

## Evaluación del conteo total de ooquistes de *Eimeria tenella* a partir del ciego o heces, efectuado con la cámara de McMaster y el hemocitómetro de Neubauer

### Evaluation of *Eimeria tenella* oocyst total count carried out with both the McMaster camera and the Neubauer haemocytometer from faeces or caecal tissue samples

Marco Antonio Juárez Estrada\*  
José Jesús Cabriales Jiménez\*  
Víctor Manuel Petrone García\*  
Guillermo Téllez Isaías\*

#### Abstract

Research evaluation regarding *Eimeria* spp requires a trustworthy oocyst count technique. The aim of this study was to determine the efficacy of total oocyst count using the Neubauer haemocytometer and the McMaster camera. *E. tenella* sporulate oocysts were inoculated *per os* to two groups of Leghorn chicks. Faecal samples were collected at seven days postinoculation, and different technicians counted oocysts in both cameras. The Hartley test was used to analyze homocedasticity variance level within counts with each camera. One counting, set by the same technician, showed variance heterocedasticity in one from two counting samples with the haemocytometer but not with the McMaster camera. Furthermore, there was a significant difference in the total oocyst counts carried out with the McMaster camera between two technicians but not with the Neubauer haemocytometer. It is concluded that the Hartley test is a trustworthy statistical method to evaluate laboratory techniques.

**Key words:**McMASTER CAMERA, NEUBAUER HAEMOCYTOMETER, OOCYST COUNT, HARTLEY TEST, LEGHORN CHICKEN.

#### Resumen

En la evaluación de vacunas y fármacos anticoccidiales contra *Eimeria* spp, se requiere contar con una técnica de conteo de ooquistes confiable. En el presente estudio se determinó la fiabilidad estadística del conteo total de ooquistes de *Eimeria tenella* con el hemocitómetro de Neubauer y con la cámara de McMaster. Se inocularon ooquistes esporulados de *E. tenella* a dos grupos de aves Leghorn. Siete días posinoculación y a partir de muestras de heces, dos operarios efectuaron series de conteos con ambas cámaras. Los datos se analizaron para probar homocedasticidad de varianza con la prueba de Hartley. Las series de conteo de una misma muestra presentaron heterocedasticidad de varianza en uno de dos operarios con el hemocitómetro, pero no con McMaster. Hubo diferencia en el número total de ooquistes de los conteos efectuados con la cámara de McMaster entre operarios, pero no cuando el conteo se realizó con Neubauer. La prueba de Hartley es un método estadístico adecuado para probar la confiabilidad de diversas metodologías de laboratorio, que impliquen mediciones o conteos.

**Palabras clave:**CÁMARA DE McMASTER, HEMOCITÓMETRO DE NEUBAUER, CONTEO DE OOQUISTES, PRUEBA DE HARTLEY, AVES LEGHORN.

Recibido el 20 de abril de 2001 y aceptado el 10 de julio de 2001.

\* Departamento de Producción Animal: Aves, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D. F.

Different techniques such as the Neubauer haemocytometer and the McMaster camera are used for the quantification of *Eimeria* spp oocysts. These techniques have been described and modified according to researchers' needs.<sup>1-6</sup> It is important to consider the source and aleatory variation magnitude which includes the type of distribution in the oocysts' elimination, the distribution of oocysts in each counting camera, and the quantity of the sample used in the study when evaluating the total elimination of oocysts per bird in faeces, or the number of replication of oocysts in the intestine.<sup>2,4-7</sup> The most common error when analyzing results, is not taking into account the existing heterocedasticity variance from an experimental group towards another.<sup>8,9</sup> It is therefore, recommendable to continuously verify laboratory methods aiming at accomplishing heterocedasticity variance. The objective of this study was to determine variability results within each sample, and the existing variability among different technicians who follow the counting from the same sample through the statistical Hartley test evaluating which of the two counting techniques is the most reliable one.<sup>8-9</sup>

Recent cultured *Eimeria tenella* oocysts suspended in 3% potassium dichromate were used. Oocysts' counting followed by the McMaster camera was done as described by Long *et al.*<sup>6</sup> and the Neubauer haemocytometer counting according to Dorney<sup>4</sup>. Two experimental groups with each three repetitions of 5 birds (Leghorn) aged 5 weeks were used. Birds were allocated at random in 5 leveled batteries (1 x 1.5 m) with electric heating. Water and standard feed (without an anticoccidiostat) was provided *ad libitum*. Every bird in Group 1 was inoculated 5,000 sporulated *E. tenella* oocysts *per os*; these oocysts were counted with the McMaster<sup>6</sup> camera. Birds in Group 2 received 5,000 esporulated *E. tenella per os*, and oocysts were counted with the Neubauer camera.<sup>4</sup>

Total accumulated faeces were obtained in the last 24 hrs in the first study (counting from faeces) at seven postinoculation (pi) days and from the repetitions of each group. Faeces were kept in a 1,500 ml watery solution with 3% potassium dichromate.<sup>6</sup>

Six series of 3 countings were followed from the repetition of each group with the McMaster camera; each counting considered the addition of both cells of the camera. The same was done with the Neubauer camera, except that five series included five countings per serie. Counting series were done at random from a single sample until accomplishing a similar number of counting per camera. A final dilution of 1:100 in a saturated saline solution was included when counting the McMaster camera according to Long *et al.*<sup>6</sup> For the countings with the Neubauer camera, 5 samples of 1 ml accumulated faeces were set at a 1:2 dilution using

Para la cuantificación de oocistes de *Eimeria* spp se utilizan diferentes técnicas que emplean el hemocitómetro de Neubauer y la cámara de McMaster. Éstas han sido descritas y modificadas de acuerdo con las necesidades del investigador.<sup>1-6</sup> En los estudios que evalúan la eliminación total de oocistes por ave en heces o el número de replicación de oocistes en el intestino, es importante considerar la fuente y magnitud de variación aleatoria, como es el tipo de distribución en la eliminación de oocistes, la distribución de los oocistes en cada cámara de conteo y la cantidad de muestra utilizada.<sup>2,4-7</sup> El más frecuente error en los análisis de resultados es no tomar en cuenta la heterocedasticidad de varianza existente de un grupo experimental a otro.<sup>8,9</sup> Por lo anterior, es recomendable verificar continuamente los métodos de laboratorio, con la finalidad de que cumplan con la homocedasticidad de varianza. El objetivo del presente estudio fue determinar la variabilidad de resultados entre cada conteo de oocistes provenientes de una misma muestra y la variabilidad existente entre diferentes operarios que efectúan el conteo a partir de una misma muestra, evaluando estadísticamente a través de la prueba de Hartley cuál de las dos técnicas de conteo es más confiable.<sup>8,9</sup>

Se utilizaron oocistes de *E. tenella* recién cosechados y suspendidos en dicromato de potasio al 3%. El conteo de oocistes en la cámara de McMaster se realizó según lo descrito por Long *et al.*<sup>6</sup> y el del hemocitómetro de Neubauer de acuerdo con Dorney.<sup>4</sup> Se utilizaron dos grupos experimentales, cada uno con tres repeticiones de cinco aves (Leghorn) de cinco semanas de edad, alojadas aleatoriamente en baterías de cinco niveles (1 x 1.5 m) con calefacción eléctrica. A las aves se les proporcionó agua y alimento estándar (sin anticoccidiano) *ad libitum*. En el grupo 1 a cada ave se le inoculó *per os* 5 000 oocistes esporulados de *E. tenella*, contados con la cámara de McMaster;<sup>6</sup> en el grupo 2 cada ave recibió *per os* 5 000 oocistes esporulados de *E. tenella* contados con la cámara de Neubauer.<sup>4</sup>

En el primer estudio (conteo a partir de heces), siete días posinoculación (pi) y a partir de las repeticiones de cada grupo, se obtuvo el total de heces acumuladas en las últimas 24 h. Las heces se conservaron en 1 500 ml de solución acuosa con dicromato de potasio al 3%.<sup>6</sup> A partir de las repeticiones de cada grupo se efectuaron en la cámara de McMaster, seis series de tres conteos, cada conteo consideró la suma de ambas celdas de la cámara. Con la cámara de Neubauer y a partir de las repeticiones de cada grupo se realizaron cinco series de cinco conteos por serie, en cada conteo se sumaron las dos celdas. Las series de conteo se efectuaron aleatoriamente a partir de una sola muestra hasta completar un número de series semejantes para cada cámara. En el conteo con la cámara de McMaster se realizó una

distilled water. Oocysts were counted from the 4 extreme and control quadrants at each cell. In the second study (direct counting from caecal tissue) at 7 pi days, caecum dissected blind sacks were weighed and ground individually in 10 ml of 3% potassium dichromate; 2g were taken and were adjusted to 20 ml of 3% potassium dichromate. In order to obtain the number of oocysts per gram of caecum tissue after adjusting the number of oocysts to 1 ml, it was multiplied by the weight of the blind sack sample plus 10 ml of the dichromate used in the initial grinding. To adjust the obtained value in grams, it was divided by the original weight of the caecum. The following formula was used in order to do the calculation:

$$NO \times C \times D \times OP + V / OW$$

where

NO = number of counted oocysts in 10 squares

C =  $10^3$  (considers the used volume in the camera, 0.001 ml to be adjusted to 1 ml)

D = 10 (dilution factor used in the measuring 1:10)

OW = original weight of the caecum

V = 10 (added ml for the ground mix of the original sample)

For both countings, using the McMaster camera and the Neubauer camera, direct samples of each suspension were taken and counted as was done in the first study. Obtained countings with both cameras were analyzed through the Hartley test<sup>8</sup> which determined variance quadratic distribution value ( $F_{\max}$ ) calculated from the difference between the maximum variance of a counting series, and the minimum variance from another counting series from the same sample obtained from each of the repetitions of the same inoculation group. Both variances obtained with the same camera were compared with a critical value of tables for the distribution of  $F_{\max}$  to a significance of  $P < 0.05$ . In order to determine a possible variability in the normal distribution of the countings, the number of counted oocysts was transformed through  $\text{Log}_{10}$ .<sup>8-9</sup> The geometric mean was obtained from *E. tenella* per bird in each inoculation group.<sup>6</sup> Aiming at finding differences among countings from each camera, and countings performed with the same camera, a variance analysis was done by the minimum quadratic method.<sup>8-9</sup> The origin of the sample according to the used technique for the counting of the original inoculum was considered for each analysis. The difference of the countings done by the two technicians with both cameras was determined.<sup>2,6</sup> Variation coefficient was obtained from the average, and the variance of each of the series of counting.<sup>8</sup> The multiple comparison of the means

dilución final de 1:100 en solución salina saturada de acuerdo con lo señalado por Long *et al.*<sup>6</sup> Para los conteos efectuados con la cámara de Neubauer se tomaron cinco muestras de 1 ml de las heces acumuladas y se hizo una dilución 1:2, utilizando agua destilada. Se contaron los ooquistes de los cuatro cuadrantes extremos y central de cada celda. En el segundo estudio (conteo directo a partir de tejido cecal) al día siete pi, los sacos ciegos diseccionados a nivel de tonsilas cecales se pesaron y molieron individualmente en 10 ml de dicromato de potasio al 3%; se tomaron dos gramos y se ajustaron a 20 ml con dicromato de potasio al 3%. Para obtener el número de ooquistes por gramo de tejido cecal después de ajustar el número de ooquistes a 1 ml, éste se multiplicó por el peso del saco ciego de donde procedía la muestra, más los 10 ml del dicromato utilizado en la molienda inicial; para ajustar a gramos se dividió entre el peso original del ciego. Para efectuar este cálculo se planteó la fórmula siguiente:

$$NO \times C \times D \times PO + V / PO$$

donde:

NO = Número de ooquistes contados en 10 cuadros

C =  $10^3$  (considera el volumen utilizado en la cámara 0.001 ml, para ajustar a 1 ml)

D = 10 (factor de dilución empleado en el aforamiento 1:10)

PO = Peso original total del ciego

V = 10 (ml que se agregaron para la molienda de la muestra original)

Para el conteo con las cámaras de McMaster y de Neubauer se tomaron muestras directas de cada suspensión y se contaron de manera idéntica al primer estudio. Los conteos obtenidos con ambas cámaras se analizaron a través de la prueba de Hartley,<sup>8</sup> la cual determina un valor de la distribución cuadrática de la varianza ( $F_{\max}$ ) que es calculada a partir de la diferencia entre la varianza máxima de una serie de conteos y la varianza mínima de otra serie de conteos efectuados a partir de una misma muestra obtenida a partir de cada una de las repeticiones del mismo grupo de inoculación. Ambas varianzas obtenidas con una misma cámara se compararon con un valor crítico de tablas para distribución de  $F_{\max}$  a una significancia de  $P < 0.05$ . Para determinar una posible variabilidad en la distribución normal de los conteos, se transformó el número de ooquistes contados a través de  $\text{Log}_{10}$ .<sup>8,9</sup> Se obtuvo la media geométrica de los conteos de *E. tenella* por ave, realizados en cada grupo de inoculación.<sup>6</sup> Con la finalidad de encontrar diferencias entre conteos efectuados con cada cámara, y entre los conteos con una misma cámara, se realizó análisis de varianza por el método de cuadrados

between and with the counting series was done by means of the SAS®\* statistical package through the Tukey test with a significance of  $P < 0.05$ .<sup>10</sup>

In order to obtain the  $F_{max}$  of the Hartley tables, the six counting series by the McMaster camera were considered as treatments, and the three countings of each series as a repetition with 17 degrees of freedom in the first study obtaining a value of 266. Five series as treatments and five countings of each series as repetition with 24 degrees of freedom were included in the Neubauer technique obtaining a value of 25.2. When comparing both values with the  $F_{max}$  ( $P < 0.05$ ) calculated from each inoculation group, a variance heterocedasticity ( $P < 0.05$ ) was observed in the countings through Neubauer by technician 1 from samples obtained from the inoculation with originally counted oocysts by the McMaster camera (Table 1). Factors which made that  $F_{max}$  calculated was differently to technician II, which did not reject the null hypothesis, were not determined in the first study. This difference between countings is probably related to specific aspects when following the technique by Long *et al.*<sup>6</sup> mentioned above. Nevertheless, there is a possibility that technician 1 could have made a typed error, i.e., rejecting something which is true. The origin of the samples could not have affected this variability because observed oocyst averages per bird in Group 1 were not

mínimos.<sup>8,9</sup> Para cada análisis se consideró el origen de la muestra según la técnica empleada para el conteo del inóculo original. Se determinó la diferencia de los conteos realizados por dos operarios con ambas cámaras.<sup>2,6</sup> El coeficiente de variación se obtuvo a partir del promedio y la varianza de cada una de las series de conteos.<sup>8</sup> La comparación múltiple de las medias entre y dentro de las series de conteo se realizó por medio del paquete estadístico SAS®\* a través de la prueba de Tukey con significancia de  $P < 0.05$ .<sup>10</sup>

Para obtener la  $F_{max}$  de las tablas de Hartley, con McMaster las seis series de conteos se consideraron como tratamientos y los tres conteos de cada serie como repetición, con 17 grados de libertad en el primer estudio se obtuvo un valor de 266. Para la técnica de Neubauer, se tomaron cinco series como tratamientos y cinco conteos de cada serie como repetición, con 24 grados de libertad se obtuvo un valor de 25.2; al comparar ambos valores con la  $F_{max}$  calculada a partir de cada grupo de inoculación, se observó heterocedasticidad de varianza ( $P < 0.05$ ) en los conteos con Neubauer del operario 1, a partir de muestras provenientes de la inoculación con ooquistes contados originalmente con la cámara de McMaster (Cuadro 1). En el primer estudio no se lograron determinar los factores que hicieron que la  $F_{max}$  calculada fuera diferente a la del operario 2, el cual

\*(Psr6.03 Inc. Cary, NC 27512-8000 U.S.A. 1987.

**Cuadro 1**

COMPARACIÓN DE VALORES DE  $F_{max}$  CALCULADA CON LA PRUEBA DE HARTLEY, PARA DETERMINAR HOMOCEDESTICIDAD DE VARIANZA EN CONTEOS DE OOQUISTES DE HECESE EFECTUADOS CON LAS CÁMARAS DE MCMMASTER Y NEUBAUER  
COMPARISON FROM  $F_{max}$  VALUES WITH THE HARTLEY TEST IN ORDER TO EVALUATE VARIANCE HOMOCEDESTICITY BETWEEN FAECES OOCYST COUNTING CARRIED OUT WITH THE MCMMASTER- AND NEUBAUER CAMERAS

Operario	Técnica empleada	Origen de la muestra <sup>A</sup>	Valores de $F_{max}$ calculada	
			Total de ooquistes	Datos transformados
Technician	Technique	Source <sup>A</sup>	Total oocysts	Sample $F_{max}$ values Transformation data
1	McMaster	Grupo 1	31.22	87.84
		Grupo 2	46.30	46.09
1	Neubauer	Grupo 1	111.25*	131.62*
		Grupo 2	18.11	5.00
2	McMaster	Grupo 1	6.40	9.77
		Grupo 2	8.94	18.23
2	Neubauer	Grupo 1	14.86	7.27
		Grupo 2	3.36	4.58

<sup>A</sup> Every counting technique used samples from birds inoculated with *E. tenella* sporulated oocysts originally counted with McMaster (Group 1) and Neubauer (Group 2) chambers.

\*F calculated values within every column were different ( $P < 0.05$ ) from F distribution table values established by the Hartley test<sup>10</sup>

different to those found in Group 2 counted with both cameras. Transformed values of  $\text{Log}_{10}$  did not increase the significant degree in the normality distribution related to the observed significance for the original values (Table 1).

Some authors have mentioned that this type of transformation lead to make a type 1 error;<sup>9</sup> nevertheless, they mention its usage for the distribution in the elimination of oocysts, and not for the distribution of oocysts in the countings done with different cameras, therefore, it is valid to follow the analysis from original data in the conditions of this study.

When excreted oocyst averages per bird were compared between the McMaster and the Neubauer cameras, it was observed that the countings by technician 1 were different ( $P < 0.05$ ), independently from the origin of the samples (Table 2). Technician II did not show difference between the values found with both cameras. There was no difference between the number of counted oocysts which came from groups with a different quantification method of the original inoculum (Group 1 and Group 2), and those which were counted with the same camera (Table 2). When comparing the average countings with the McMaster camera by technician 1, in relation with those done by technician 2, a difference was found ( $P < 0.05$ ). This was independent to the origin of the samples (Table 3). Total number of oocysts which originated from the initial inoculation with McMaster was lower with both technicians. This may be well due to a lower quantity of the original inoculum (Table 3). It was observed that countings

no rechazó la hipótesis nula. Esta diferencia entre conteos está relacionada posiblemente con aspectos específicos al realizar la técnica, descritos ya anteriormente por Long *et al.*<sup>6</sup> Sin embargo, existe la probabilidad de que el primer operario pudo haber cometido error tipo 1; es decir, rechazar algo que es cierto. El origen de las muestras no pudo afectar esta variabilidad, ya que los promedios de ooquistes por ave observados en el grupo 1 no fueron diferentes a las del grupo 2, contadas con ambas cámaras. Los valores transformados con  $\text{Log}_{10}$  no aumentaron el grado de significancia en la distribución de normalidad, con relación a la significancia observada para los valores originales (Cuadro 1).

Algunos autores han mencionado que este tipo de transformación conduce a cometer error tipo 1;<sup>9</sup> sin embargo, mencionan su utilización para la distribución en la eliminación de ooquistes y no para la distribución de los ooquistes en los conteos efectuados con diferentes cámaras; por lo tanto, en las condiciones de este estudio es válido efectuar el análisis a partir de datos originales.

Cuando se compararon los promedios de ooquistes excretados por ave, entre las cámaras de McMaster y de Neubauer, se observó que los conteos del operario 1 fueron diferentes ( $P < 0.05$ ), independientemente del origen de las muestras (Cuadro 2). El operario 2 no mostró diferencias entre los valores contados con ambas cámaras. Tampoco hubo diferencia entre el número de ooquistes contados que provenían de grupos con diferente método de cuantificación del inóculo original (grupos 1 y 2) y los que se contaron con la misma cámara (Cuadro 2). Al comparar los conteos promedio efectua-

**Cuadro 2**  
COMPARACIÓN ENTRE CONTEOS DE OOQUISTES EN HECEs, EFECTUADOS CON LAS CÁMARAS DE MCMMASTER Y NEUBAUER  
COMPARISON BETWEEN FAECES OOCYST COUNTING CARRIED OUT WITH THE MCMMASTER- AND NEUBAUER CAMERAS

<i>Técnica empleada<sup>A</sup></i>	<i>N</i>	<i>Origen de la muestra</i> <i>Source of the sample</i>	<i>Media de ooquistes ± error estándar</i> <i>Oocysts average ± Standard errors</i>	
			<i>Operario 1</i> <i>Technician I</i>	<i>Operario 2</i> <i>Technician II</i>
McMaster	18	Grupo 1	104097222.0 (± 3 469 497.0) <sup>d</sup>	80788889.0 (± 2 727 350.0) <sup>d</sup>
	25	Grupo 2	116333333.0 (± 2 490 324.3) <sup>a</sup>	88236111.0 (± 4 687 359.2) <sup>a</sup>
Neubauer	18	Grupo 1	68184000.0 (± 5 391 730.2) <sup>b</sup>	55188000.0 (± 4 949 893.0) <sup>a</sup>
	25	Grupo 2	74256000.0 (± 6 167 782.0) <sup>b</sup>	80460000.0 (± 6 340 891.0) <sup>a</sup>

\*Values within a column followed by different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

done by the McMaster camera in any of both inoculation groups, and from the same macerated ground material, presented variance in the second study, in so far that the reliability percentage, determined by the variation coefficient, was higher than the one observed with the haemocytometer (Table 4). Variance analysis was used in the first trial, nevertheless, variance is quadratic and as a derivation of it, standard deviation is limited to the extrapolation to other missing scales. Variation coefficient is then, an adequate parameter as variability expressed in absolute terms of a scale in proportions or percentages <sup>9</sup>.

The McMaster camera proved to be statistically more reliable with the Hartley test and the coefficient variation than in the second study with the Neubauer haemocytometer. Dorney<sup>4</sup> and Tamasaukas and Roa<sup>11</sup> have defined the representativity of the number of oocysts contained in the sample of filtered faeces through an average of ten countings of the same sample done in the Neubauer camera, nevertheless, statistical validity for this procedure was not proved by some type of specific designed tests. Even when Neubauer presented more variability in this study, this cannot be considered representative of a failure because significance can be fixed a bit higher than 5%. Then, both statistical tests are adequate to measuring confidence, always taking into account the degree of random error (Table 4).

The described technique to estimate the oocyst number directly from the caecum is feasible for the immunologic evaluation and anticocidal drugs. Nevertheless, according to Kao and Ungart<sup>7</sup>, the adequate mea-

dos con McMaster por el operario 1, en relación con los realizados por el operario 2, se observó diferencia ( $P < 0.05$ ), la cual fue independiente al origen de las muestras (Cuadro 3). El número total de ooquistes proveniente de la inoculación inicial con McMaster fue menor en los dos operarios, esto último posiblemente se explica por una cantidad menor del inóculo original (Cuadro 3).

En el segundo estudio se observó que los conteos efectuados con la cámara de McMaster en cualquiera de los dos grupos de inoculación y a partir de un mismo macerado, presentaron homogeneidad de varianza; en tanto que el porcentaje de confiabilidad, determinado mediante el coeficiente de variación, fue mayor que el observado con el hemocitómetro (Cuadro 4). En el primer trabajo se utilizó análisis de varianza; sin embargo, la varianza es cuadrática y como derivación de ella la desviación estándar se encuentra limitada a la extrapolación a otras escalas de medición. El coeficiente de variación constituye un parámetro adecuado, ya que la variabilidad se encuentra expresada en términos absolutos de una escala, como la parte proporcional o porcentaje.<sup>9</sup>

En el segundo estudio la cámara de McMaster se comportó estadísticamente más fiable con la prueba de Hartley y coeficiente de variación, que el hemocitómetro de Neubauer. Dorney<sup>4</sup> y Tamasaukas y Roa<sup>11</sup> han definido la representatividad del número de ooquistes contenida en una muestra proveniente de filtrados de heces a través de un promedio de diez conteos de la misma muestra efectuados en la cámara de Neubauer; sin embargo, no se constató la validez estadística de este procedimiento con ningún tipo de prueba diseñada para tal efecto. Aún cuando con la cámara de Neubauer

**Cuadro 3**

COMPARACIÓN DE LOS CONTEOS DE OOQUISTES EN HECE EFECTUADOS POR DOS OPERARIOS CON LAS CÁMARAS DE MCMAS TERY NEUBAUER  
COMPARISON BETWEEN FAECES OOCYST COUNTING CARRIED OUT BY TWO TECHNICIANS WITH THE MCMAS TERY AND NEUBAUER CAMERAS

	<i>Media de ooquistes ± error estándar</i>			
	<i>McMaster</i>		<i>Neubauer</i>	
	<i>Grupo 1</i>	<i>Grupo 2</i>	<i>Grupo 1</i>	<i>Grupo 2</i>
	<i>Oocysts average ± Standard errors</i>			
	<i>McMaster</i>		<i>Neubauer</i>	
	<i>Group 1</i>	<i>Group 2</i>	<i>Group 1</i>	<i>Group 2</i>
Operario 1	104097222.0 (± 3 469 497.0) <sup>#</sup>	116333333.0 (± 2 490 324.3) <sup>#</sup>	68184000.0 (± 5 391 730.2) <sup>#</sup>	74256000.0 (± 6 167 782.0) <sup>#</sup>
Operario 2	80788889.0 (± 2 727 350.0) <sup>b</sup>	88236111.0 (± 4 687 359.2) <sup>b</sup>	55188000.0 (± 4 949 893.0) <sup>a</sup>	80460000.0 (± 6 340 891.0) <sup>a</sup>

\* Values within a column followed by different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

**Cuadro 4**

COMPARACIÓN DE  $F_{\max}$  CALCULADA CON LA PRUEBA DE HARTLEY, PARA DETERMINAR VARIANZA SHOMOGÉNEAS EN CONTEOS DE OOQUISTES DE SACOS CIEGOS EFECTUADOS CON LAS CÁMARAS DE MCMASTER Y NEUBAUER  
 COMPARISON FROM  $F_{\max}$  VALUES WITH THE HARTLEY TEST, IN ORDER TO EVALUATE VARIANCE HOMOCEASTICITY BETWEEN CAECAL TISSUE OOCYST COUNTING CARRIED OUT WITH THE MCMASTER- AND NEUBAUER CAMERAS

<i>Cámara utilizada</i>	<i>Técnica empleada</i>	<i>N</i>	<i>Origen de la muestra</i>	<i>Valores de <math>F_{\max}</math> calculada<sup>A</sup> total de ooquistes</i>	<i>Coficiente de variación</i>
<i>Chamber</i>	<i>Technique</i>	<i>N</i>	<i>Source</i>	<i>Sample <math>F_{\max}</math> values<sup>A</sup> total oocysts</i>	<i>Variation coefficient</i>
1	McMaster	18	Grupo 1	21.63	21.05%
		18	Grupo 2	12.57	25.97%
2	Neubauer	25	Grupo 1	15.83	39.32%
		25	Grupo 2	70.68*	35.17%

<sup>A</sup> F calculated tables, values considered a 72.9 value by the McMaster technique, and a 16.3 value by the Neubauer technique. <sup>10</sup>

\*F calculated values within every column were significantly different ( $P < 0.05$ ) from the F distribution table values established by the Hartley test <sup>10</sup>

surement of oocysts will depend on the type of tissue, the dilutions of it, oocyst densities in the mixture and the number of samples taken. To avoid bias in the oocyst production evaluation, or in any technique which implies variable measurement, procedures should be validated before, and once verified, they should be applied under the same conditions.

se presentó mayor variabilidad en este estudio, no hubo correspondencia entre las dos pruebas de evaluación utilizadas, por lo cual las dos pruebas estadísticas son adecuadas para valorar la confiabilidad contemplando la participación del error aleatorio (Cuadro 4).

La técnica descrita para estimar el número de ooquistes directamente de ciego es factible para las pruebas de evaluación inmunológica y fármacos anticoccidiales. Sin embargo, de acuerdo con Kao y Ungart,<sup>7</sup> la adecuada medición de ooquistes dependerá del tipo de tejido, sus diluciones, la densidad de los ooquistes en la mezcla y el número de muestras tomadas. Para evitar sesgos en la evaluación de la producción de ooquistes o cualquier técnica que implique medición de variables, ésta deberá validarse antes; una vez verificada, deberá practicarse bajo las mismas condiciones.

## Referencias

1. McDougal RL, Reid MW. Coccidiosis. In: Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, Reid WM, Yoder Jr HW, editors. Diseases of poultry. 9<sup>th</sup> ed. Ames (Io): The Iowa State University Press, 1991:780-787.
2. Long PL, Rowell JG. Counting oocysts of chicken coccidia. Lab Pract 1958;7:515-519.
3. Levine ND, Mehra KN, Clark DT, Aves IJ. A comparison of nematode egg counting techniques for cattle and sheep feces. Am J Vet Res 1960;21:511-515.
4. Dorney RS. Evaluation of a microquantitative method for counting coccidial oocyst. J Parasitol 1964;50:518-522.
5. Hodgson JN. Coccidiosis: oocyst counting technique for coccidostat evaluation. Exp Parasitol 1970;28:99-102.

6. Long PL, Millard BJ, Joyner LP, Norton CC. A guide to laboratory techniques used in the study and diagnosis of avian coccidiosis. Folia Vet Latina 1976;6:200-217.
7. Kao TC, Ungart BLP. Comparison of sequential, random, and hemacytometer methods for counting *Cryptosporidium* oocysts. J Parasitol 1994;80:816-819.
8. Gill JL. Design and analysis of experiments in the animal and medical sciences. Vol 1. Ames (Io): The Iowa State University Press, 1978a:155-158.
9. Wilson K, Grenfell BT. Generalized linear modelling for parasitologists. Parasitol Today 1997;13:33-38.
10. Luginbueke RC, Schlotzhaver SD. SAS/STAT guide for personal computers. 6<sup>th</sup> ed. Cary (NC): SAS Institute Inc., 1987.
11. Tamasaukas R, Roa N. Aislamiento, identificación y caracterización de aislados de campo de *Eimeria* spp en fincas bovinas de Venezuela. Rev Cient FCV-LUZ 1998;8:119-126.

