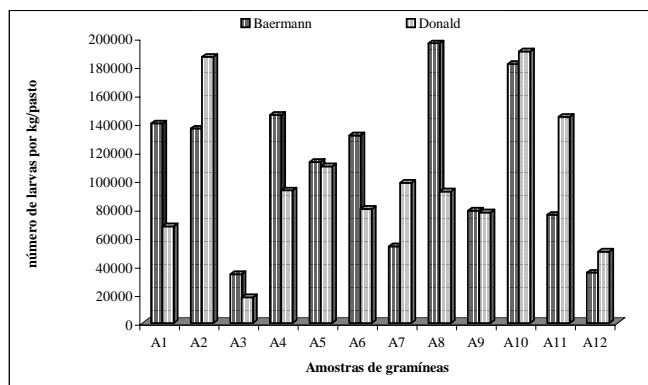


Figura 1: Número total de larvas infectantes de nematóides gastrintestinais de bovinos, por kg/pasto, recuperadas pelas técnicas de Baermann e Donald.

1, larvas infectantes do gênero *Haemonchus*, e *Oesophagos-tomum* foram recuperadas pelas duas técnicas, sendo os maiores percentuais para *Haemonchus*, confirmando os resultados obtidos pela coprocultura realizada no início do experimento. Observou-se no presente estudo, que apesar de não haver diferença significativa entre as duas técnicas; a de Baermann recuperou maior número de larvas em sete amostras das doze testadas em relação ao Donald (Fig. 1). Todd et al. (1970) relataram terem encontrado dificuldade na leitura e identificação das larvas, em decorrência de grande quantidade de sujidade residual. Fato semelhante foi observado no presente trabalho. Embora a técnica de Baermann tenha apresentado maior facilidade no seu processamento, assim como, baixo custo em relação à técnica de Donald; esta última pareceu ser mais indicada, pois no momento da leitura ela foi significativamente superior. Os resultados encontrados neste estudo discordam das afirmativas de Dinaburg (1942), Rohbacher Jr. (1957), Durie (1959), os quais atestaram a ineficiência da técnica de Baermann. Todd et al. (1970) concluíram em seu estudo que a técnica de Baermann é uma ferramenta útil para determinar o número de L3 no pasto, desde que utilizada com rigor metodológico. Chiejina (1982) registrou relativa eficiência do Baermann para recuperação de L3 da pastagem. Este fato foi observado no presente estudo. Outras técnicas para recuperação e diferenciação de L3 da pastagem foram descritas (PARFITT, 1955; HEALTH; MAJOR, 1968). Todas exigem muito tempo de processamento e necessitam de equipamentos específicos, difíceis de serem reproduzidos e não possuem uma alta eficiência para recuperação de L3 da pastagem. De acordo com Martin et al. (1990) entre todas as técnicas já descritas, a de Donald foi a mais eficiente por recuperar maior número larvas nas pastagens, especialmente em pequena amostragem de pastagem. Compreende-se que estudos nesta área devam continuar, visando identificar um protocolo, onde este deve ser econômico, rápido, fácil de se reproduzir e principalmente eficiente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, L. R. *Desenvolvimento, sobrevivência e distribuição de larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de ruminantes, na estação seca da Baixada Fluminense, Rio de Janeiro*. 2003. 50 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2003.
- BAWDEN, R. J. A rapid technique for the recovery of strongyloid larvae from pasture samples. *Australian Veterinary Journal*, v. 45, n. 5, p. 228-230, 1969.
- CHIEJINA, S. N. Evaluation of modified Baermann apparatus for the recovery of infective trichostrongylid larvae from herbage samples. *Journal of Helminthology*, v. 56, n. 2, p. 105-109, 1982.
- CORT, W.W.; ACKERT, J.E.; AUGUSTINE, D. L.; PAYNE, F. K. Investigations on the control of hookworm disease. II. The description of an apparatus for isolating infective hookworm larvae from soil. *American Journal of Hygiene*, v. 2, n. 1, p. 1-16, 1922.
- DONALD, A. B. A technique for the recovery of strongyloid larvae from small sample units of pasture. *Journal of Helminthology*, v. 61, n. 1, p. 1-10, 1967.
- DINABURG, A. G. The efficiency of the Baermann apparatus in the recovery of larvae of *Haemonchus contortus*. *Journal of Parasitology*, v. 28, n. 6, p. 433-440, 1942.
- DURIE, P. H. A new technique for the recovery of infective strongyle larvae from soil and pasture. *Journal of Helminthology*, v. 33, n. 2, p. 189-196, 1959.
- GORDON, H. McL.; WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *Journal Council Scienc. of Industry and Research*, v 12, n.1, p. 50-52, 1939.
- HEATH, D. D.; MAJOR, G. W. A technique for the recovery of strongyle larvae from masticated herbage. *Journal of Helminthology*, v. 42, n. 3, p. 299-304, 1968.
- KEITH, R. K. The differentiation of the infective larvae of some common nematode parasites of cattle. *Australian Journal of Zoology*, v.1, n. 2, p. 223-235, 1953.
- MARTIN, R. R.; BEVERIDGE, I.; PULLMAN, A. L.; BROWN, T. H. A modified technique for the estimation of the number of infective nematode larvae present on pasture, and its application in the field under South Australian conditions. *Veterinary Parasitology*, v. 37, n.2, p. 133-143, 1990.
- MATTOS JUNIOR, D. G. Distribuição estacional de larvas infectantes de nematóides gastrintestinais de bezerros criados em pastagens. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 22, n. 5, p. 215-220, 2000.
- PARFITT, J. W. Two techniques used for the detection and enumeration of the larvae of *Dictyocaulus viviparus* in faeces and herbage. *Laboratory Practice*, v. 4, n. 1, p. 15-16, 1955.
- PIMENTEL NETO, M.; RIBEIRO, M. C.; FONSECA, A. H. Distribuição sazonal e longevidade das larvas infectantes

- de nematóides gastrintestinais de bovinos em pastagens na Baixada Fluminense, Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 7, n. 1, p. 37-41, 2000.
- ROBERT, F. H. S.; O'SULLIVAN, P. J. Methods for eggs counts and larval cultures for Strongyles infecting the gastrointestinal tract of cattle. *Australian Journal of Agricultural Research*, v. 1, n.1, p. 99-192, 1950.
- ROHRBACHER Jr., G. H. The recovery of nematode larvae by Baermann apparatus as affected by a detergent. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, v. 24, n. 1, p. 24-25, 1957.
- SOARES, J. C. R. S. *Estudo em condições naturais da migração vertical e disponibilidade de larvas infectantes de nematóides Strongyloidea, parasitos de bovinos, no Estado do Rio de Janeiro*. 1980. 130 p. Dissertação (Mestrado), Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1980.
- SIEGEL, S. *Estatística não-paramétrica: para as ciências do comportamento*. Rio de Janeiro: McGraw-Hill do Brasil, 1975, 350p.
- TAYLOR, E. L. Technique for the estimation of pasture infestation by strongyloid larvae. *Parasitology*, v. 31, n. 1, p. 473-478, 1939.
- TODD, K. S.; LEVINE, N. D.; ANDERSEN, F. L. An evaluation of the Baermann technique using infective larvae of *Haemonchus contortus*. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, v. 37, n. 1, p. 57-63, 1970.
- YOUNG, R. R.; TRAJSTMAN, A. C. A rapid technique for the recovery of strongyloid infective larvae from pasture and soil samples. *Parasitology*, v. 80, n. 3, p. 425-431, 1980.
- VIANA, L. P. *Capacidade migratória de larvas infectantes de nematóides Strongylida parasitos de bovinos em diferentes espécies de forrageiras*. 1999. 62 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1999.

Recebido em 14 de julho de 2003.

Aceito para publicação em 20 de outubro de 2003.