

Pedro Nunes Cabanas Paes Vieira

**Avaliação do Parasitismo gastrointestinal por
nemátodes e céstodes em ovinos das raças Merina
Branca e Merina Preta**

Orientação: Professora Doutora Helga Waap

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2021

Pedro Nunes Cabanas Paes Vieira

**Avaliação do Parasitismo gastrointestinal por
nemátodes e céstodes em ovinos das raças Merina
Branca e Merina Preta**

Dissertação defendida em provas públicas para a obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária no curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, no dia 21/01/2022, perante o júri, nomeado pelo Despacho de Nomeação nº 06/2022, de 10 de Janeiro de 2022, com a seguinte composição:

Presidente: Professora Doutora Margarida Alves, por delegação da Professora Doutora Laurentina Pedroso;
Arguente: Professora Doutora Ana Munhoz;
Orientador: Professora Doutora Helga Waap

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2021

Agradecimentos

Sem a ajuda e apoio de um grupo de pessoas e entidades este trabalho ter-se-ia tornado, sem dúvida, mais difícil.

Queria deixar o meu reconhecimento e agradecer à Direção do INIAV de Oeiras, a aceitação da minha permanência no estágio curricular no laboratório de parasitologia, bem como a todos os profissionais, com os quais me cruzei e tive o gosto de partilhar o meu período de estágio.

Para o concretizar deste projeto, no meu caso mais precisamente no período de estágio curricular, a ajuda de toda a equipa de profissionais da ANCORME foi sem dúvida indispensável. Obrigado.

Quero deixar um agradecimento em especial à Doutora Helga Waap, por toda a transmissão de conhecimentos e ensinamentos, bem como toda a ajuda durante os períodos de orientação no estágio e orientação científica do presente trabalho.

Ao professor Telmo Nunes um obrigado por todo o apoio na análise estatística dos dados.

Por fim gostaria de agradecer ao meu Pai, à minha Mãe e à minha Irmã, fundamentais no percurso inteiro da minha vida, bem como toda a minha família e amigos.

A todos, o meu mais sincero obrigado.

Resumo

Tradicionalmente e, cada vez mais, a nível mundial a ovinocultura utiliza como fonte primária de alimentação as pastagens. Contudo, é principalmente nestes ambientes que proliferam os nemátodes e céstodes gastrointestinais, responsáveis por 40% das perdas que ultrapassam em custos, só em Portugal, cerca de cinco milhões de euros.

Com o presente trabalho pretendeu-se avaliar a prevalência de nemátodes e céstodes gastrointestinais, respetivas cargas parasitárias, bem como a necessidade de desparasitação em ovinos das raças autóctones portuguesas Merina Branca e Merina Preta. Para tal foram analisadas amostras de fezes de 243 ovinos da raça Merina Branca e 70 ovinos da raça Merina Preta, colhidas respetivamente em 13 e 7 explorações na região do Alentejo. As amostras foram analisadas pela técnica de Mini-Flotac para a identificação e quantificação dos ovos de parasitas.

Verificou-se que 91% e 83% dos animais das raças Merina Branca e Merina Preta, respetivamente, se encontravam parasitados com um ou mais géneros de parasitas. Os parasitas mais frequentes foram os strongilídeos gastrointestinais (87% Merina Branca; 80% Merina Preta) seguidos dos géneros *Strongyloides* (19% Merina Branca; 34% Merina Preta;), *Nematodirus* (21% Merina Branca; 9% Merina Preta), *Moniezia* (17% Merina Branca; 9% Merina Preta) e *Trichuris* (3% Merina Branca; 1% Merina Preta). A mediana da carga de ovos foi de 300 OPG na raça Merina Branca e 188 OPG na raça Merina Preta. As diferenças de prevalência e cargas parasitárias observadas não foram estatisticamente significativas e não permitiram inferir sobre diferenças na resistência ao parasitismo gastrointestinal entre as duas raças. No que respeita a necessidade de desparasitação, com base no grau de infeção parasitária determinado, classificado como leve em 57 % dos animais e moderado a grave em 43%, a administração de anti-helmínticos seria dispensável na maioria dos casos, justificando-se o tratamento seletivo dos restantes animais.

Palavras-Chave: Ovinos; Merina Branca; Merina Preta; Parasitas gastrointestinais; Nematodes; Cestodes.

Abstract

Traditionally, and increasingly worldwide, sheep farming uses pastures as a primary source of food. However, it is mainly in these environments that gastrointestinal nematodes and cestodes proliferate, which are responsible for 40% of the losses that exceed in costs, in Portugal, around five million euros.

This study aimed to assess the prevalence of gastrointestinal nematodes and cestodes, their parasite load, as well as the need for deworming in sheep of the Portuguese autochthonous breeds Merina Branca and Merina Preta. Fecal samples from 243 Merina Branca and 70 Merina Preta sheep, collected in 13 and 7 farms in the Alentejo region, respectively, were analyzed by the Mini-Flotac technique to identify and quantify parasite eggs.

It was found that 91% and 83% of the Merina Branca and Merina Preta sheep, respectively, were parasitized with one or more genera of parasites. The most frequent parasites were gastrointestinal strongyles (87% Merina Branca; 80% Merina Preta) followed by the genera *Strongyloides* (19% Merina Branca; 34% Merina Preta;), *Nematodirus* (21% Merina Branca; 9% Merina Preta), *Moniezia* (17% Merina Branca; 9% Merina Preta) and *Trichuris* (3% Merina Branca; 1% Merina Preta). The median egg load was 300 EPG in the Merina Branca breed and 188 EPG in the Merina Preta breed. The differences in prevalence and parasite loads observed were not statistically significant and did not allow inferring differences in resistance to gastrointestinal parasitism between the two breeds. Regarding the need for deworming, based on the degree of parasitic infection determined, classified as mild in 57% of the animals and moderate to severe in 43%, the use of anthelmintics would be dispensable in most cases, while the remaining animals could benefit from selective treatment.

Keywords: Sheep; Merina Branca; Merina Preta; Gastrointestinal parasites; Nematodes; Cestodes.

Lista de abreviaturas

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

ANCORME – Associação Nacional de Criadores de Ovinos da Raça Merina

FEC – Contagens de Ovos nas Fezes, do inglês Fecal Egg Count

IC – Intervalo de Confiança

INIAV – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária

OPG – Ovos Por Grama de fezes

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase, do inglês *Polimerase Chain Reaction*

SNPs – Polimorfismos de Nucleotídeo Único, do inglês *Single Nucleotide Polymorphism*

Índice

Índice Tabelas	9
Índice Figuras	10
Índice de Gráficos	11
Introdução	12
Casuística de estágio	12
Introdução	Erro! Marcador não definido.
Breve descrição das raças de ovinos objeto do estudo	15
Raça Merina Branca	15
Raça Merina Preta	15
Parasitas Gastrointestinais	16
Ciclo Biológico	18
Família Trichostrongylidae	20
Género <i>Trichostrongylus</i>	21
Sinais clínicos	21
Epidemiologia	22
Género <i>Teladorsagia</i>	22
Sinais clínicos	22
Epidemiologia	22
Género <i>Haemonchus</i>	23
Sinais Clínicos	23
Epidemiologia	23
Género <i>Cooperia</i>	24
Sinais clínicos	24
Epidemiologia	24
Género <i>Nematodirus</i>	25
Sinais clínicos	25
Epidemiologia	26
Família Chabertiidae	26
Género <i>Chabertia</i>	26
Sinais clínicos	27
Epidemiologia	27
Género <i>Oesophagostomum</i>	27
Ciclo de vida	28
Sinais clínicos	28
Epidemiologia	28
<i>Oesophagostomum venulosum</i>	28
Família Ancylostomatidae	29
Subfamília Bunostominae	29
Sinais clínicos	30
Epidemiologia	30

Família Strongyloididae	30
Género <i>Strongyloides</i>	31
Sinais clínicos	32
Epidemiologia.....	32
Família Trichuridae	32
Género <i>Trichuris</i>	33
Sinais clínicos	33
Epidemiologia.....	33
Género <i>Moniezia</i>	36
Ciclo de Vida.....	37
Sinais clínicos	37
Epidemiologia.....	38
Tratamento	38
Controlo das Parasitoses gastrointestinais	38
Métodos de diagnóstico.....	39
Objetivos do estudo	41
Material e Métodos	42
Amostragem e colheita de amostras.....	42
Análise das amostras	43
Técnica do Mini-Flotac.....	44
Armazenamento e Organização dos dados.....	46
Armazenamento dos dados	46
Análise de dados	46
Resultados	48
Discussão dos resultados.....	54
Conclusão	57
Referências Bibliográficas	59

Índice Tabelas

Tabela 1- FEC, guia de interpretação do grau de infecção	40
Tabela 2 – Necessidade de desparasitação, por contagem FEC	40
Tabela 3 – Distribuição das explorações de raça Merina Branca por concelho e freguesia	42
Tabela 4 – Distribuição das explorações de raça Merina Preta por concelho e freguesia	43
Tabela 5 – Raça Merina Branca: Prevalência (%) de parasitas gastrointestinais (classes Nematoda e Cestoda) ao nível dos animais e das explorações e respetivos intervalos de confiança (IC)	48
Tabela 6 – Raça Merina Preta: Prevalência (%) de parasitas gastrointestinais (classes Nematoda e Cestoda) ao nível dos animais e das explorações e respetivos intervalos de confiança (IC)	49
Tabela 7 – Número de animais com baixas, médias e elevadas cargas parasitárias por exploração e número de animais com necessidade de desparasitação	52

Índice Figuras

Figura 1 – Ovinos de raça Merina Branca	15
Figura 2 – Ovinos de raça Merina Preta	16
Figura 3 – Ciclo de vida geral dos nemátodes gastrointestinais em ovinos	19
Figura 4 – Preparação técnica do Mini-Flotac	44
Figura 5 – Técnica Mini-Flotac	45
Figura 6 – Ovos de EGI, <i>Nematodirus spp</i> e oocistos de <i>Eimeria spp</i> (40x)	45
Figura 7 – Ovo de <i>Moniezzia expansa</i> , ovo de <i>Strongyloide</i> e oocisto de <i>Eimeria spp</i> . (40x)	46

Índice de Gráficos

Gráfico 1 – Prevalência (%) animal de parasitas gastrointestinais nas raças Merina Preta e Merina Branca	49
Gráfico 2 – Prevalência (%) de explorações infetadas com diferentes espécies de parasitas gastrointestinais em relação à raça dos animais	50
Gráfico 3 - Boxplot das contagens de ovos de nemátodes (em OPG) nas raças Merina Branca e Merina Preta	51
Gráfico 4 - Boxplot das contagens de ovos de céstodes (em OPG) nas raças Merina Branca e Merina Preta	52
Gráfico 5 – Percentagem total de animais com infeções leves, moderadas e elevadas	53

Introdução

Casuística de estágio

O estágio curricular decorreu entre 16 de setembro de 2019 e 6 de março de 2020 no laboratório de parasitologia do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV). O estágio esteve integrado no projeto de investigação MERINOpasite (PTDC/CVT-CVT/28798/2017) contemplando o estudo das parasitoses internas em ovinos das raças Merina Branca e Merina Preta.

Durante o estágio o autor teve a oportunidade de visitar duas explorações e acompanhar os funcionários da Associação Nacional de Criadores de Ovinos da Raça Merina (ANCORME), parceira do projeto, na colheita e identificação das amostras.

No laboratório participou em diversas etapas do projeto desempenhando atividades de diagnóstico com recurso a técnicas coprológicas, nomeadamente as técnicas de Baermann, Mini-Flotac e a Sedimentação simples, em amostras de fezes de 331 ovinos.

O autor participou na preparação de coproculturas a partir das amostras de fezes para posterior identificação morfológica e molecular de larvas de nemátodes gastrointestinais. As larvas obtidas em coprocultura foram armazenadas em álcool a 70% a 4°C.

Para além do estudo de helmintas gastrointestinais (nemátodos e céstodos) apresentado na presente dissertação, o autor dedicou-se também à identificação de larvas de parasitas broncopulmonares (*Dictyocaulus* e *Muellerius* pela técnica de Baermann), oocistos de *Eimeria* (técnica de Mini-Flotac), ovos de *Fasciola hepatica* (sedimentação) e larvas de helmintas gastrointestinais (obtidas por coprocultura).

O autor procedeu ainda à purificação de ovos de strongilídeos gastrointestinais, de todas as amostras, num gradiente de açúcar para posterior extração de ácido desoxirribonucleico (ADN) e identificação de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs, do inglês *Single Nucleotide Polymorphism*) no gene da tubulina, associados à resistência aos benzimidazóis, por pirosequenciação (trabalho realizado em colaboração com o *Institute for Parasitology and Tropical Veterinary Medicine*, Universidade de Berlim. Os ovos purificados foram congelados em água a -20°C até ao seu

processamento. O autor acompanhou também outras técnicas realizados no laboratório de parasitologia, nomeadamente técnicas de biologia molecular (Reação em Cadeia da Polimerase, PCR, do inglês *Polimerase Chain Reaction*) e técnicas de diagnóstico parasitológico em amostras de outras espécies animais, incluindo pombos, coelhos e lebres, e animais do Jardim Zoológico de Lisboa.

Teve também oportunidade de observar formas promastigotas de *Leishmania infantum* em meio de cultura (ao microscópio ótico) e acompanhar provas de imunofluorescência indireta para diagnóstico de leishmaniose e besnoitiose bovina. Visitou também o laboratório de Parasitologia Prof. Vítor Caeiro da Faculdade de Medicina Veterinária de Évora, onde contou com o apoio da Dra. Maria João Vila-Viçosa, especialista na identificação morfológica de larvas L3 de ruminantes, para confirmar alguns dos géneros de larvas obtidas em coprocultura.

Durante o estágio o autor teve oportunidade de trabalhar, demonstrar algumas das técnicas que estava a realizar e trocar experiências com dois colegas moçambicanos que se encontravam em formação no laboratório de Parasitologia no âmbito do projeto FRESAN.

Os resultados do trabalho realizado foram apresentados pelo autor numa comunicação oral no Congresso da Muralha em Évora, no dia 6 de fevereiro de 2020. O autor colaborou ainda nos trabalhos “Prevalência da infeção por *Fasciola hepatica* em ovinos das raças Merina Branca e Merina Preta na região do Alentejo, no sul de Portugal” e “High prevalence of benzimidazole resistance associated β -tubulin polymorphisms in *Haemonchus* spp. and *Trichostrongylus* spp. from Merino sheep in Portugal”.

A ovinocultura é uma atividade explorada mundialmente. A criação tradicional de ovinos, utilizando as pastagens como fonte primária de alimentação dos animais é comum e tende a aumentar, fruto da necessidade de formas de produção mais sustentáveis. Contudo estes sistemas de produção estão associados a infeções por diversas espécies de parasitas gastrointestinais, responsáveis por importantes prejuízos económicos (Roberto *et al.*, 2018).

Dentro das parasitoses gastrointestinais, os nemátodes desempenham, sem dúvida, o papel mais importante, embora outras classes de parasitas possam também contribuir para estes prejuízos. Estes endoparasitas são responsáveis por perdas de peso até 40% nos animais jovens (Roberto *et al.*, 2018). O impacto negativo reflete-se também num maior consumo de ração para compensar as perdas energéticas causadas pelo parasitismo, num aumento da taxa de mortalidade e numa diminuição da qualidade da carne, lã, fertilidade e produção de leite (Charlier *et al.*, 2020).

Em Portugal estima-se que as perdas económicas causadas pelos parasitas gastrointestinais, resultantes das perdas de produção e gastos no tratamento, nos ovinos de aptidão leiteira e de carne ultrapassem os 5 milhões de euros anuais (Charlier *et al.*, 2020). A gestão e o controlo eficientes das parasitoses são cada vez mais importantes, devido ao aumento da produção pecuária, associado a uma população mundial crescente e nutricionalmente mais exigente e tendo em conta a diminuição de recursos naturais disponíveis. Presentemente, a profilaxia e controlo das parasitoses passam pela utilização em larga escala de anti-helmínticos, o que tem vindo a promover mundialmente problemas de resistência a todas as classes de antiparasitários. Por conseguinte, é fundamental promover a consulta do médico veterinário com recurso a métodos de diagnóstico para um tratamento justificado e adequado, bem como direccionar pesquisas e programas inovadores que visem encontrar soluções para estas resistências (Charlier *et al.*, 2020).

Breve descrição das raças de ovinos objeto do estudo

Raça Merina Branca

Com grande representatividade no efetivo ovino português, a raça Merina Branca caracteriza-se pelo comprimento do seu velo e pela qualidade da lã. É de notar também a sua rusticidade que lhes permite uma melhor adaptação às regiões que habita, onde as amplitudes térmicas são notáveis e a precipitação é fraca e irregular, condicionando a sua alimentação.

Presentemente, a produção de carne é o principal objetivo, sendo os animais criados sobretudo em regime de sequeiro extensivo, com efetivos de dimensões de 300 a 500 animais. Os ovinos desta raça apresentam uma distribuição mais acentuada no centro do país, mas estão presentes nas sub-regiões do Pinhal Litoral, Grande Lisboa, Península de Setúbal, Lezíria do Tejo, Alto Alentejo, Alentejo Central, Baixo Alentejo, Alentejo Litoral e Algarve (ANCORME, 2008).



Figura 1 – Ovinos de raça Merina Branca (ANCORME, 2008)

Raça Merina Preta

No que diz respeito à morfologia e funcionalidades da raça, a Merina Preta é idêntica à Merina Branca tendo como principal diferença a pigmentação da pele e do velo, característica recessiva.

A raça Merina Preta, embora com qualidades e aptidões bastante semelhantes às da Merina Branca, apresenta uma maior rusticidade. As explorações centram-se na produção de carne, que é a sua melhor aptidão, seguindo-se a produção de leite e lã.

Em termos de distribuição, esta raça está presente nas sub-regiões da Beira Interior Sul, Alentejo Central, Baixo Alentejo e Alentejo Litoral (ANCORME, 2008).



Figura 2 – Ovinos de raça Merina Preta (ANCORME, 2008)

Parasitas Gastrointestinais

Classe Nematoda

Os nemátodes gastrointestinais são o grupo com maior impacto na produção ovina à escala global. Estas parasitoses podem manifestar-se sob a forma de doença aguda, por vezes resultando na morte dos animais, ou doença crónica, com perda de peso e emaciação consideráveis (Scott, 2007). São doenças especialmente importantes devido à grande morbilidade e custos associados ao seu controlo. O aumento da resistência destes parasitas aos anti-helmínticos utilizados constitui hoje, num mercado mais exigente em termos de qualidade e segurança dos alimentos, traduzido pela expansão do setor alimentar orgânico em muitos países, uma preocupação acrescida, exigindo opções de controlo mais sustentáveis. As gastroenterites parasitárias nos

borregos em crescimento, bem como em ovinos adultos, nos quais falhou o esquema de controlo, são problemas críticos na produção ovina (Scott, 2007). Estas parasitoses podem também ser fatores potenciadores de outras doenças, como a clostridiose (Quintas & Cardoso, 2012).

Os nemátodes apresentam uma grande variabilidade entre espécies, tanto a nível morfológico como do seu microbiótomo. Existem espécies de vida livre e espécies que parasitam diferentes hospedeiros, desde o ser humano a animais (Urquhart *et al.*, 1996). A diversidade de espécies de nemátodes gastrointestinais nos ovinos é condicionada pelo clima, manejo das explorações e densidade animal dos rebanhos (Suaréz *et al.*, 2007).

Os parasitas pertencentes a esta classe têm aspeto cilíndrico e alongado, podendo medir entre poucos milímetros a um metro e meio (1,5m). Apresentam dimorfismo sexual, sendo as fêmeas, no geral, maiores que os machos. Normalmente, as extremidades têm um aspeto pontiagudo (Sancho, 2009). Morfologicamente podem ser divididos em três partes: anterior, média e posterior. A região anterior, estende-se desde a boca até ao poro excretor, a região média do poro excretor até ao ânus no caso das fêmeas e até à cloaca no caso dos machos. A região posterior, denominada também região caudal, corresponde à porção entre o ânus/cloaca e a ponta da cauda do parasita (Fortes, 2004).

Em termos de morfologia interna (pseudocoelom), são compostos por musculatura, aparelho digestivo e sistema reprodutivo. A musculatura é responsável essencialmente pela locomoção, por meio de movimentos ondulatórios, através da sua contração e posterior relaxamento. O aparelho digestivo é completo e desenvolvido em todas as fases, sendo quase retilíneo na maioria das espécies, embora algumas possam apresentar ondulações. É constituído por boca, esófago, intestino e sistema excretor. A boca varia conforme o modo de alimentação ou fixação do parasita e pode ser um orifício simples ou conter saliências denominadas dentes, papilas sensitivas ou táteis (Fortes, 2004; Bowman, 2014). O esófago pode ser filariforme, bulbiforme simples ou duplo, tricuróide, muscular-glândular ou rãbitiforme. Tal distinção permite agrupar os nemátodes e diferenciá-los. O intestino é um tubo normalmente cilíndrico provido de microvilosidades (Urquhart *et al.*, 1996). Em relação ao sistema reprodutivo, a grande maioria dos nemátodes são dioicos, com sexos separados e acentuado dimorfismo sexual. Tanto machos como fêmeas possuem gónadas tubulosas, alongadas e onduladas (Fortes, 2004; Monteiro, 2017). As células germinativas proliferam apenas na

extremidade mais delgada, numa região em forma de saco, enquanto a diferenciação dos gâmetas ocorre em todo o trajeto, até os espermatozoides atingirem o espermiduto e os óvulos atingirem o oviduto (Fortes, 2004). Nos machos, na maioria destes organismos, o sistema é composto por dois testículos, dois canais deferentes, um canal ejaculador, uma ou duas espículas (estruturas que conduzem o sémen à abertura genital, esta simples, com ganchos ou ornamentada), podendo ou não existir um gubernáculo (com função de orientar as espículas durante a cópula) e uma bolsa copuladora ou cloaca raiada, dividida em troncos com função de fixação à fêmea (Monteiro, 2017). Nas fêmeas o sistema reprodutivo é composto por dois ovários, dois ovidutos, um útero, um ovojetor (nalgumas espécies existe órgão muscular que auxilia na postura dos ovos), uma vagina e uma vulva (Urquhart *et al* 1996; Monteiro, 2017).

No que diz respeito à nutrição, de uma forma geral, os nemátodes alimentam-se de fragmentos celulares do hospedeiro, líquido da mucosa, sangue e produtos da digestão (Urquhart *et al.*, 1996). A quebra de produtividade dos animais suscetíveis é consequência deste modo de alimentação, podendo implicar desde uma resposta imunitária, danos a nível da absorção no abomaso e intestino e carência nutricional pelo sequestro dos nutrientes presentes no alimento dos hospedeiros, até anemia. Importa também salientar os desequilíbrios hídricos e eletrolíticos causados (Sarginson, 2008).

Ciclo Biológico

O ciclo de vida, de ovo a adulto, envolve de forma geral quatro mudas e cinco estádios. Ao longo das mudas, o parasita perde e renova a sua cutícula. Os diferentes estádios larvares designam-se L1, L2, L3, L4 e L5, correspondendo o último ao adulto imaturo (Urquhart *et al.*, 1996). Algumas espécies possuem estádios de vida livre e de vida parasitária no mesmo ciclo (Fortes, 2004).

Nos nemátodes, raramente ocorre transmissão direta de um hospedeiro definitivo (HD) para outro (Urquhart *et al.*, 1996). Geralmente o desenvolvimento acontece no bolo fecal ou numa espécie animal diferente, o hospedeiro intermediário (HI).

Estes parasitas podem apresentar ciclos de vida diretos (monoxenos) ou indiretos (heteroxenos). No ciclo de vida heteroxeno, as duas primeiras mudas ocorrem num HI e a infeção do HD ocorre por ingestão do HI. No caso de os HI serem insetos hematófagos, o HD infeta-se por inoculação das larvas L3, quando o inseto se alimenta (Urquhart *et al.*, 1996).

O desenvolvimento das larvas L3 até à fase adulta pode ocorrer de diversas formas (migração através do tubo digestivo ou migração pela corrente sanguínea) e chegando ao microbiótopo, diferenciam-se em machos e fêmeas e iniciam a cópula (Monteiro, 2017).

Os ovos de nemátodes apresentam diversos tamanhos, formas e espessuras do invólucro. A sobrevivência dos ovos no meio exterior e a sua resistência parecem estar associados à espessura do invólucro (Urquhart *et al.*, 1996). Os ovos são constituídos por uma membrana interna, lipídica e impermeável, uma membrana quitinosa que, quando interrompida, apresenta num ou em ambos os pólos, opérculos, local por onde sairá a larva e uma membrana externa, que pode estar presente ou não (Fortes, 2004). A diferenciação dos parasitas através dos ovos é limitada (Bowman, 2014), sendo a maioria identificados ao nível da ordem. Assim, nas fezes dos ovinos distinguem-se os ovos de Estrongilídeos Gastrointestinais (EGI), que englobam os parasitas da ordem Strongylida, com exceção do género *Nematodirus*, que por possuir características muito distintas é fácil de diferenciar e os géneros *Strongyloides* da ordem Rhabditida e *Trichuris* da ordem Enoplida (Bowman, 2014).

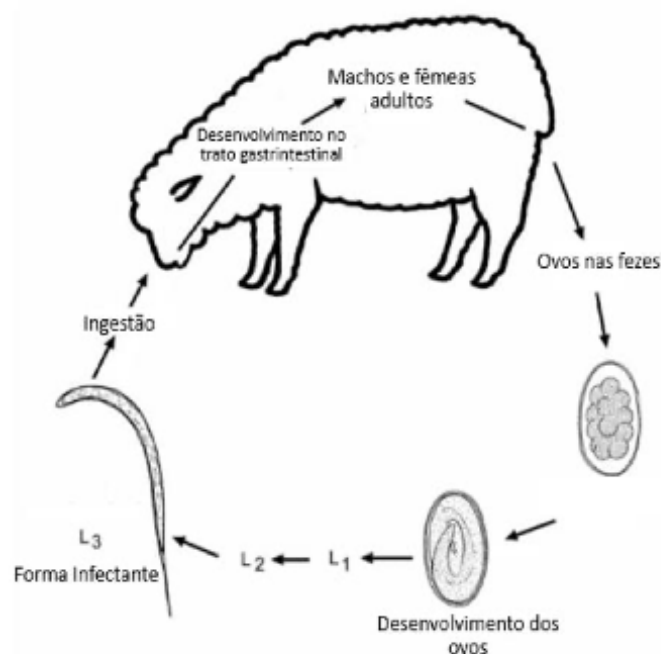


Figura 3– Ciclo de vida dos nemátodes gastrointestinais em ovinos (adaptado de Fonseca *et al.*, 2019)

Serão descritos abaixo os principais nemátodes gastrointestinais dos ovinos, divididos por ordem, superfamília, família e gênero.

Ordem Strongylida

Esta ordem é composta por quatro superfamílias, três das quais correspondem a parasitas gastrointestinais, comumente denominados estrongilídeos gastrointestinais. Estes incluem a superfamília Trichostrongyloidea, que compreende os gêneros *Trichostrongylus*, *Teladorsagia*, *Haemonchus*, *Cooperia* e *Nematodirus*, a superfamília Strongyloidea, com os gêneros *Chabertia* e *Oesophagostomum* e a superfamília Ancylostomatoidea, com o gênero *Bunostomum* (Taylor *et al.*, 2016).

Superfamília Trichostrongyloidea

Família Trichostrongylidae

Os parasitas desta família são os mais importantes e patogênicos dos ruminantes. São de tamanho reduzido e aspeto filiforme, não têm cápsula bucal e os machos possuem uma bolsa copuladora bem desenvolvida. Os ovos são geralmente elípticos, de invólucro fino e encontram-se segmentados no momento da postura. Não têm HI, sendo o ciclo de vida monóxeno. São geohelmintas e a infecção dos animais ocorre de forma passiva através da ingestão de larvas L3 infetantes. Alimentam-se da mucosa e do sangue dos hospedeiros (Fortes, 2004).

O ciclo de vida, de forma geral, é idêntico entre as espécies, apresentando uma fase exógena e uma endógena. O ciclo evolutivo é direto e a fase exógena começa quando os ovos segmentados são excretados nas fezes. Em condições de temperatura e humidade adequadas, eclodem larvas L1 (rabitóides). Estas alimentam-se de nutrientes e microrganismos nas fezes, sofrem uma muda para L2 (rabitóides) que também se alimentam e crescem, sofrendo nova muda para originar larvas L3. Estas são filaróides e o único estágio larvar capaz de infetar o hospedeiro, conservando a cutícula do estágio L2, que lhes confere resistência perante as condições adversas do meio. As larvas L3 alimenta-se exclusivamente de substâncias nutritivas que acumularam nas suas células intestinais, enquanto L2, e podem sobreviver meses nas pastagens à espera do hospedeiro. Assim que são ingeridas com o pasto (início fase endógena), perdem a cutícula e penetram na mucosa epitelial do intestino, onde se mantêm até à muda para

L4. Ao atingirem este estágio, saem da mucosa e maturam para parasitas adultos. Após a cópula, a fêmea inicia a ovopostura começando um novo ciclo (Urquhart *et al.*, 1996; Fortes, 2004; Bowman, 2014).

Nesta família encontram-se os parasitas dos gêneros: *Trichostrongylus*, *Teladorsagia* e *Haemonchus* (Taylor *et al.*, 2016).

Gênero *Trichostrongylus*

Raramente são causadores de doença em ovinos nas regiões de clima temperado, no entanto fazem parte da síndrome de gastroenterite parasitária. Nos subtrópicos, por outro lado, são considerados patogênicos e agentes com bastante importância na ocorrência de gastroenterites (Urquhart *et al.*, 1996). Os parasitas adultos apresentam um tamanho reduzido (normalmente inferior a 7mm), aspeto capilariforme e coloração ligeiramente castanha ou avermelhada. Ao microscópio não se observam estruturas cuticulares a não ser a bolsa copuladora. Não apresentam cápsula bucal óbvia e as papilas cervicais estão ausentes (Fortes, 2004; Taylor *et al.*, 2016).

Segundo Quintas & Cardoso (2012), autores do Guia Sanitário para Criadores de Pequenos Ruminantes, as espécies de importância em Portugal são: *Trichostrongylus axei*, *Trichostrongylus vitrinus*, *Trichostrongylus colubriformis* e *Trichostrongylus capricola*. Estas quatro espécies parasitam ovinos, diferindo nas características morfológicas e microbiótomo (Urquhart *et al.*, 1996; Sancho, 2009).

Sinais clínicos

Regra geral estes parasitas não provocam sinais clínicos nos animais, mas em infeções maciças (a maioria experimentais), os ovinos apresentam rápida perda de peso e diarreia, enquanto em infeções mais ligeiras podem aparecer sinais como inapetência, baixos índices de crescimento e fezes moles. Segundo alguns autores, poderá ser difícil diferenciar infeções ligeiras de subnutrição (Urquhart *et al.*, 1996; Fortes, 2004; Bowman, 2014).

Devido à sua migração para o interior da mucosa, as larvas formam tuneis, por onde vão ser libertadas após completarem o seu desenvolvimento, rompendo a mucosa, e causando hemorragia e edema, com perda de proteínas plasmáticas, deformação das vilosidades, enterite macroscópica e redução do potencial absorptivo (Fortes, 2004; Bowman, 2014)

Epidemiologia

Os ovos embrionados e as larvas infetantes destes parasitas têm uma elevada capacidade de resistência ao calor e ao frio. Nos climas temperados as larvas infetantes toleram o inverno, muitas vezes em número suficiente para causar doença clínica na primavera, no entanto os problemas devido a infeções maciças ocorrem habitualmente devido à acumulação de larvas no pasto nos meses de verão e outono. Estas larvas também possuem capacidade de hipobiose e a imunidade a esta parasitose é adquirida lentamente ao longo da vida do animal, tendendo a diminuir no período peripuerperal (Urquhart *et al.*, 1996).

Género *Teladorsagia*

Os parasitas deste género são nemátodes de grande importância nas gastroenterites de origem parasitária e apresentam elevada patogenicidade (Sarginson, 2008). São parasitas do abomaso. Quando adultos, medem entre 6 a 9mm e têm uma coloração castanho avermelhada. A sua extremidade anterior é afilada, com estrias transversais e possuem uma pequena cavidade bucal. As larvas L4 invadem a mucosa, podendo sobreviver em hipobiose. Os ovos apresentam uma forma oval, invólucro fino e medem até 100µm (Sarginson, 2008; Monteiro, 2017).

Sinais clínicos

Os sinais clínicos caracterizam-se por abomasite crónica nos animais jovens, acompanhada de diarreia aquosa abundante, anemia e edema submandibular devido à hipoproteïnemia. Os animais apresentam um aspeto emaciado e embora o apetite se mantenha, o sinal clínico mais comum é a rápida perda de peso. Isto deve-se ao facto de a presença destes parasitas no abomaso comprometer o seu funcionamento correto e, consequentemente, o processo digestivo normal (Urquhart *et al.*, 1996; Bowman, 2014).

Epidemiologia

A ocorrência desta parasitose é mais comum no verão (Urquhart *et al.*, 1996). Contudo estão descritas duas formas da doença: a teladorsagiose de tipo I ou teladorsagiose de verão, e a teladorsagiose de tipo II ou teladorsagiose de inverno. A teladorsagiose de tipo I, é mais comum e ocorre no decorrer do ciclo de vida normal do parasita, em que as L3 (larvas infetantes) no pasto são ingeridas pelos ovinos e o seu ciclo evolutivo prossegue, como já descrito. A teladorsagiose de tipo II ocorre no final do inverno, quando os animais voltam às pastagens. Aqui, as larvas (L3) que se encontravam em hipobiose desde o outono, retomam o seu metabolismo normal devido

ao aumento das temperaturas médias, o que lhes confere de novo capacidade infetante (Bowman, 2014).

Género *Haemonchus*

Tratam-se de nemátodes altamente patogénicos, presentes no abomaso e de grande importância na produção ovina, maioritariamente em climas tropicais, mas também em climas subtropicais (Urquhart *et al.*, 1996; Sarginson, 2008). São parasitas hematófagos, medindo até 3cm de comprimento. A partir do estágio L4 desenvolvem uma lanceta bucal capaz de penetrar os vasos da mucosa do abomaso dos ovinos (Taylor *et al.*, 2016). Os ovos têm invólucro fino, forma oval, polos assimétricos e medem cerca de 85µm de comprimento (Sancho, 2009). A principal espécie nos ovinos é *Haemonchus contortus* (Urquhart *et al.*, 1996).

Sinais Clínicos

Os sinais clínicos observam-se predominantemente nos animais jovens e caracterizam-se por anemia (mucosas pálidas), edema submandibular, ascite, mau estado geral e morte (Sarginson, 2008). Os efeitos patogénicos da hemoncose variam consoante a capacidade de os animais infetados restabelecerem a volémia, mais precisamente a hematopoiese, sendo que fatores como uma boa nutrição também desempenham um papel importante (Bowman, 2014).

Epidemiologia

Estes parasitas necessitam de condições de temperatura superiores às dos outros nemátodes gastrointestinais para a eclosão dos ovos e desenvolvimento larvar nas pastagens e não sobrevivem durante os invernos rigorosos. Têm um potencial de infeção muito grande devido ao grande número de ovos no momento da postura, que em condições ideais se desenvolvem rapidamente (Sarginson, 2008).

Nas áreas de clima temperado, menos favoráveis ao desenvolvimento deste parasita, as infeções parecem desenvolver-se de duas formas (Urquhart *et al.*, 1996). A mais comum, com um ciclo anual único, em que as larvas infetantes, ingeridas no início do verão, permanecem em hipobiose no estágio L4 até ao início da primavera do ano seguinte, altura em que podem ocorrer sinais clínicos, sobretudo no período peri parto. A outra forma é encontrada em animais jovens que apresentam sinais no final do verão, devido à ingestão de larvas infetantes provenientes de ovos eliminados por outros animais que se infetaram no início dessa estação.

Família Cooperidae

Nas áreas de clima temperado esta família desempenha um papel secundário na ocorrência de gastroenterites de origem parasitária e normalmente os animais desenvolvem uma imunidade forte ao fim do primeiro ano de vida (Urquhart *et al.*, 1996). São parasitas hematófagos (Fortes, 2004). Nos ovinos a espécie descrita em Portugal é *Cooperia curticei* (Quintas & Cardoso, 2012)

Género *Cooperia*

Os parasitas adultos deste género vivem no intestino delgado. Geralmente medem menos de 9mm de comprimento, têm uma coloração branca rosada e forma de vírgula ou mola. Estes nemátodes caracterizam-se pela presença de duas vesícula cefálicas, designadas por corpos refringentes. Os ovos são elípticos, com paredes paralelas e polos arredondados (Fortes, 2004; Taylor *et al.*, 2016). O ciclo de vida é monoxeno, direto. Apresentam duas fases distintas, tal como os parasitas da Família Trichostrongilidae (Urquhart *et al.*, 1996).

Sinais clínicos

Tratam-se de parasitas de moderada patogenicidade. Os sinais clínicos consistem em perda de apetite, baixo ganho de peso e diarreia. O contacto direto das larvas com as vilosidades intestinais leva a um consequente aumento do peristaltismo, diminuindo também a absorção intestinal (Urquhart *et al.*, 1996; Fortes, 2004; Monteiro, 2017).

Epidemiologia

Caracteristicamente as infeções ocorrem nos meses quentes, a hipobiose está descrita, mas não aparenta ser um fator determinante na epidemiologia deste parasita (Suarez *et al.*, 2007; Abbott *et al.*, 2012).

Família Molineidae

Grupo de parasitas intestinais de aspeto fino encontrados em diversos herbívoros, caracterizado pela presença de uma dilatação cefálica proeminente que engloba a periferia da região bucal. Nas fêmeas, a extremidade posterior é incompleta, possuindo uma ligeira fenda, com uma espinha terminal curta e espessa (Zuñiga *et al.*, 2017).

Género *Nematodirus*

Com uma distribuição mundial, mas mais prevalentes em climas temperados, os parasitas deste género são agentes importantes de gastroenterite parasitária (Urquhart *et al.*, 1996). São esbranquiçados, de corpo delgado e relativamente longo, assemelhando-se a fios de lã, medem cerca de 2cm e encontram-se no intestino delgado, (Fortes, 2004; Taylor *et al.*, 2016). Os ovos são elípticos e o seu tamanho varia entre 150 a 250µm, sendo, portanto, maiores e facilmente diferenciáveis dos ovos dos outros géneros de parasitas. No seu interior encontra-se o embrião dividido em 4 a 8 blastómeros (Sarginson, 2008; Sancho, 2009).

A nematodirose é uma importante causa de morte de borregos e tem um grande impacto na produção, particularmente durante o final da primavera e o início do verão nos países com clima temperado frio (Scott, 2007; Sarginson, 2008).

Segundo Quintas & Cardoso (2012), as espécies descritas nos ovinos em Portugal são *Nematodirus battus*, *Nematodirus filicolis* e *Nematodirus spathinger*.

O ciclo de vida com duas fases (endógena e exógena). Ao contrário das famílias já referidas, na fase de vida livre, após a excreção dos ovos para o meio ambiente, as mudas de L1 para L2 e de L2 para L3, ocorrem dentro do ovo, sendo que no momento da eclosão é libertada uma larva L3 infetante (Urquhart *et al.*, 1996). Este é um processo geralmente muito lento, com uma duração de cerca de 2 meses. Em climas temperados e antes de ocorrer a eclosão, dependendo da espécie, a larva passa por um período de latência (mais longo no caso de *N. battus*, sendo este, possivelmente por esta razão, mais patogénico) que requer temperaturas mais frias, seguidas de temperaturas mínimas de 10° C durante o dia e a noite, condições que ocorrem normalmente durante a primavera no hemisfério norte (Urquhart *et al.*, 1996; Taylor *et al.*, 2016).

Sinais clínicos

N. battus é descrito como a espécie mais patogénica (Abbott *et al.*, 2012). Os sinais clínicos resultam de cargas relativamente elevadas, que causam inflamação catarral do intestino, induzindo diarreia aguda e profusa, letargia, dor abdominal, rápida perda de peso, desidratação e morte (Sarginson, 2008). Apenas os ovinos jovens demonstram sinais de doença (Scott, 2007). Nesta parasitose os sinais clínicos estão associados à presença das formas larvares, principalmente no íleo (Urquhart *et al.*, 1996).

Epidemiologia

As larvas L3 podem resistir à congelação ou a temperaturas muito baixas até dois anos, mas não sobrevivem em climas quentes e secos. Os surtos acontecem quando existe uma elevada concentração de larvas nas pastagens e esta coincide com a introdução de ovinos muitos jovens no pasto, razão pela qual a maioria dos surtos ocorre entre maio e junho. Os borregos introduzidos em pastagens normalmente utilizadas por animais jovens durante longos períodos de tempo são os que apresentam maior risco de infeção. Um certo nível de imunidade pode ser estabelecido quando animais muito jovens ingerem menos pastagem e, portanto, menores quantidades de larvas, permitindo assim que o organismo reaja adequadamente à presença desta infeção, tornando-os resistentes a estes parasitas quando adultos (Sarginson, 2008).

Superfamília Strongyloidea

Família Chabertiidae

Os nemátodes desta família possuem corpo espesso e uma cavidade oral bem desenvolvida e circundada por uma coroa radiada, cujo tamanho varia conforme a espécie. Quando adultos parasitam o ceco e o cólon e a infeção ocorre de forma passiva através da ingestão de larvas L3. Apresentam um ciclo de vida monoxeno e são geohelminthas (Fortes, 2004; Bowman, 2014).

A família compreende os géneros: *Chabertia*, *Oesophagostomum* (Taylor *et al.*, 2016).

Género *Chabertia*

Nos pequenos ruminantes é geralmente aceite que só existe uma espécie, *Chabertia ovina*. Este parasita tem uma distribuição mundial, sendo mais prevalente em climas temperados (Taylor *et al.*, 2016). O seu tamanho varia entre 1,3 e 2cm e têm uma coloração esbranquiçada. A extremidade anterior é curvada ventralmente e ligeiramente pronunciada devido à dimensão da cápsula bucal. São os maiores nemátodes do cólon e geralmente estão presentes em baixo número. Os seus ovos apresentam um invólucro fino e liso, tamanho médio (100µm de comprimento), forma elíptica, polos amplos ligeiramente achatados e contêm entre 16 a 32 blastómeros. Possuem um ciclo de vida

direto, que pode ser dividido em fase de vida livre, exágena e fase parasitária, endógena (Taylor *et al.*, 2016).

Sinais clínicos

Estes parasitas são agentes da Síndrome de Gastroenterite Parasitária. No caso de infecções isoladas, geralmente não estão associados a sinais clínicos (Taylor *et al.*, 2016). Como se fixam na mucosa do cólon, alimentando-se de grandes porções de tecido, podem provocar edema na mucosa e congestão, petéquias e hemorragia nos locais de fixação, com consequente perda de proteína. Os sinais clínicos incluem, inicialmente, diarreia escura e/ou presença de muco, podendo os animais, nas infecções mais graves, desenvolver anemia, hipoalbuminemia e sofrer grandes perdas de peso (Mehlhorn *et al.*, 2001; Taylor *et al.*, 2016). Esta parasitose pode afetar a qualidade do velo, que se destaca com facilidade, provocando prejuízos económicos nos animais de aptidão lã (Fortes, 2004).

Epidemiologia

Nas regiões com clima temperado as larvas L3 podem resistir ao inverno, sobrevivendo no meio ambiente. As larvas também podem sobreviver ao inverno no estágio L4, em hipobiose na parede do intestino do hospedeiro (Urquhart *et al.*, 1996).

Género *Oesophagostomum*

Os parasitas pertencentes ao género *Oesophagostomum* possuem um elevado potencial patogénico. São responsáveis por enterites em ruminantes, mais relevantes nos climas tropicais e subtropicais, (Urquhart *et al.*, 1996; Amarante *et al.*, 2004).

São parasitas do intestino grosso, onde originam nódulos. O seu tamanho varia entre 1 a 2,3 cm, sendo visíveis a olho nu. Distinguem-se bem do género *Chabertia* pelo formato afilado da cabeça (Urquhart *et al.*, 1996; Amarante *et al.*, 2004). Apresentam uma cápsula bucal curta e cilíndrica e o orifício oral está rodeado por um anel e papilas cefálicas. Os ovos medem 89µm de comprimento, contêm 8 a 16 blastómeros e têm a forma de barril (Urquhart *et al.*, 1996; Fortes, 2004; Monteiro, 2017).

Os ovinos são parasitados por duas espécies, *Oesophagostomum columbianum* e *Oesophagostomum venulosum*. Nos climas mediterrânicos e em Portugal, a espécie associada aos pequenos ruminantes é *O. venulosum* (Urquhart *et al.* 1996)

Oesophagostomum columbianum

Ciclo de vida

Também este parasita apresenta duas fases distintas no seu ciclo evolutivo. Após a eclosão dos ovos as L3 surgem após 5 dias. Quando os animais, nas pastagens, ingerem as larvas L3, estas penetram na mucosa, tanto no intestino delgado, como no intestino grosso, originando a formação de nódulos evidentes, onde a larva sofre a muda para L4. As L4 emergem na superfície da mucosa e migram para o cólon. Nalguns casos estão descritas reinfeções causadas pela presença de L4 enquistada durante períodos de até 1 ano. Esta reinfeção normalmente é acompanhada de reações inflamatórias maiores, devido à anterior imunização dos animais e devido também ao aumento do tamanho dos nódulos (até 2cm) que contêm pus esverdeado eosinofílico (Urquhart *et al.*, 1996; Fortes, 2004).

Sinais clínicos

Os efeitos causados pelas larvas são mais importantes do que os causados pelo parasita adulto. A formação de nódulos origina uma reação inflamatória, que pode ser acompanhada de infeções bacterianas secundárias. A emergência das larvas L4 para o lúmen intestinal pode provocar colite ulcerativa. Estas alterações vão induzir sinais como febre, diarreia sanguinolenta e purulenta, perda de peso, emagrecimento, anemia devido à destruição dos enterócitos nas infeções graves e têm um efeito negativo na produção de carne e lã (Urquhart *et al.*, 1996; Fortes, 2004).

Epidemiologia

Em climas temperados estão descritos fenómenos de hipobiose de larvas de estágio L4, durante o outono e inverno, que mantêm a capacidade infetante até à primavera seguinte. Nesta espécie, também é possível que as larvas L3 sobrevivam às estações frias no pasto. O facto de as L4 conseguirem sobreviver profundamente enquistadas na mucosa do intestino durante períodos consideráveis, aliado à falta de imunidade dos hospedeiros, dificulta o seu tratamento e controlo, particularmente em climas temperados (Urquhart *et al.*, 1996).

Oesophagostomum venulosum

Esta espécie é muito semelhante a *O. columbianum* diferindo nos sinais clínicos, uma vez que não se observa a formação de nódulos. A infeção com este parasita

provoca petéquias e ulceração do intestino devido à sua forma de alimentação, e origina diarreia mucosa (Fortes, 2004).

Família Ancylostomatidae

Família de nemátodes com menos de 3cm e ampla cápsula bucal. Parasitam o intestino delgado dos ruminantes. São hematófagos e possuem um ciclo de vida monoxeno. Esta família está dividida em duas subfamílias, sendo a de interesse para esta dissertação a subfamília *Bunostominae* (Fortes, 2004; Monteiro, 2017).

Subfamília Bunostominae

Os parasitas desta subfamília vivem no intestino delgado dos ruminantes (Urquhart *et al.*, 1996). A extremidade anterior do corpo está curvada dorsalmente (Sancho, 2009) e a cápsula bucal possui duas lâminas semilunares cortantes, localizadas ventralmente (Fortes, 2004).

Gênero *Bunostomum*

Os parasitas deste gênero são afilados em ambas as extremidades, apresentam uma coloração amarelada ou avermelhada e possuem um esôfago claviforme bastante musculado (Fortes, 2004; Monteiro, 2007). Os ovos são arredondados nas extremidades, medem cerca de 150µm e têm um invólucro pegajoso, que facilita a sua aderência aos detritos fecais (Sarginson, 2008). Apresentam distribuição mundial, mas têm uma maior importância econômica em climas quentes, sobretudo no continente africano (Urquhart *et al.*, 1996; Taylor *et al.*, 2016). A espécie encontrada nos ovinos é *Bunostomum trigonocephalum* (Monteiro, 2017). O ciclo de vida é direto, os ovos são eliminados nas fezes contendo uma larva L1, que eclode e em poucos dias, através de duas mudas, atinge a forma L3 (infetante). Estas larvas mantêm-se nas fezes sendo a forma mais comum de infecção a via cutânea. Após penetrarem na pele dos hospedeiros, as larvas migram para a circulação e desenvolvem-se para L4 nos pulmões ou no coração. As larvas chegam à faringe através da árvore brônquica e são deglutidas com a tosse dos animais. A última muda para L5 ocorre no intestino delgado, local onde as larvas atingem o estágio adulto. Após a fecundação, são excretados ovos e o ciclo repete-se. A ingestão oral da forma infetante também pode ocorrer, mas é menos comum e menos eficiente (Fortes, 2004).

Sinais clínicos

Devido à migração para a corrente sanguínea por via cutânea, provocam dermatites com urticária no local de penetração das larvas e por isso os animais podem apresentar-se inquietos (Fortes, 2004). Como são parasitas hematófagos, os ovinos podem desenvolver anemia com hipoalbuminémia, perda de peso, fraqueza, mau estado geral, emaciação, perda de apetite e ocasionalmente diarreia. Esta pode ser de cor escura, devido a lesões na mucosa intestinal (Fortes, 2004; Taylor *et al.*, 2016). Frequentemente, observa-se edema submandibular e em casos de infecções graves pode ocorrer a morte dos animais (Taylor *et al.*, 2016).

Epidemiologia

As infecções mais graves ocorrem principalmente em regiões tropicais e subtropicais, com aumento da incidência no final da estação seca, aparentemente devido à maturação hipobiótica das larvas, sendo os animais jovens mais suscetíveis. Em climas temperados, as infecções são menos comuns e as desparasitações profiláticas para strongilídeos parecem influenciar a prevalência destes parasitas (Urquhart *et al.*, 1996).

Ordem Rhabditida

Os nemátodes desta ordem são pequenos e possuem um esófago rabditoide ou rabditiforme. Este é constituído por um corpo, seguido de um estreitamento ou istmo, que o separa do bulbo (Bowman, 2014). Trata-se de um grupo primitivo de nemátodes, sobretudo de vida livre ou parasitas de vertebrados inferiores e invertebrados (Taylor *et al.*, 2016).

Superfamília Rhabditoidea

Família Strongyloididae

Com apenas um género, *Strongyloides*, estes parasitas são encontrados em ruminantes, equinos, suínos, cães, gatos, roedores e humanos. Normalmente de pequenas dimensões, têm ciclos de vida livre e parasitário. As fases de vida livre apresentam esófago rabditoide, com presença de um bulbo posterior, enquanto as fases de vida parasitária apresentam um esófago cilíndrico, filariforme. Para além de um ciclo de vida parasitário, geralmente considerado partenogénico, o género *Strongyloides* pode

também ter um ciclo facultativo de vida livre envolvendo parasitas adultos machos e fêmeas (Foreyt, 2001; Fortes, 2004; Monteiro, 2017).

Género *Strongyloides*

As formas de vida livre habitam no solo e matéria fecal. As fêmeas medem cerca de 1,5mm e possuem dois ovários e dois úteros. Os machos são mais pequenos, medindo cerca de 0,7mm e possuem um par de papilas pré-cloacais, duas espículas e um gubernáculo. As formas parasitárias, apenas representadas pelas fêmeas, são maiores que as de vida livre, medindo até 9mm de comprimento (Urquhart *et al.*, 1996; Fortes, 2004).

Estes parasitas localizam-se no intestino delgado dos hospedeiros, maioritariamente, em animais muito jovens, podendo no caso de infeções maciças também ser encontrados no intestino grosso. Nutrem-se de células da mucosa do hospedeiro, bem como do líquido intersticial. Nos ovinos a espécie é *Strongyloides papillosus* (Urquhart *et al.*, 1996; Fortes, 2004).

Os ovos desta espécie são ovais, têm um invólucro fino e medem cerca de metade do tamanho dos ovos de EGI (40 a 70 µm de comprimento). Estes ovos quando eliminados pelas fêmeas encontram-se larvados (Urquhart *et al.*, 1996; Monteiro, 2017). O ciclo de vida destes nemátodes difere das restantes famílias, por apresentar duas vias distintas de infeção (Fortes, 2004; Monteiro, 2017).

O ciclo parasitário, também chamado de homogónico (só com presença de fêmeas), ocorre quando há postura de ovos por fêmeas partenogénicas fixas na mucosa do intestino delgado, ovos estes contendo uma larva L1. Depois de serem excretados, em condições de temperatura e humidade favoráveis, a eclosão de larvas rhabditóides ocorre num período de 6 horas. Depois de atingirem o estágio L3 infetam o hospedeiro por via transcutânea ou oral e migram através da circulação sanguínea até chegarem aos pulmões ou à traqueia, onde se desenvolvem para L4. Estas são deglutidas com a tosse dos animais e acabam por chegar ao duodeno onde evoluem para L5, originando fêmeas adultas que se fixam à mucosa e reiniciam o ciclo. Estas infeções também podem ocorrer em animais muito jovens devido à ingestão de larvas eliminadas no colostro (Fortes, 2004; Monteiro, 2007; Monteiro, 2017).

O ciclo de vida livre, também denominado heterogónico, ocorre na presença de parasitas adultos machos e fêmeas. Depois de serem eliminados, os ovos eclodem e sofrem quatro mudas (de L1 a L5) no exterior dando origem a adultos de vida livre

machos e fêmeas, de esôfago rabditiforme. Após a fecundação, os ovos podem desenvolver-se tanto para L3 de vida livre, como L3 com capacidade infetante (Monteiro, 2017).

Sinais clínicos

Como os parasitas se fixam no duodeno e jejuno, quando em grandes quantidades provocam inflamação, edema e erosão do epitélio, que resulta em enterite catarral com diminuição digestiva e absorção (Urquhart *et al.*, 1996). Os sinais clínicos dependem da idade do hospedeiro, do número de parasitas presentes e do estado imunológico dos animais (Fortes, 2004).

Estes parasitas raramente provocam doença nos ovinos, sendo frequentemente considerados comensais. No entanto, em infecções experimentais, alguns animais com elevado número de parasitas apresentaram desidratação, inapetência, perda de peso, emaciação, fraqueza, caquexia, diarreia mucosa e sanguinolenta, anemia, dificuldade respiratória, sinais neurológicos e morte (Urquhart *et al.*, 1996; Nakamura *et al.*, 1994 citado por Bowman, 2016)

Epidemiologia

As larvas infetantes têm baixa resistência a condições de temperatura e humidade adversas por não possuírem bainha. No entanto em climas mediterrânicos e nos estábulos, como estão menos expostas a estes fatores, podem desenvolver-se em grandes quantidades, sendo nocivas principalmente para borregos jovens. Por outro, as ovelhas progenitoras podem funcionar como reservatórios destes parasitas, facilitando a infeção dos animais recém-nascidos (Urquhart *et al.*, 1996).

Ordem Enoplida

Diferem dos outros nemátodes por não apresentarem cauda, terminando o corpo no ânus, o que lhes confere o aspeto de tubo cortado (Bowman, 2014).

Família Trichuridae

Parasitas encontrados no intestino grosso (ceco e cólon) dos mamíferos. Possuem morfologia distinta, em forma de chicote, sendo a porção anterior do corpo muito fina e longa, comparado com a porção posterior (Urquhart *et al.*, 1996;

Monteiro, 2017). Apresentam ciclo de vida monoxeno (Fortes, 2004), semelhante ao dos parasitas já abordados. Os ovos são muito resistentes e podem sobreviver durante anos nas pastagens (Urquhart *et al.*, 1996)

Género *Trichuris*

Este género inclui espécies parasitas de humanos, ruminantes, suínos, canídeos e felídeos (Fortes, 2004). As espécies encontradas nos ovinos são *Trichuris ovis*, *Trichuris globulosa* e *Trichuris discolor*, sendo as últimas mais comuns (Amarante *et al.*, 2004).

Os adultos podem medir entre 3 a 8 cm, sendo as fêmeas maiores que os machos (Monteiro, 2017). Os ovos têm a forma de limão, são bioperculados, de invólucro rígido e coloração característica, castanha, devido à impregnação com pigmentos biliares (Fortes, 2004; Taylor *et al.*, 2016). Alimentam-se do hospedeiro, através da liquefação dos tecidos circundantes, processo que ocorre por meio de uma substância histiolítica, segregada no esófago (Fortes, 2004).

Sinais clínicos

Embora, na sua maioria, as infeções sejam ligeiras e assintomáticas, foram descritos surtos isolados, seguidos de sinais clínicos graves, tais como dor abdominal, diarreia sanguinolenta e anemia. Estes podem manifestar-se no caso de elevadas cargas parasitárias, principalmente em animais jovens, devido a lesões da mucosa do ceco, provocadas pelo movimento contínuo da extremidade anterior do parasita na procura de alimento. Estas lesões podem ser fatais devido à perda de sangue e funcionar como porta de entrada para outros agentes patogénicos (Urquhart *et al.*, 1996; Foreyt, 2001; Taylor *et al.*, 2016; Monteiro, 2017).

Epidemiologia

O fator epidemiológico mais importante é a longevidade dos ovos de *Trichuris* no ambiente (Taylor *et al.*, 2016).

Tratamento de nemátodes gastrointestinais

O tratamento dos nemátodes gastrointestinais, segundo Taylor *et al.* (2016), é geralmente realizado com anti-helmínticos de largo espectro. As classes de antiparasitários mais utilizados a nível mundial são os benzimidazóis (grupo 1-BZ), os imidazotiazóis (grupo 2-LV) e as lactonas macrocíclicas (grupo 3-ML). No entanto, a facilidade de acesso levou também ao uso indiscriminado e muitas vezes inadequado destes fármacos, sem ter em consideração as necessidades reais de desparasitação. Assim, os resultados são frequentemente parciais ou insuficientes, obrigando a tratamentos repetidos, o que contribuiu para o desenvolvimento de resistências em todo o mundo. Nos pequenos ruminantes, a resistência aos anti-helmínticos é já considerada um problema grave, estando descrita para os três grupos de fármacos conforme demonstrado para os benzimidazóis (*Teladorsagia*, *Haemonchus*, *Cooperia* e *Trichostrongylus*), o levamisol (*Teladorsagia*, *Cooperia* e *Trichostrongylus*) e as avermectinas/milbemicinas (*Teladorsagia*) (Abbott *et al.*, 2012). Caso se verifique a presença de resistências na exploração, é necessário utilizar uma classe de anti-helmínticos diferente, recomendando-se de seguida a rotação entre classes de fármacos eficazes. Mais recentemente, duas novas classes de anti-helmínticos, o monepantel, uma molécula derivada do aminoacetonitrilo (grupo 4-AD), e o derquantel, pertencente à família dos espiroindóis (grupo 5-SI) em associação com a abamectina (3-ML) foram lançadas no mercado. Estes fármacos possuem novos modos de ação e constituem uma alternativa promissora para o controlo dos nemátodes gastrointestinais. Em Portugal, atualmente só se encontra disponível o mepantel. No entanto, apesar de aumentarem o arsenal de fármacos disponíveis no combate aos parasitas, continua a ser imperativo preservar a ação dos grupos existentes durante o máximo de tempo possível através de medidas destinadas a reduzir a dependência dos anti-helmínticos. É também essencial integrar os fármacos de nova geração de forma eficaz (tratamentos de associação), de forma a prolongar a eficácia dos grupos originais, em particular as 3-ML e também protegê-los contra o rápido desenvolvimento de resistência, salvaguardando-os para o futuro (Abbott *et al.*, 2012).

As desparasitações devem ser feitas de forma estratégica e de preferência recorrendo a técnicas que permitam avaliar a presença de parasitismo (coprologia), bem como a identificação dos parasitas envolvidos. A contagem de ovos nas fezes (do inglês

Fecal Egg Count, FEC) e a escala FAMACHA® são dois exemplos de técnicas que podem auxiliar na detecção de cargas de parasitas que justifiquem o tratamento.

A escala de cores no cartão FAMACHA® é um método útil no caso de infecções causadas por *Haemonchus contortus*. Trata-se de um sistema, desenvolvido por investigadores da África do Sul, que relaciona a coloração da mucosa ocular com o hematócrito dos animais. Esta escala classifica o grau de anemia em 5 níveis (1 a 5) em que 1 corresponde a animais com uma mucosa vermelha, não anémica e 5 corresponde a uma mucosa branca com grave anemia. Para animais com pontuações superiores ou iguais a 3 é recomendado o tratamento anti-helmintico. Na maioria dos animais a administração de uma dose é suficiente, no entanto estão descritos animais que necessitam de duas ou mais doses (van Wyk & Bath, 2002; Kaplan *et al.*, 2004).

Estas metodologias (exames coprológicos; tratamento seletivo dos animais; identificação de parasitas) embora mais demoradas e exigindo a presença e o trabalho do Médico Veterinário nas explorações, trarão vantagens no futuro, ao reduzir os custos com tratamentos desnecessários e prolongar a eficácia dos fármacos (Starkey & Pugh, 2021).

Classe Cestoda

Os céstodes são plathelminthas achatados dorsoventralmente com aspeto de fita. São desprovidos de cílios (apresentando a cutícula lisa) e não têm tubo digestivo. Possuem órgãos de adesão ao hospedeiro, nomeadamente ventosas e órgãos de fixação como os acúleos, situados na extremidade anterior do parasita (Fortes, 2004).

O corpo está dividido em 3 regiões: escólex, colo e estróbilo. O escólex encontra-se na porção anterior e destina-se à adesão ou fixação do céstode à parede intestinal do hospedeiro. O colo, designa uma zona mais fina e não segmentada, que liga a porção anterior (escólex) à porção posterior (estróbilo) e que corresponde à zona de crescimento do parasita. O estróbilo é formado por uma cadeia de segmentos chamados proglótides, que se distinguem em função do seu grau de maturação, da porção anterior para posterior. Assim, as proglótides jovens ou imaturas, localizam-se anteriormente e não possuem ainda órgãos reprodutores, enquanto as proglótides maduras, posteriores a estas, apresentam órgãos reprodutores diferenciados com um ou dois órgãos reprodutores, femininos e masculinos, razão pela qual os céstodes são hermafroditas (monóicos). As proglótides grávidas, contendo ovos e órgãos sexuais degenerados,

correspondem às últimas proglótides do estróbilo e são eliminadas nas fezes do hospedeiro (Fortes, 2004).

No caso dos ovinos, os céstodes intestinais mais relevantes no contexto da presente dissertação pertencem ao género *Moniezia*, família Anoplocephalidae, ordem Cyclophyllidae (de acordo com Schmidt (1986), citado por Amarante *et al.*, (2004))

Estes céstodes têm um ciclo de vida heteroxeno, tendo como hospedeiro definitivo (HD) os ruminantes e como hospedeiro intermediário (HI) ácaros oribatídeos, necessitando deste HI para completar o seu ciclo de vida (biohelmintas). O parasita adulto encontra-se no intestino delgado do HD (Fortes, 2004; Taylor *et al.*, 2016).

Género *Moniezia*

Os céstodes do género *Moniezia* parasitam diversas espécies de ruminantes. Até à data foram descritas e são aceites 15 espécies de *Moniezia*. As mais comuns nos ovinos são *Moniezia expansa* e *Moniezia benedeni*. Estas distinguem-se morfológicamente pela forma e organização das glândulas interproglotidianas (Tam *et al.*, 2019). Existem evidências de que *M. expansa* é um parasita preferencial dos ovinos, sendo incomum nos bovinos, ao contrário de *M. benedeni* que é um parasita preferencial dos bovinos, embora possa parasitar também os ovinos (Ba *et al.*, 1993; Suárez *et al.*, 2007)

Estes céstodes são comumente encontrados no intestino delgado dos ovinos, preferencialmente nas porções iniciais (Suárez *et al.*, 2007). Não se alimentam diretamente dos seus hospedeiros, em vez disso, absorvem os nutrientes presentes no lúmen do intestino através da sua cutícula (Sarginson, 2008). Podem atingir desde poucos milímetros até 6 metros de comprimento e 2,5 cm de diâmetro. Os ovos têm formato variável, podendo ser triangulares ou grosseiramente quadrangulares, e possuem uma estrutura em forma de pera, bem definida, o chamado aparelho piriforme, característico da família Anoplocephalidae (Urquhart *et al.*, 1996; Amarante *et al.*, 2004; Bowman, 2014). Os ovos de *M. expansa* têm uma forma triangular enquanto os de *M. benedeni* são quadrangulares e ligeiramente menores. Ambos possuem uma cápsula grossa e refringente e contêm uma oncosfera no interior do aparelho piriforme (Sancho, 2009). A oncosfera ou embrião hexacanto (com seis ganchos fixadores) corresponde à larva de primeira geração (Urquhart *et al.*, 1996; Sarginson, 2008).

Ciclo de Vida

O ciclo de vida deste parasita pode ser dividido em duas fases, uma exógena e uma endógena (Sancho *et al.*, 2009). A fase exógena, inicia-se com a expulsão dos segmentos grávidos (individualmente ou em cadeia) para o ambiente. Os ovos são libertados nas fezes através do poro genital das proglótides ou da sua desintegração e são ingeridos por ácaros de vida livre, maioritariamente da família Oribatidae (Sancho *et al.*, 2009; Amarante *et al.*, 2004; Taylor *et al.*, 2016). Já no interior do ácaro, a oncosfera liberta-se das camadas exteriores do ovo e migra para a hemocélula. Ao fim de cerca de 1 a 6 meses, desenvolve-se a larva cisticercóide, de segunda geração, que corresponde à forma infetante para o HD. A fase endógena inicia-se quando os ovinos ingerem ácaros oribatídeos presentes nas pastagens, infetados com larvas cisticercóides. No trato gastrointestinal do HD, os ácaros são digeridos libertando a larva cisticercóide. Esta fixa-se na mucosa intestinal dos animais, através de uma estrutura na porção anterior, denominada protoescolex. Após a fixação, o parasita começa a desenvolver as proglótides que, no espaço de 1 a 2 meses, chegam ao estágio grávido e começam a soltar-se ou libertar ovos nas fezes do HD, permitindo que o ciclo se repita (Urquhart *et al.*, 1996; Sarginson, 2008; Sancho, 2009; Amarante *et al.*, 2004; Monteiro, 2017; Santos, 2017). O parasita adulto tem uma vida curta de apenas 3 meses (Urquhart *et al.*, 1996).

Sinais clínicos

No geral, o potencial patogénico e impactos na produção atribuídos a *Moniezia* spp são baixos (Urquhart *et al.*, 1996).

Sendo maioritariamente uma infeção assintomática (Taylor *et al.*, 2016), muitas vezes o único sinal de parasitismo é a presença de proglótides nas fezes (Urquhart *et al.*, 1996). Embora em ensaios clínicos experimentais não tenham sido observados efeitos clínicos, mesmo com elevadas cargas parasitárias (Urquhart *et al.*, 1996), a infeção foi associada a mau estado geral, diarreia, perda de peso, diminuição da produção, sinais respiratórios e até mesmo convulsões e morte, principalmente em animais jovens (Mahin *et al.*, 1991; Quintas & Cardoso, 2012). Grandes quantidades de parasitas no intestino dos animais podem também provocar uma obstrução (Ullah *et al.*, 2013). Uma vez que estes parasitas consomem a vitamina B12, pré-formada no hospedeiro, os ovinos podem desenvolver hipovitaminose desta vitamina (Ramos, 2007).

Epidemiologia

Trata-se da parasitose mais comum em borregos (Urquhart *et al.*, 1996). A exposição prévia parece ser um fator importante no desenvolvimento de resistência a este parasita, visto que alguns animais parasitados na primavera, passados 4 a 5 meses não apresentam parasitismo. Entre rebanhos de diferentes raças observam-se frequentemente diferentes graus de infecção (Elliot, 1986). Os níveis de infecção podem sofrer variação sazonal, provavelmente devido à maior atividade do HI nos climas temperados durante o verão, no entanto a larva cisticercóide consegue sobreviver durante os meses de inverno no interior do ácaro (Taylor *et al.*, 2016).

Tratamento

Para o tratamento desta parasitose, recomenda-se geralmente o uso de benzimidazóis e pirazinoisoquinolonas, nomeadamente o praziquantel (Abbott *et al.*, 2012).

Controlo das Parasitoses gastrointestinais

Para além dos tratamentos profiláticos à base de anti-helmínticos, existem métodos alternativos que podem complementar e reduzir a sua utilização, entre eles: monitorizar FEC; evitar tratamentos com intervalos curto entre dosagens, evitar o tratamento agressivo de animais jovens, descendentes de ovelhas previamente desparasitadas; não tratar alguns dos animais para permitir que populações sensíveis de parasitas se mantenham em baixo número nas pastagens (os chamados refugia) promovendo assim a imunidade nos outros animais (não desparasitar cerca de 10% dos animais provou ser uma medida de controlo efetiva) (Abbott *et al.*, 2012).

Os fungos nematófagos apresentam-se também como uma alternativa sustentável ao controlo dos nemátodes. O fungo *Duddingtonia flagrans* aprisiona as larvas dos nemátodes recém-eclodidas quando forma hifas, impedindo que estas se alimentem e que migrem, acabando também por as digerir. Estudos em que se inocularam ovelhas com este fungo mostram que as contagens de larvas nas pastagens, bem como a contagem de ovos nas fezes diminuíram (Taylor *et al.*, 2016).

Muitos animais tornam-se mais resistentes a infecções primárias à medida que a sua idade avança. Existem também, cada vez mais evidências de que algumas raças são mais resistentes aos parasitas do que outras e que essa característica é determinada geneticamente. Na África do Sul, por exemplo, a raça Merina tem sido associada a resistência aos tricostrongilídeos. Mesmo dentro da mesma raça, estudos realizados na Austrália em animais Merina Australiana demonstraram que a resistência dos animais jovens às infecções por tricostrongilídeos varia e que essa resistência é transmitida aos descendentes. A seleção genética de animais resistentes, embora um método mais demorado e por vezes menos acessível, tem efeitos duradouros e revela um enorme potencial (Taylor *et al.*, 2016).

Para um controlo mais sustentável e eficaz, idealmente deveriam adotar-se tratamentos seletivos, avaliando para tal as cargas parasitárias individuais dos animais. Por outro lado, é também importante manter uma nutrição adequada dos animais, fortalecendo assim o seu sistema imunitário e conhecer a epidemiologia das parasitoses, bem como as condições climáticas da zona de produção (Monteiro, 2017). Limitar o acesso a zonas de pasto muito contaminadas, através das rotações de pastagens demonstrou ser uma forma de controlo eficaz. A introdução de animais em pastagens com baixas cargas de parasitas, confere um efeito estimulante sobre a imunidade dos animais (Sarginson, 2008; Monteiro, 2017). O controlo passa, também, por evitar que os animais permaneçam em condições precárias de higiene. Em animais estabulados, é importante ter em atenção a eliminação das fezes, bem como o arejamento do solo, mantendo-o seco para facilitar a degradação dos ovos dos parasitas (Monteiro, 2017).

Métodos de diagnóstico

Mesmo existindo um grande e atual interesse na serologia e métodos moleculares para o auxílio no diagnóstico de parasitoses gastrointestinais, o exame fecal para pesquisa de ovos ou larvas nas fezes continua a fazer parte de qualquer diagnóstico de rotina.

Para o diagnóstico de nemátodes e céstodes gastrointestinais utiliza-se comumente o método de flutuação. O princípio deste método baseia-se na flutuação dos ovos quando sujeitos a soluções com densidade superior à sua. Uma das soluções mais utilizadas é a solução saturada de Cloreto de Sódio (NaCl) (Taylor *et al.*, 2016).

A técnica de McMaster é vulgarmente utilizada para a determinação das cargas parasitárias, permitindo uma sensibilidade de 50 ovos por grama de fezes. No presente estudo optou-se pela técnica de Mini-Flotac, que assenta no mesmo princípio de flutuação, mas que devido às características inerentes à câmara de contagem permite uma sensibilidade maior, de 10 ovos por grama de fezes (Barda *et al.*, 2014).

As cargas parasitárias diagnosticadas expressas em ovos por grama de fezes (OPG) refletem a intensidade do parasitismo dos animais (Taylor *et al.* 2016). Contudo, é preciso ter em conta que nem sempre os animais com baixas contagens de ovos, apresentem baixos níveis de parasitismo, uma vez que o número de ovos eliminado nas fezes pode ser influenciado por diversos fatores, incluindo a imunidade do hospedeiro, ou o caso de infeções recentes, em que ainda não há eliminação de ovos (período pré-patente). Foram propostos vários níveis para a classificação do grau de parasitismo, tendo para efeitos do presente trabalho sido adotadas as contagens de ovos por grama de fezes constantes da tabela 1. Abbott *et al.* (2020) descrevem a necessidade de desparasitação dos animais, com base nas contagens obtidas pelos métodos de diagnóstico, de acordo com a tabela 2.

Tabela 1- Guia de interpretação do grau de infeção determinado por contagem dos ovos nas fezes (FEC) (Adaptado de Taylor *et al.*, 2016)

Parasitose	Grau de infeção – ovos por grama de fezes (OPG)		
	Leve	Moderado	Elevado
Infeção mista	<250	250 - 1000	>2000
Hemoncose	100-2500	2500 - 8000	>8000
Teladorsagiose	50-200	200-2000	>2000
Tricostrongilose	100-500	500-2000	>2000
Nematodirose	50-100	100-600	>600
Strongiloidose			10000

Tabela 2 – Necessidade de desparasitação, determinada por contagem dos ovos nas fezes (FEC) (Adaptado de Abbott *et al.*, 2020)

FEC	Ação
OPG < 350	Tratamento não sugerido
350 – 650 OPG	Tratamento sugerido como benéfico para o animal
OPG > 650	Tratamento necessário

Objetivos do estudo

Este trabalho teve como objetivos estudar a prevalência e cargas parasitárias de nemátodes e céstodes gastrointestinais em ovinos das raças Merina Branca e Merina Preta. Os resultados obtidos serão utilizados no âmbito do projeto MERINOpasite para selecionar os animais mais resistentes e mais suscetíveis às parasitoses, com o objetivo de identificar marcadores genéticos associados à resistência aos parasitas internos com potencial aplicação em futuros programas de seleção e melhoramento genético destas raças.

Material e Métodos

O estudo que serviu de base para esta tese foi realizado no Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV), em Oeiras. Decorreu no período entre 16 de setembro de 2019 e 6 de março de 2020.

Amostragem e colheita de amostras

Foram colhidas amostras de ovinos das raças Merina Branca e Merina Preta criados em sistema de extensivo, em 20 explorações diferentes (13 explorações de ovinos da raça Merina Branca e 7 explorações da raça Merina Preta), distribuídas pela região do Alentejo (tabela 3). Deu-se prioridade à colheita de amostras de animais jovens (mediana de idades de 8 meses), naturalmente mais suscetíveis ao parasitismo e consequentemente mais parasitados. Todos os animais tinham sido desparasitados há mais de dois meses, com uma média de desparasitações de duas vezes por ano. As amostras de fezes foram colhidas diretamente da ampola retal de 313 animais (243 Merina Branca e 70 Merina Preta), evitando a sua contaminação com o solo. Foram também recolhidas amostra sanguíneas, da veia jugular, para realização de hemograma, análises bioquímicas e pesquisa de hemoparasitas e ainda foi aferida a pontuação FAMACHA®. As amostras de fezes foram transferidas para sacos de plástico, identificados com o número da marca auricular, bem como a data da colheita, e armazenadas numa caixa térmica, contendo acumuladores de frio, de forma a evitar o aumento da temperatura e consequente eclosão dos ovos dos parasitas.

Tabela 3 – Distribuição das explorações de raça Merina Branca por concelho e freguesia

Concelho	Freguesia	Nº animais	Nº explorações
Arraiolos	São Pedro de Gafanho	10	1
Estremoz	União de São Bento do Cortiço e Santo Estevão	19	1
Évora	Nossa Senhora de Machede	5	1

	São Sebastião da Giesteira	19	1
	Torre Coelheiras	27	1
Fronteira	Fronteira	31	2
Mora	Brotas	52	2
Serpa	Pias	29	1
Sousel	Casa Branca	10	1
	Santo Amaro	10	1
Vendas Novas	Vendas Novas	31	1
Total	-----	243	13

Tabela 4 – Distribuição das explorações de raça Merina Preta por concelho e freguesia

Concelho	Freguesia	Nº animais	Nº explorações
Campo Maior	São João Baptista	26	1
Crato	Crato	11	1
Montemor-o-Novo	Cíborro	4	1
	Foros de Vale Figueira	12	1
Mora	Pavia	5	2
Vidigueira	Selmes	12	1
Total	-----	70	7

Análise das amostras

Para efeitos da presente dissertação será abordado o diagnóstico de nemátodes e céstodes gastrointestinais, pela técnica do Mini-Flotac.

Técnica do Mini-Flotac

Para esta técnica pesaram-se 5g de fezes de cada um dos animais em copos de vidro, numa balança de precisão. A amostra foi cuidadosamente homogeneizada e adicionada com 45ml de solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) obtendo-se uma diluição de 1 para 10 (correspondendo a 1g de fezes por 10 ml de solução saturada). A suspensão foi transferida para um tubo Falcon de 50 ml através de um crivo (crivo de chá), de forma a reter as impurezas mais grosseiras, deixando passar os ovos. Com ajuda de uma pipeta de Pasteur descartável, transferiu-se 1 ml da suspensão para uma das câmaras do dispositivo Mini-Flotac. Após 10 minutos, o disco do dispositivo foi rodado, ficando os ovos aderentes à parte superior da câmara. O dispositivo Mini-Flotac foi encaixado num suporte próprio para observação ao microscópio ótico e foi realizada a contagem dos ovos, com ajuda de um contador diferencial de leucócitos adaptado para o efeito. O número de ovos em cada câmara foi multiplicado por 10 (de acordo com a diluição inicial) de forma a obter os valores de Ovos Por Grama de fezes (OPG).

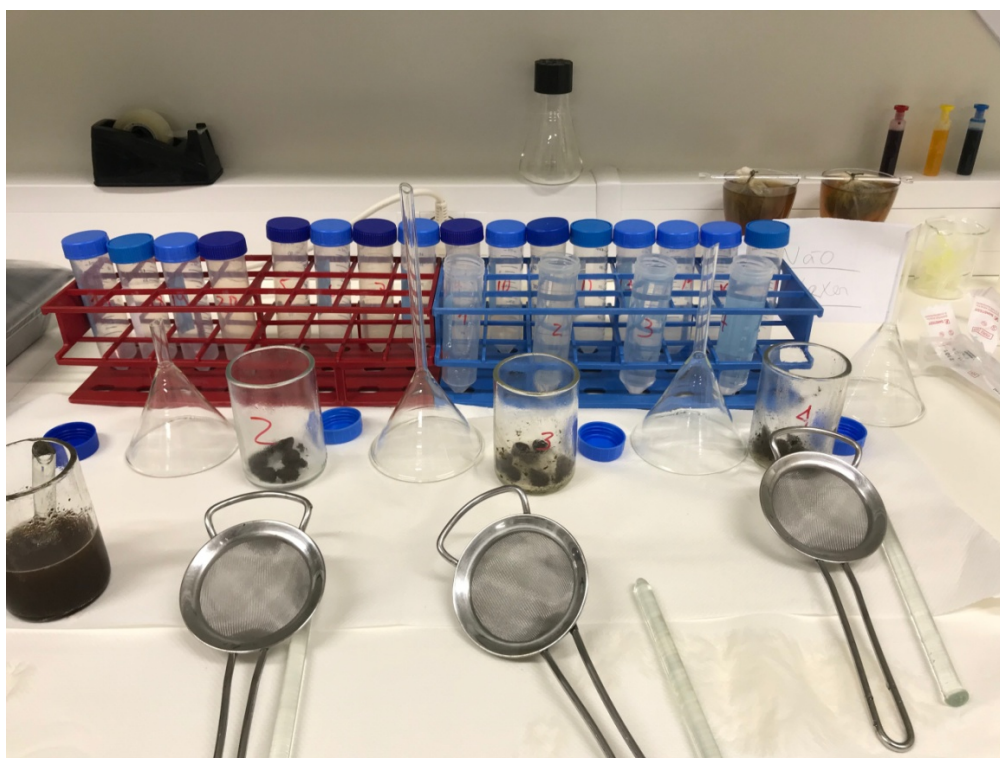


Figura 4 – Preparação técnica do Mini-Flotac, fotografia original do autor

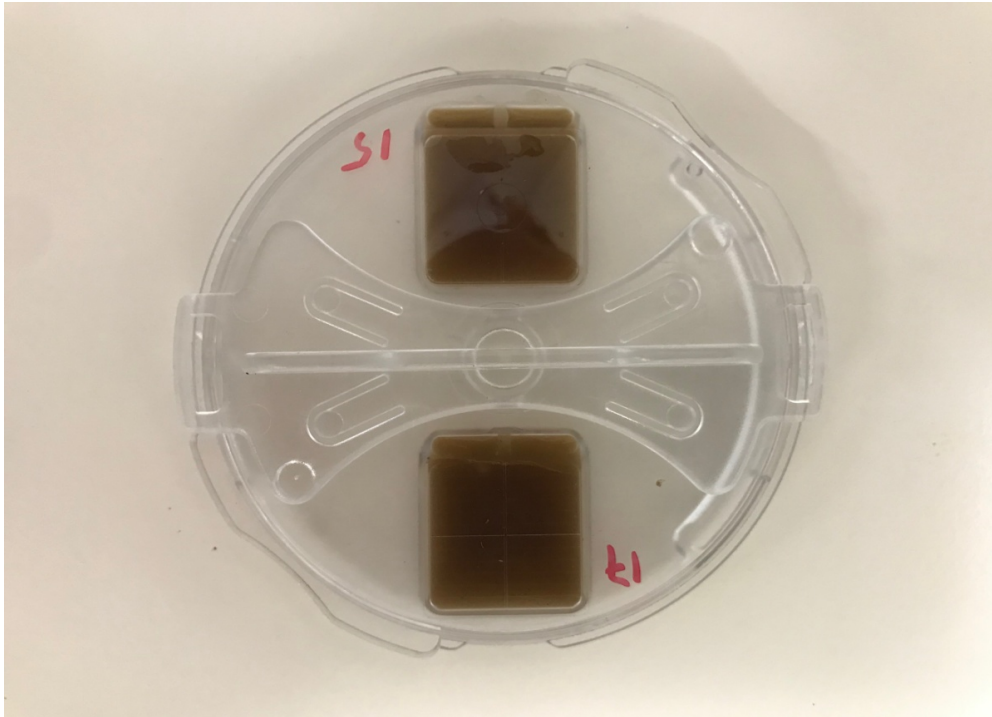


Figura 5 – Dispositivo Mini-Flotac, fotografia original do autor

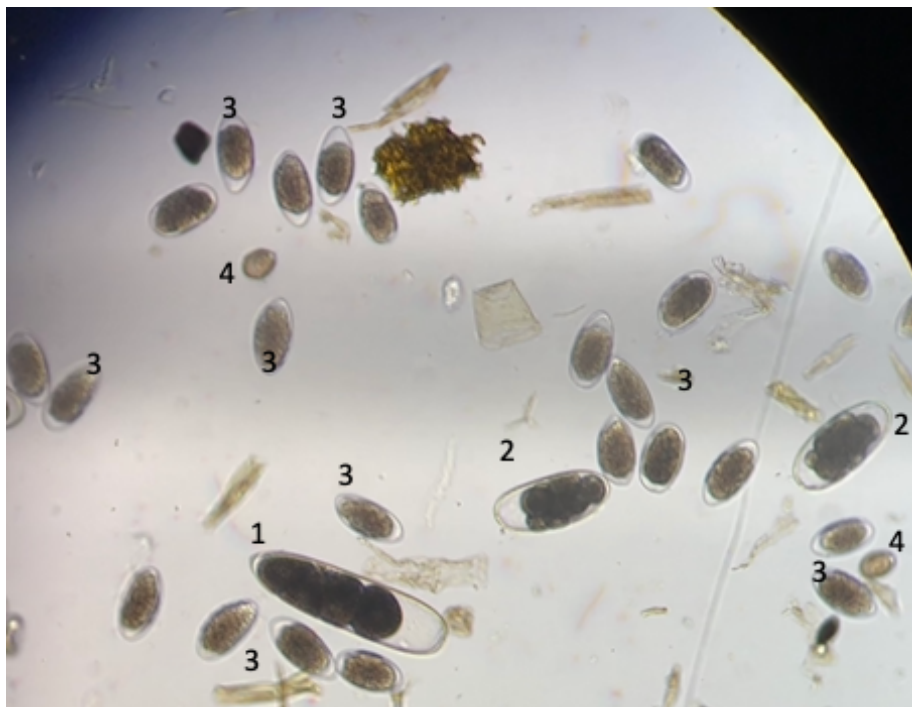


Figura 6 – Ovos de EGI (3), *Nematodirus spp* (1,2) e oocistos de *Eimeria intracta* (4) (40x),
fotografia original do autor

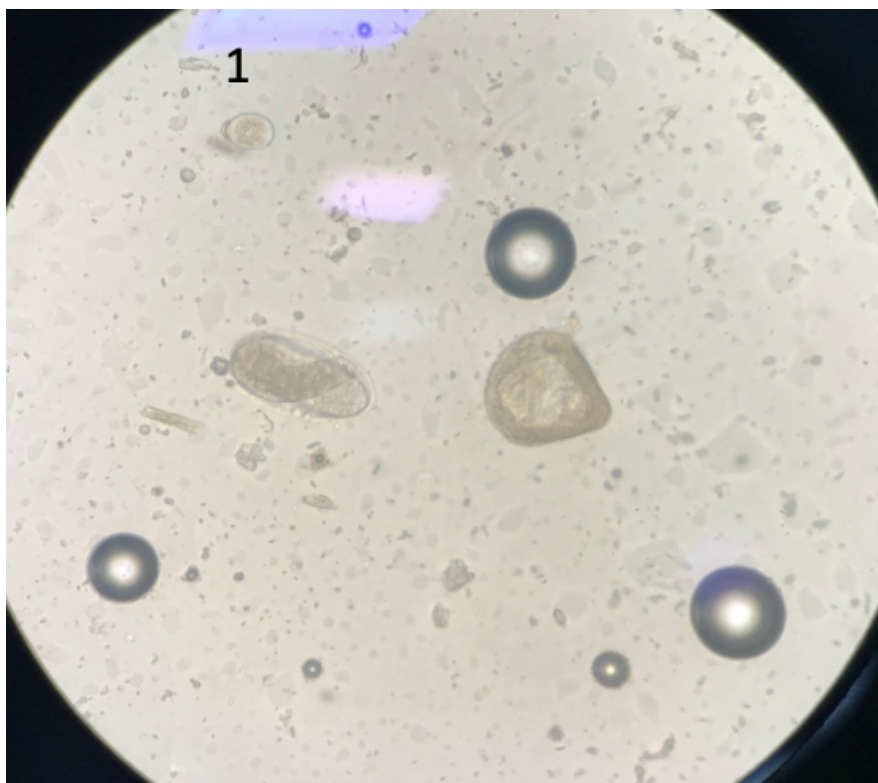


Figura 7 – Ovo de *Moniezia* sp, ovo de EGI embrionado e oocisto de *Eimeria* spp.(1) (40x),
fotografia original do autor

Armazenamento e Organização dos dados

Armazenamento dos dados

Os dados foram inseridos numa base de dados com ajuda de uma aplicação informática (*backoffice*), desenvolvida pelo departamento de informática do INIAV de Oeiras. Esta base de dados reunia diversas informações individuais dos animais, bem como dados da exploração obtidos com recurso a um questionário feito no início de cada colheita. As variáveis registadas na base de dados incluíram, entre outras, o ganho médio diário, a idade (em dias), o sexo e número de animais da exploração, a presença de outras espécies animais na exploração, o número de desparasitações por ano, o último anti-parasitário utilizado, a presença de lagos/lagoas/charcos, o tamanho do efetivo, a área de pastagem disponível e a pontuação na escala FAMACHA®.

Análise de dados

A base de dados foi descarregada do *backoffice* em formato Excel. A análise estatística dos dados foi realizada com o software estatístico R (versão 4.1.0) e R Studio

(versão 1.4). Adotou-se $p \leq 0,05$ como nível de significância. A prevalência de animais parasitados foi determinada, dividindo o número de animais positivos para os diferentes parasitas gastrointestinais identificados pela técnica de Mini-Flotac pelo número de animais analisados. A prevalência de explorações infetadas foi determinada dividindo o número de explorações positivas para os diferentes parasitas gastrointestinais pelo número de explorações analisadas. Os intervalos de confiança para as prevalências foram calculados com recurso ao software estatístico de acesso livre - EPITOOLS (<https://epitools.ausvet.com.au>).

As prevalências das diferentes espécies parasitárias foram comparadas entre raças através do teste de Qui-quadrado. A normalidade da distribuição das cargas parasitárias foi verificada com o teste de Shapiro-Wilk. Rejeitada a hipótese de normalidade, utilizou-se o teste não paramétrico de Wilcoxon para comparar os graus de infeção entre raças. Posteriormente, compararam-se as cargas parasitárias com um modelo de regressão misto com uma função de ligação binomial negativa, usando como fator aleatório a exploração, para levar em conta a falta de independência das explorações, e como fator fixo a raça.

Resultados

Prevalência de parasitas gastrointestinais (classes Nematoda e Cestoda)

Na raça Merina Branca, do total de animais analisados (n =243) 91,35% (IC95%: 87,15%-94,28%) encontravam-se parasitados com um ou mais géneros de parasitas.

Em relação às diferentes parasitoses diagnosticadas, 87% dos animais encontravam-se parasitados com EGI, 21% com *Nematodirus*, 19% com *Strongyloides*, 17% com *Moniezia* e 3% com *Trichuris*. Ao nível das explorações, em todas foram detetadas infeções por EGI, 62% apresentavam infeções por *Nematodirus*, 77% por *Strongyloides*, 62% por *Moniezia* e 31% por *Trichuris*, (Tabela 5)

Tabela 5 – Raça Merina Branca: Prevalência (%) de parasitas gastrointestinais (classes Nematoda e Cestoda) ao nível dos animais e das explorações e respetivos intervalos de confiança (IC)

	Ovinos				Explorações			
	N	Positivos	%	IC (%)	N	Positivas	%	IC (%)
Nematoda	243				13			
EGI		212	87	82,5 - 91,0		13	100	77, 2 - 100
<i>Trichuris</i>		8	3	1,7 - 6,4		4	31	12,7 - 57,6
<i>Strongyloides</i>		45	19	14,1 - 24,0		10	77	49,7 - 91,8
<i>Nematodirus</i>		52	21	16,7 - 27,0		8	62	35,5 - 82,3
Cestoda								
<i>Moniezia spp</i>		41	17	12,7 - 22,1		8	62	35,5 - 82,3

Em relação à raça Merina Preta, do total de animais analisados (n=70) 82,85% (IC 95%: 72,38% – 89,91%) encontravam-se parasitados com um ou mais géneros de parasitas. Em relação às diferentes parasitoses diagnosticadas, 80% dos animais encontravam-se parasitados com EGI, 34% com *Strongyloides*, 9% com *Nematodirus*, 9% com *Moniezia* e 1% com *Trichuris*. Ao nível das explorações, em todas foram detetadas infeções por EGI, 43% apresentavam infeções por *Nematodirus*, 71% por *Strongyloides*, 57% por *Moniezia* e 14% por *Trichuris*, (Tabela 6)

Tabela 6 – Raça Merina Preta: Prevalência (%) de parasitas gastrointestinais (classes Nematoda e Cestoda) ao nível dos animais e das explorações e respetivos intervalos de confiança (IC)

	Ovinos				Explorações			
	N	Positivos	%	IC (%)	N	Positivas	%	IC (%)
Nematoda	70				7			
EGI		56	80	69,2 - 87,7		7	100	64,6 - 100
<i>Trichuris</i>		1	1	0,25 - 7,7		1	14	2,6 - 51,3
<i>Strongyloides</i>		24	34	24,3 - 45,9		5	71	35,9 - 91,8
<i>Nematodirus</i>		6	9	4,0 - 17,5		3	43	15,8 - 75,0
Cestoda	70				7			
<i>Moniezia</i> spp		6	9	4,0 - 17,5		4	57	25,1 - 84,2

No geral, com exceção dos animais infetados com *Strongyloides*, a prevalência de parasitas gastrointestinais foi mais baixa na raça Merina Preta, quer ao nível dos animais, quer ao nível das explorações (Gráficos 1 e 2).

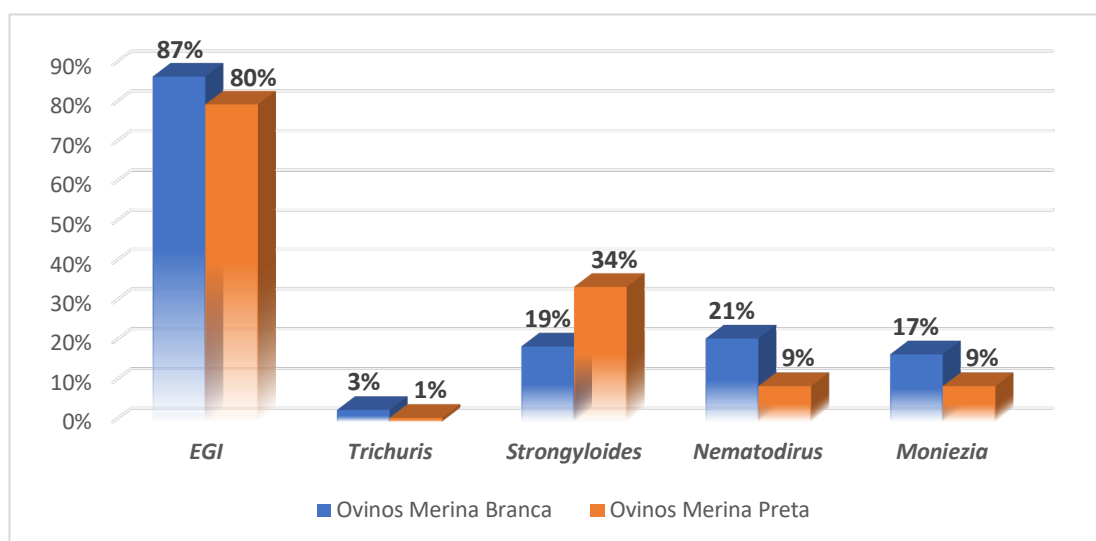


Gráfico 1 – Prevalência (%) animal de parasitas gastrointestinais nas raças Merina Preta e Merina Branca

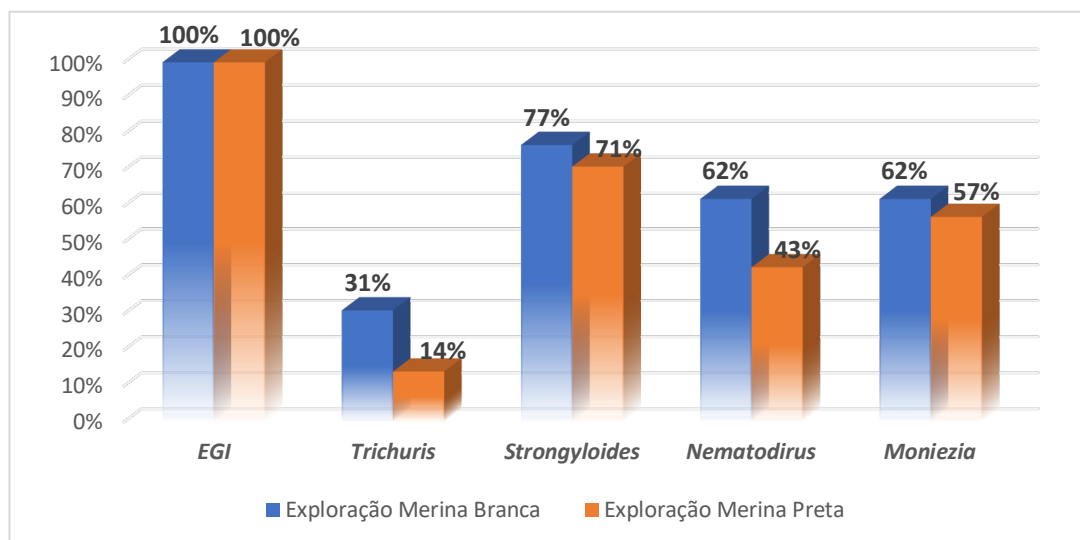


Gráfico 2 – Prevalência (%) de explorações infetadas com diferentes espécies de parasitas gastrointestinais em relação à raça dos animais

No entanto, as diferenças observadas não foram estatisticamente significativas, nem pelo teste do Qui-quadrado, nem aplicado o modelo de regressão mista levando em conta o efeito da exploração.

Cargas parasitárias

Na análise das cargas parasitárias, as contagens de ovos foram superiores na raça Merina Branca comparativamente à raça Merina Preta. Nos animais da raça Merina Branca infetados com nemátodes gastrointestinais, as contagens variaram entre 0 – 2780 OPG, com uma média de 473 OPG e uma mediana de 300 OPG. Nos animais da raça Merina Preta, as contagens variaram entre 0 – 1380 OPG, com uma média de 188 OPG e uma mediana de 40 OPG (gráfico 3).

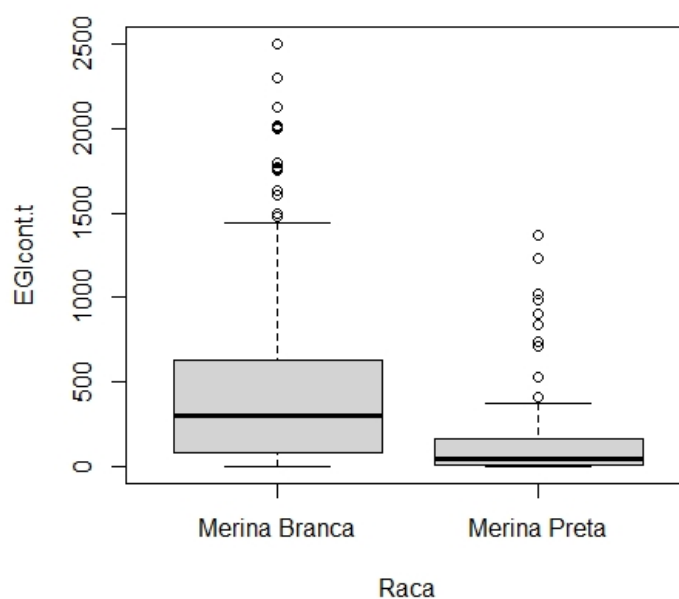


Gráfico 3 - Boxplot das contagens de ovos de nemátodes (em OPG) nas raças Merina Branca e Merina Preta.

(Legenda: EGlcont.t – Contagem total do número de ovos de nemátodes; Raca – Raça.)

Também na análise das cargas parasitárias de céstodes, as contagens de ovos foram superiores na raça Merina Branca comparativamente à raça Merina Preta. Nos animais da raça Merina Branca infetados com *Moniezia*, as contagens variaram entre 0 – 3060 OPG, com uma média de 42 OPG e uma mediana de 0 OPG. Nos animais da raça Merina Preta, as contagens variaram entre 0 – 1430 OPG, com uma média de 40 OPG e uma mediana de 0 OPG (gráfico 4).

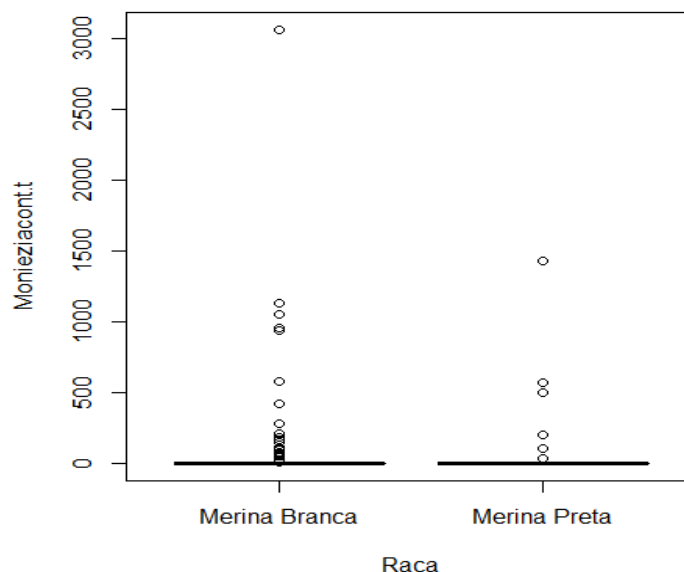


Gráfico 4 - Boxplot das contagens de ovos de céstodes (em OPG) nas raças Merina Branca e Merina Preta.
(Legenda: Monieziacont. – Contagem total do número de ovos de *Moniezia*; Raca – Raça.)

No entanto, a aparente associação entre as contagens e a raça, corroborada pelo teste não paramétrico de Wilcoxon ($p < 0,05$), deixou de existir, quando levado em conta o efeito fixo da exploração utilizado o modelo misto de regressão binomial negativa.

A tabela 7 apresenta o número de animais com baixas, médias e elevadas cargas parasitárias em cada exploração de acordo com a classificação de Abbott *et al.* (2020), bem como número de animais cuja desparasitação seria recomendável.

Tabela 7 – Número de animais com cargas parasitárias baixas, médias e elevadas nas diferentes explorações amostradas e número de animais com necessidade de desparasitação

Exploração	Nº animais	Nº animais			Necessidade desparasitação (>= 350 OPG)
		Leve (OPG<=350)	Moderado (350<OPG<650)	Elevado (>650 OPG)	
A	10	6	3	1	4
B	31	3	8	20	28
C	17	8	5	4	9
D	19	9	9	1	10
E	35	14	19	2	21
F	10	8	1	1	2

G	9	7	2	0	2
H	5	4	1	0	1
I	26	26	0	0	0
J	10	8	1	1	2
K	1	0	1	0	1
L	4	2	1	1	2
M	12	11	1	0	1
N	11	6	1	4	5
O	12	11	0	1	1
P	22	5	3	14	17
Q	4	0	0	4	4
R	29	29	0	0	0
S	27	21	3	3	6
T	19	0	2	17	19
Total	313	178	61	74	135

Legenda: sombreado representa explorações de Merina Preta

O gráfico 5 resume, em percentagem, os resultados da tabela 6, podendo verificar-se que mais de metade dos animais (57%) apresentavam baixas cargas parasitárias, sendo que apenas 43% necessitariam de ser desparasitados.

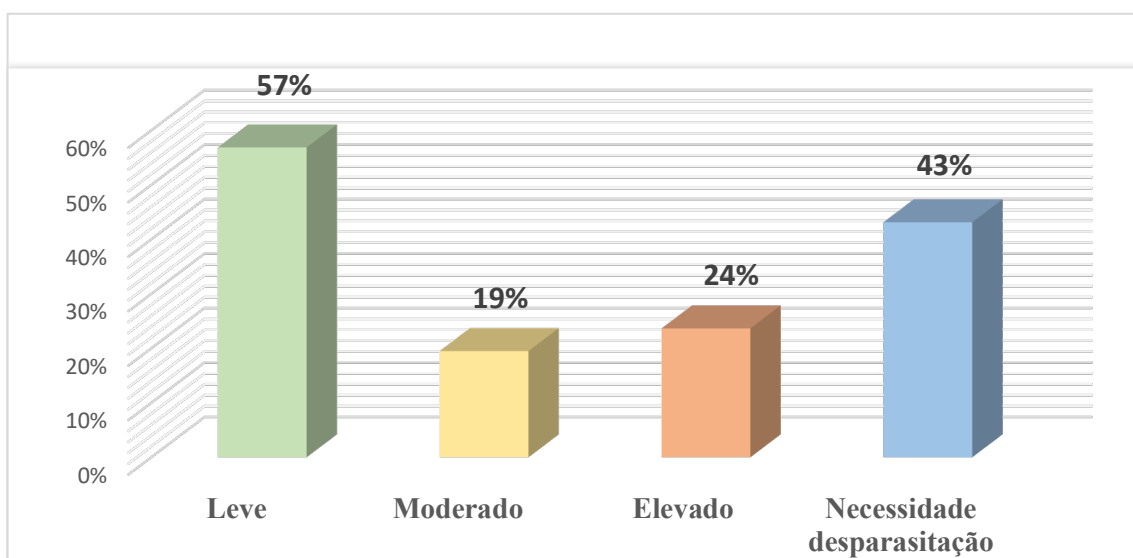


Gráfico 5 – Percentagem total de animais com infeções leves, moderadas e elevadas

Discussão dos resultados

No que diz respeito à presença de parasitismo nas raças Merina Branca e Merina Preta estudadas no presente trabalho, verificou-se que a maioria dos animais apresentava infeções por estrongilídeos gastrointestinais, seguido de parasitas pertencentes aos géneros *Strongyloides*, *Nematodirus*, *Moniezia* e *Trichuris*. De acordo com várias fontes bibliográficas e, mais recentemente, Starkey e Pugh (2021), o predomínio de EGI sobre os outros nemátodes gastrointestinais é uma tendência observada globalmente em ovinos mantidos em condições semelhantes de regime extensivo e clima temperado.

Também em Portugal, apesar da escassez de estudos em ovinos, esta relação foi observada anteriormente, num estudo realizado por Branco *et al.* (2018).

O facto de, no presente estudo, se ter constatado a ocorrência de EGI em todas as explorações e nem todos os animais estarem parasitados (87% dos animais da raça Merina Branca e 80% da raça Merina Preta), poderá ser justificado pela resistência natural de alguns animais à infeção por parasitas gastrointestinais (Taylor *et al.*, 2016). Por outro lado, poderão tratar-se também de infeções pré-patentes e por consequência não haver, no momento da colheita, excreção de ovos (Urquhart *et al.*, 1996).

Embora não seja possível identificar a maioria dos ovos de EGI ao nível do género, os ovos de *Nematodirus*, devido ao seu aspeto característico e distinto foram contabilizados à parte dos restantes parasitas da Ordem Strongylida.

Com 21% dos animais da raça Merina Branca (62% das explorações) e 9% dos animais da raça Merina Preta (43% explorações) positivos, estes resultados poderão ser explicados por um certo grau de imunidade adquirido pela exposição prévia a baixas quantidades de larvas infetantes destes parasitas, tal como referido por Sarginson (2008). Ao mesmo tempo, foi demonstrado que a eclosão de *Nematodirus* spp. ocorre dentro de uma gama de temperaturas específica da espécie (11-17 °C para *N. battus* e 6-20 °C para *N. filicollis*) e que, dependendo da espécie e da localização geográfica, os períodos de frio prolongados podem ser importantes para desencadear a eclosão (Kutz *et al.*, 2012). Assim, as condições climáticas próprias da região do Alentejo poderão ser menos propícias ao ciclo de vida deste parasita.

O género *Strongyloides* é normalmente considerado um comensal dos ovinos (Urquhart *et al.*, 1996) não se lhe atribuindo grande importância clínica (Starkey & Pugh, 2021). Neste estudo, a raça Merina Preta apresentou um maior número de animais

positivos (34%) em comparação com a Merina Branca (19%), no entanto, sem atingir significância estatística.

A relevância clínica do género *Trichuris*, é igualmente pouco expressiva (Starkey & Pugh, 2021), sendo apenas de notar a longevidade dos ovos deste parasita no ambiente (Taylor *et al.*, 2016). De acordo com observações feitas por outros autores, a prevalência de *Trichuris* é geralmente baixa (Urquhart *et al.*, 1996; Taylor *et al.*, 2016), tal como se verificou no presente estudo, com uma prevalência de 3% na raça Merina Branca e 1% na raça Merina Preta.

Os animais infetados com *Moniezia* são indicativos da presença de ácaros da família Oribatidae (hospedeiro intermediário deste céstode) nas áreas de pastagem (Taylor *et al.*, 2016). Embora a percentagem de animais infetados tenha sido relativamente baixa (17% na raça Merina Branca e 9% na raça Merina Preta), mais de metade das explorações eram positivas (gráfico 2), mostrando a ampla dispersão deste parasita na região.

A determinação das cargas parasitárias pela técnica Mini-Flotac revelou contagens de ovos superiores na raça Merina Branca, comparativamente à raça Merina Preta, tanto no que diz respeito aos ovos de nemátodes gastrointestinais como de céstodes (gráficos 3 e 4). No entanto, ao aplicar o modelo de regressão misto, usando como fator aleatório a exploração para levar em conta a falta de independência das explorações (apenas alguns indivíduos pertenciam às mesmas explorações) e como fator fixo a raça, a variância associada à raça não foi mais significativa do que aquela associada ao facto de serem explorações diferentes. Daqui se conclui que existem fatores nas explorações que não controlamos e que poderão influenciar as contagens. Assim, embora a raça Merina Preta seja tradicionalmente considerada mais rústica e mais resistente às adversidades do meio e do sistema extensivo de exploração (ANCORME, 2021) os presentes dados não permitem confirmar a maior resistência ao parasitismo gastrointestinal. Para tal serão necessários mais estudos envolvendo um maior número de explorações com animais de ambas as raças e expostas aos mesmos fatores (de manejo, edafoclimáticos e outros).

No que respeita a gravidade das infeções observadas nas explorações, classificada em baixa, média ou elevada, segundo Abbott *et al.* (2020), verificou-se que a maioria dos ovinos (57%) apresentava baixo parasitismo ($OPG < 350$), sendo que menos de metade (43%) do total de animais necessitaria efetivamente de ser desparasitado (gráfico 5). A classificação de Abbott foi preferida em oposição à

classificação proposta por Taylor *et al.* (2016), que prevê limites superiores a 1000 OPG para infecções moderadas a graves, por apresentar intervalos de valores mais rigorosos. Neste estudo observou-se, conforme esperado, uma agregação parasitária nos animais estudados, evidenciada pelas baixas cargas parasitárias na maioria dos animais, enquanto apenas uma minoria apresentava um elevado grau de parasitismo. A distribuição agregada nos hospedeiros é uma característica determinante das populações de parasitas metazoários, sendo esta agregação atribuída à heterogeneidade entre os hospedeiros em termos de exposição ou suscetibilidade à infecção (Poulin, 2012). Por conseguinte, considerando que no presente estudo os animais na mesma exploração estariam expostos a condições de infecção idênticas, as diferenças nas cargas parasitárias observadas poderão ser explicadas pelos diferentes graus de resistência dos animais aos parasitas. De facto, num estudo realizado na Austrália (Taylor *et al.*, 2016) verificou-se que borregos da raça Merina Australiana apresentavam diferentes respostas de resistência a *Trichostrongylus colubriformis*, e que essa característica era transmitida à descendência. Da mesma forma, os rebanhos estudados poderão também integrar animais resistentes a determinados parasitas.

Isto será explorado na continuação do estudo, utilizando os dados gerados, para seleccionar os animais fenotipicamente mais suscetíveis e mais resistentes ao parasitismo gastrointestinal (com base na contagem de OPG), com o objetivo de identificar marcadores genéticos de resistência aos parasitas.

Conclusão

O presente trabalho teve como objetivo a avaliação do parasitismo gastrointestinal em amostras de fezes colhidas de animais de duas raças ovinas portuguesas, a Merina Branca (n= 243) e a Merina Preta (n=70), provenientes de um total de 20 explorações na região do Alentejo.

O estudo baseou-se numa análise qualitativa e quantitativa de ovos de nemátodes e céstodes gastrointestinais, tanto ao nível dos animais, como das explorações, tendo os resultados sido comparados em função da raça.

Conclui-se que a grande maioria dos animais das raças Merina Branca e Merina Preta, 91% e 83% respetivamente, se encontravam parasitados por um ou mais géneros de parasitas. Os parasitas mais frequentemente observados foram os *estrongilídeos* gastrointestinais (87% Merina Branca; 80% Merina Preta) seguidos dos géneros *Strongyloides* (19% Merina Branca; 34% Merina Preta;), *Nematodirus* (21% Merina Branca; 9% Merina Preta), *Moniezia* (17% Merina Branca; 9% Merina Preta) e *Trichuris* (3% Merina Branca; 1% Merina Preta)

Verificou-se que, tanto em termos de prevalência, como de contagem de ovos nas fezes, o parasitismo na raça Merina Branca foi superior ao da Merina Preta, embora as diferenças assinaladas não tenham atingido significado estatístico.

Face a estes resultados, considerando que os animais das duas raças foram amostrados em explorações diferentes, no futuro, será importante, estudar o parasitismo destas raças em explorações mistas, onde os animais estejam expostos às mesmas condições, de forma a reduzir a variabilidade entre explorações e perceber melhor o efeito da raça na resistência aos parasitas. Por outro lado, poderá ser útil aumentar o tamanho da amostra de forma a detetar efeitos estatisticamente significativos, e registar outras variáveis fenotípicas de resistência aos parasitas relevantes, incluindo a condição corporal dos animais, a qualidade da lã e consistência das fezes aquando da colheita.

Este trabalho contribui para o conhecimento na área da parasitologia dos ovinos ao avaliar não só a frequência, como também a intensidade do parasitismo nas raças autóctones portuguesas Merina Branca e Merina Preta, onde escasseiam os estudos.

Ao demonstrar os diferentes graus de parasitismo e consequentes necessidades reais de desparasitação nas explorações estudadas, espera-se que os resultados obtidos

possam contribuir para uma maior consciencialização sobre a utilização racional dos anti-helmínticos, de forma a atrasar o desenvolvimento de resistências, condição para uma produção animal mais sustentável e bem-estar animal.

Para os produtores isto significará uma redução dos custos e aumento de produtividade, ao mesmo tempo, poderá proporcionar produtos mais saudáveis e atrativos para o consumidor.

Referências Bibliográficas

- Abbott, K. A., Taylor, M., & Stubbings, L. A. (2012). Sustainable worm control strategies for sheep. A technical manual for veterinary surgeons and advisers.
- Amarante, A. F. T. D., Ragozo, A., & Silva, B. F. D. (2004). Os parasitas de ovinos. São Paulo; Editora Unesp Digital
- ARNCORME. (2008). Acedido em 20 de janeiro de 2020, em <https://merina.pt/conteudo.php?idm=2>
- Ba, C. T., Wang, X. Q., Renaud, F., Euzet, L., Marchand, B., & De Meeüs, T. (1993). Diversity and specificity in cestodes of the genus *Moniezia*: genetic evidence. International Journal for Parasitology, 23(7), 853–857. doi:10.1016/0020-7519(93)90049-5
- Barda, B., Cajal, P., Villagran, E., Cimino, R., Juarez, M., Krolewiecki, A., ... & Albonico, M. (2014). Mini-FLOTAC, Kato-Katz and McMaster: three methods, one goal; highlights from north Argentina. Parasites & vectors, 7(1), 1-7.
- Demeler, J., Ramünke, S., Wolken, S., Ianiello, D., Rinaldi, L., Gahutu, J. B., ... Krücken, J. (2013). Discrimination of gastrointestinal nematode eggs from crude fecal egg preparations by inhibitor-resistant conventional and real-time PCR. PloS one, 8(4), e61285.
- Bowman, D.D., Lynn, R.C. & Eberhard, M.L. (2014). Georgy's Parasitology for Veterinarians. (Eighth Edition). St. Louis, Missouri: Elsevier Science, Saunders.
- Charlier, J., Rinaldi, L., Musella, V., Ploeger, H., Chartier, C., Vineer, H. R., . . . Claerebout, E. (2020). Initial assessment of the economic burden of major parasitic helminth infections to the ruminant livestock industry in Europe. Preventive Veterinary Medicine, 182, 105103. doi:10.1016/j.prevetmed.2020.105103

Da Silva Fonseca, R., de Oliveira, A. D. F. M., Martins, I. V. F., Donatele, D. M., de Oliveira, F. A., Vidal, M. L. B., ... Quirino, C. R. (2019). Efeitos da torta de neem no controle alternativo de nematoides gastrintestinais em ovinos: Revisão. Pubvet, 13, 152.

Elliott, D. C. (1986). Tapeworm (*Moniezia expansa*) and its effect on sheep production: the evidence reviewed. New Zealand veterinary journal, 34(5), (pp 61-65).

Foreyt, W. J. (2001). Veterinary parasitology reference manual. Ames. Iowa: Blackwell.

Fortes, E. (2004). Parasitologia veterinária. In Parasitologia Veterinária.

K. A., Dr, M. T., Prof, & L. S. (2020, July). Faecal Egg Count (FEC) monitoring. Sustainable Control Of Parasites in Sheep. Acedido em <https://www.scops.org.uk>

Mahin, L., Chadli, M., & Id Sidi Yahya, K. (1991). Treatment against monieziasis by suckling lambs deserves precedence versus trichostrongylosis under extensive conditions in Morocco. Belgium Tropicultura

Mehlhorn, H., & Armstrong, P. M. (2001). Encyclopaedic Reference of Parasitology: Diseases, treatment, therapy. Springer Eds.

Monteiro, S. G. (2017). Parasitologia na medicina veterinária. São Paulo: Roca, 1.

Quintas, H. & Cardoso, L. (2012) Vermes parasitas digestivos de ovinos e caprinos. In Á. Mendonça, Guia Sanitário para criadores de pequenos ruminantes (pp 115-164). Bragança: Instituto Politécnico de Bragança

Ramos, J. Z. (2009). Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Manual de Parasitología(1st ed.). doi:<https://pt.slideshare.net/1395872/manual-total-parasilotolgia>

Roberto, F. F., Difante, G. D., Zaros, L. G., & Gurgel, A. L. (2018). Nematoides gastrintestinais na ovinocultura de corte sob regime de pastejo. *Pubvet*, 12(4), 1-12. doi:10.22256/pubvet.v12n4a65.1-12.

Sancho, F.V. (2009). Atlas de parasitología ovina. Zaragoza: Grupo Asís Biomedia, S.L., Servet editorial.

Sargison, N. (2008). Sheep flock health: a planned approach. Oxford: Blackwell Publishing Ltd.

Scott, P. R. (2007). *Sheep medicine*. London: Manson.

Suárez, V. H., Olaechea, F. V., Rossanigo, C., & Romero, J. (2007). Enfermedades parasitarias de los ovinos y otros rumiantes menores en el cono sur de América. *Publicación Técnica*, 70.

Starkey, L., Pugh, D. (2021). Internal Parasites of Sheep, Goats, and Cervids. In D. Pugh., A. Baird., M. Edmonson., T. Passler (3rd edition), *Sheep, Goat and Cervid Medicine* (pp 97-109). Elsevier Health Sciences.

Taylor, M. A., Coop, R. L., & Wall, R. L. (2016). *Veterinary Parasitology* Chichester. West Sussex, UK: Willey-Blackwell.

Tam, T. T., Lan, N. T. K., & Doanh, P. N. (2019). Morphological differences and molecular phylogenetic relationship of two tapeworm species, *Moniezia expansa* and *Moniezia benedeni*, collected from domestic ruminants in northern Vietnam. *Parasitology International*, 101998. doi:10.1016/j.parint.2019.101998

Ullah, N., Khan, M. S., & Shah, M. (2013). Infestation of helminthes parasite in sheep, *Ovis aries* (L.) in district Peshawar, Pakistan: *International Journal of Biosciences (IJB)*, 3(2), 28-34.

Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M. & Jennings, F.W. (1996). *Veterinary Parasitology*. (Second edition). Oxford: Blackwell Science Ltd, Blackwell Publishing Company.

Van Wyk, J. A., & Bath, G. F. (2002). The FAMACHA system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. *Veterinary research*, 33(5), (pp 509-529).

Zúñiga, A. H., Jaramillo, G. V., Fonseca-Salamanca, F., & Aravena, C. O. (2017). Primer registro de *Nematodirus Helvetianus* May 1920 (Nematoda: Molineidae), em bovinos del sur de chile. *Neotropical Helminthology*, 11.