

CATARINA CATITA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DO PARASITISMO
GASTROINTESTINAL EM BOVINOS DE CARNE
EM SISTEMA EXTENSIVO E SEMI-EXTENSIVO**

Orientadora: Doutora Ana Maria Duque de Araújo Munhoz

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2018

CATARINA CATITA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DO PARASITISMO
GASTROINTESTINAL EM BOVINOS DE CARNE
EM SISTEMA EXTENSIVO E SEMI-EXTENSIVO**

Dissertação defendida em provas públicas na
Universidade Lusófona de Humanidades e
Tecnologias, no dia 18 de Maio de 2018, perante
o júri, nomeado pelo Despacho de Nomeação nº
185/2018, de 30 de Abril de 2018, com a seguinte
composição:

Presidente: Prof.^a Doutora Sofia van Harten em
representação da Prof.^a Doutora Laurentina
Pedroso

Arguente: Prof.^a Doutora Helga Waap

Orientadora: Doutora Ana Maria Duque de
Araújo Munhoz

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2018

Agradecimentos

À Professora Doutora Ana Maria Duque de Araújo Munhoz pela sua disponibilidade e transmissão de conhecimentos ao longo da elaboração deste trabalho, mesmo em alturas de maior dificuldade, os meus sinceros agradecimentos.

À Professora Doutora Inês Viegas pelo apoio fundamental no tratamento estatístico.

Ao Laboratório da ULHT-FMV e demais investigadores pelo apoio, tempo e paciência durante a análise das amostras.

Um especial agradecimento à Companhia da Lezírias S.A. por ter aceite o meu estágio, em particular ao Engº Rodrigo Pereira por me ajudar na escolha do tema de tese, pela constante disponibilidade durante o estágio e por me fazer sentir em casa.

Ao Dr. António Farrim pela sua constante amabilidade de partilhar a sua experiência como médico veterinário.

Ao Dr. Andriy Tkachenko, em particular, que ao longo de todo o estágio me demonstrou o profissionalismo e perseverança que necessita um médico veterinário de campo e teve a paciência de ensinar alguém muito inexperiente nesta área.

Com muito carinho, agradeço à minha mãe que durante a minha vida sempre me apoiou incondicionalmente e que apesar dum grande sacrifício me incentivou a realizar o sonho de vir a ser médica veterinária. Pela sua amizade e conforto nos momentos piores da vida.

À família Monjardino, pelo apoio e voto de confiança que sempre me demonstraram, em particular ao Pedro que sempre acreditou nas minhas capacidades, que acompanhou os meus momentos bons e maus e nunca me deixou desistir.

À Teresa e Filipa, pela vossa amizade na recta final do curso e que se mantenha por muito tempo.

À Iara pela sua sabedoria e maneira de encarar a vida.

A todos que contribuíram directa ou indirectamente à realização deste trabalho, um muito obrigado.

Avaliação de parasitismo gastrointestinal em bovinos de carne em sistema extensivo e semi-extensivo

Resumo

Num Mundo em que se procura sustentabilidade, o melhoramento na saúde animal e bem-estar proporciona melhores resultados zootécnicos e económicos, sendo assim importante considerar as perdas causadas pelo parasitismo.

O presente estudo teve como objectivo avaliar o parasitismo gastrointestinal numa exploração de bovinos de carne em sistema extensivo e semi-extensivo, localizada numa zona abrangida pelos concelhos de Benavente e de Vila Franca de Xira.

Foram analisadas 373 amostras fecais através de técnicas coprológicas quantitativas e qualitativas para comparar o parasitismo entre faixas etárias e tipo de manejo.

As amostras recolhidas foram divididas em Categoria A (bovinos na fase da desmama, bovinos em pasto de regadio e em engorda) e Categoria B (bovinos em extensivo todo ano com objectivo reprodutor).

Na categoria A em 247 amostras foram positivas 189 para nemátodes, 165 para *Eimeria* spp., 20 para céstodes e 18 para tremátodes. Na categoria B em 126 amostras, os resultados revelaram-se positivos de 110 para *Eimeria* spp., 47 para nemátodes, 13 para tremátodes e 8 para céstodes.

Nas coproculturas observou-se em média no grupo Engorda 43,2% de *Trichostrongylus axei*, 28,6% de *Ostertagia* spp., 20,8% de *Cooperia* spp., 3,5% de *Oesophagostomum radiatum*, 2,4% de *Bunostomum phlebotomum*, e 1,5% de *Haemonchus placei*. No grupo Prado 35,5% de *Cooperia* spp, 30,1% de *Ostertagia* spp e 25,2% de *Trichostrongylus axei*, 3,3% de *Oesophagostomum radiatum*, 3,3% *Haemonchus placei*, 2,6% de *Nematodirus* spp. No grupo Desmama 36,3% de *Trichostrongylus axei* e 35,23% de *Cooperia* spp, 26,32% de *Ostertagia* spp., 1,95% de *Nematodirus* spp., 0,2% de *Oesophagostomum radiatum*.

Nos bovinos em sistema extensivo uma média de 48,5% de *Cooperia* spp, 38,4% de *Trichostrongylus axei* e 13,1% de *Ostertagi* spp entre os oito grupos.

Palavras chave: bovinos de carne, sistema extensivo e semi-extensivo, parasitas gastrointestinais.

Evaluation of gastrointestinal parasitism in beef cattle in extensive and semi-extensive systems

Abstract

In a world where sustainability is sought, an improvement in animal health and welfare can provide better zootechnical and economic results, and it is therefore important to consider losses caused by parasitism.

This study aimed to evaluate the gastrointestinal parasitism presence in extensive and semi-extensive beef cattle husbandry, located in an area covered by the municipalities Benavente and Vila Franca de Xira.

In a total of 373 samples were collected for quantitative and qualitative coprological analyzes to compare the parasitism between, age range and type of management.

The collected samples were divided in Category A (bovines in weaning phase, bovine found in irrigated pastures and in fattening phase) and Category B (bovines in extensive systems all year with reproductive objective)

The Category A in 247 samples 189 to nematodes, 165 to *Eimeria* spp., 20 to cestodes e 18 to trematodes were positive. The Category B in 126 samples, the results revealed 110 to *Eimeria* spp., 47 to nematodes, 13 to trematodes e 8 to cestodes positive.

In the coproculture was observed on average in the group Fattening 43,2% of *Trichostrongylus axei*, 28,6% of *Ostertagi ostertagi*, 20,8% of *Cooperia* spp., 3,5% of *Oesophagostomum radiatum*, 2,4% of *Bunostomum phlebotomum*, and 1,5% of *Haemonchus placei*. The group Meadow 35,5% of *Cooperia* spp, 30,1% of *Ostertagi ostertagi*, 25,2% of *Trichostrongylus axei*. 3,3% de *Oesophagostomum radiatum*, 3,3% *Haemonchus placei* and 2,6% de *Nematodirus* spp. The group Weaning, 36,3% of *Trichostrongylus axei* and 35,23% of *Cooperia* spp and 26,32% of *Ostertagi ostertagi*. 1,95% de *Nematodirus* spp., 0,2% de *Oesophagostomum radiatum*.

In the animals in extensive system was observed on average 48,5% of *Cooperia* spp, 38,4% of *Trichostrongylus axei* and 13,1% of *Ostertagi ostertagi*.

Key-Words: beff cattle, extensive and semi-extensive systems, gastrointestinal parasitism

Abreviaturas

cm³- centímetro cúbico

°C - Grau Celsius

EGI- Estrongílideos Gastrointestinais

EL4- “Early”quarto estágio larvar

ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

IgG- imunoglobina G

Kg - quilograma

L1- Primeiro Estágio Larvar

L2 - Segundo Estágio Larvar

L3 - Terceiro Estágio Larvar

L4 - Quarto Estágio Larvar

ml - mililitro

mm- milímetro

µm - micrómetro

OPG - Ovos por grama de fezes

OOPG - Oocistos por grama de fezes

PDSI - Palmer Drought Severity Index

rDNA- recombinant deoxyribonucleic acid

Sig - statistically significant

Índice Geral

1. Introdução.....	11
1.1 Caracterização da exploração.....	11
1.2 Raças utilizadas na exploração	12
1.3 Maneio.....	17
2. Revisão bibliográfica	19
2.1 Parasitas gastrointestinais.....	19
2.1.1 Classe Nematoda	19
2.1.1.1 Superfamília Trichostrongyloidea	21
2.1.1.2 Superfamília Ancylostomatoidea	27
2.1.1.3 Superfamília Ascaridoidea	27
2.1.2 Factores interpretativos na contagem de ovos em gramas de fezes e medidas de controlo para nemátodes	28
2.1.3 Classe Cestoda	35
2.1.3.1 <i>Moniezia</i> spp.....	36
2.1.4 Medidas de controlo para céstodes	38
2.1.5 Classe Trematoda (Família Paramphistomatidae)	39
2.1.6 Medidas de controlo de tremátodes (Família Paramphistomatidae)	42
2.1.7 Classe Coccidia	43
2.1.7.1 Família Eimeriidae	43
2.1.8 Medidas de controlo para coccídeas	48
3. Objectivo	48
4. Material e Métodos.....	49
4.1 Material.....	49
4.2 Métodos.....	50
4.2.1 Coprologia quantitativa.....	50
4.2.2. Coprologia qualitativa	51
4.2.3 Coprocultura.....	52
4.3 Análise estatística	53
5. Resultados	54
5.1 Análise quantitativa relativo ao OPG/OOPG	54
5.1.1 Estatística descritiva	54
5.1.2. Análise inferencial	55
5.2 Análise qualitativa dos resultados obtidos pela técnica de Flutuação simples e sedimento natural	58

5.2.1 Análise de frequências	58
5.2.2 Análise Inferencial	61
5.3 Análise qualitativa dos resultados obtidos pela técnica de Baermann e Coprocultura	67
5.5 Caracterização climática durante o período de estudo	69
6. Discussão	72
7. Conclusões	80
8. Referências bibliográficas.....	82
Anexo I: Lezíria Sul e Charneca	I
Anexo II: Análise estatística da Categoria A por grupo (Engorda, Prado e Desmama).....	II
Anexo III: Análise estatística na Categoria A por dia de recolha.....	III
Anexo IV: Análise estatística da Categoria B	V
Anexo V: Representação morfológica de L3.....	VI
Anexo VI: Diagrama de identificação de L3 de strongilídeos	VII
Anexo VII: Morfologia das extremidades de L3 de strongilídeos	VIII
Anexo VIII: Medidas de L3 de strongilídeos mais comuns em ruminantes e diferenciação <i>Trichostrongylus</i> spp. e <i>Ostertagia</i> spp.	IX
Anexo IX: Identificação de L3 de strongilídeos em ruminantes	X
Anexo X: Chave para identificação de L3 de strongilídeos de bovinos	XI

Índice de Tabelas

Tabela 1: Estimativa de produção diária de ovos de alguns helmintos	28
Tabela 2: Tabela indicativa do grau de infecção pela contagem OPG	29
Tabela 3: Variáveis quantitativas	53
Tabela 4: Variáveis categóricas.....	53
Tabela 5: Chave representativa da Categoria A.....	54
Tabela 6: Chave representativa da Categoria B.....	54
Tabela 7: Análise de frequência absoluta EGI (Categoria A)	58
Tabela 8: Análise de frequência absoluta e relativa <i>Eimeria</i> spp. (Categoria A) ...	59
Tabela 9: Análise de frequência absoluta e relativa <i>Moniezia benedeni</i> (Categoria A).....	59
Tabela 10: Análise de frequência absoluta e relativa <i>Toxocara vitulorum</i> (Categoria A).....	59
Tabela 11: Análise de frequência absolutas e relativas <i>Paramphistomum</i> spp.(Categoria A).....	59
Tabela 12: Análise de frequência absoluta e relativa EGI (Categoria B)	60
Tabela 13: Análise de frequência absoluta e relativa <i>Eimeria</i> spp. (Categoria B) .	60
Tabela 14: Análise de frequência absoluta e relativa <i>Moniezia benedeni</i> (Categoria B)	61
Tabela 15: Análise de frequência absoluta e relativa <i>Paramphistomum</i> spp.	61

Índice de Figuras

Figura 1: Parte do efectivo de Raça Preta.....	13
Figura 2: Cabrestos de Raça Mertolenga.....	14
Figura 3: Parte do efectivo de Raça Charolês.....	15
Figura 4: Reprodutor de Raça Limousine.	17
Figura 5: Ciclo de vida <i>Eimeria bovis</i>	45
Figura 6: Câmara Macmaster.	50
Figura 7: Adaptação de aparelho de Baermann.....	51
Figura 8: Ovos EGI com características distintas	64
Figura 9: Infecção mista com ovos EGI, <i>Moniezia benedeni</i> , <i>Nematodirus spp.</i>	64
Figura 10: Ovo de EGI e oocisto de <i>Eimeria spp.</i>	65
Figura 11: Ovos de EGI com distinção de <i>Nematodirus spp.</i> no lado direito.....	65
Figura 13: Ovo <i>Moniezia benedeni</i> e ovos EGI	65
Figura 12: Ovo <i>Moniezia benedeni</i> com oncosfera	65
Figura 14: Oocisto <i>Eimeria spp.</i>	65
Figura 15: Oocisto <i>Eimeria spp.</i>	65
Figura 17: Oocisto de <i>Eimeria spp.</i>	66
Figura 19: Oocisto de <i>Eimeria spp.</i>	66
Figura 18: Oocisto de <i>Eimeria spp.</i>	66
Figura 16: Oocisto <i>Eimeria spp.</i>	66
Figura 22: Ovo de <i>Paramphistomum spp.</i>	66
Figura 21: Ovo de <i>Paramphistomum spp.</i>	66
Figura 20: Ovo de <i>Paramphistomum spp.</i>	66

Índice de Gráficos

Gráfico 1 : Média de OOPG <i>Eimeria</i> spp. por grupo Engorda (1), Prado (2) e Desmame (3).....	55
Gráfico 2 : Média de OPG <i>Moniezia benedeni</i> por grupo Engorda (1), Prado (2) e Desmame (3).....	56
Gráfico 3 : Média para OPG EGI para recolhas (1 a 15).....	56
Gráfico 4: Média de OOPG <i>Eimeria</i> spp. para cada recolha (1 a 15)	57
Gráfico 5: Média de OOPG <i>Eimeria</i> spp. durante as Estações do Ano. Primavera (1), Outono (3) e Inverno (4).....	57
Gráfico 6: Média de OOPG <i>Eimeria</i> spp. para cada grupo (1 a 8).....	58
Gráfico 8: Resultados positivos e negativos para <i>Eimeria</i> spp. nos grupos Desmama, Engorda e Prado	62
Gráfico 7: Resultados positivos e negativos para EGI nos grupos Desmama, Engorda e Prado	62
Gráfico 9: Resultados positivos e negativos para <i>Paramphistomum</i> spp. nos grupos Desmama, Engorda e Prado	63
Gráfico 10: Resultados positivos e negativos para <i>Moniezia benedeni</i> nos grupos Desmama, Engorda e Prado	63
Gráfico 11: Resultados positivos e negativos para <i>Toxocara vitulorum</i> nos grupos Desmama, Engorda e Prado	63
Gráfico 12: Resultados positivos e negativos para <i>Eimeria</i> spp. nos 8 grupos	64
Gráfico 13: Resultados positivos e negativos para EGI nos 8 grupos	64
Gráfico 14: Resultados positivos e negativos para <i>Moniezia benedeni</i> nos 8 grupos	64
Gráfico 15: Resultados positivos e negativos para <i>Paramphistomum</i> spp. nos 8 grupos	64
Gráfico 16 : Percentagem de larvas obtidas por coprocultura em cada recolha (Engorda).....	67
Gráfico 17: Percentagem de larvas obtidas por coprocultura em cada recolha (Prado).....	68

Gráfico 18: Percentagem de larvas obtidas por coprocultura em cada recolha (Desmama).....	68
Gráfico 19: Percentagem de larvas obtidas por coprocultura em cada recolha nos 8 grupos da categoria B.....	69

1. Introdução

Actualmente no que respeita à produção animal os produtores e consumidores estão cada vez mais exigentes em relação às práticas aplicadas, com tendência a serem mais sustentáveis e igualmente produtivas, com uma maior preocupação no bem-estar animal. A aplicação destas exigências implica um conhecimento mais profundo de cada exploração e das doenças que afectam a produtividade, entre elas as parasitoses.

As parasitoses gastrointestinais podem afectar o desenvolvimento e a produtividade dos bovinos, particularmente aqueles que se encontram em pastagens durante todo o seu desenvolvimento. Para além disso, animais parasitados, por vezes assintomáticos, podem servir como fonte de infecção a outros animais contribuindo para um dos problemas sanitários de maior importância na produção de carne no mundo. A diminuição de produtividade pode causar prejuízos devido à redução no ganho de peso, mas também se podem considerar perdas indirectas, como o aumento nos custos de produção pela necessidade de tratamentos antiparasitários mais frequentes. Por isso é cada vez mais importante um conhecimento de quais os parasitas existentes nas explorações para evitar ao máximo as consequências negativas que as parasitoses gastrointestinais podem provocar aos animais e proceder a um manejo sanitário apropriado.

1.1 Caracterização da exploração

O presente estudo foi realizado na Companhia da Lezírias, SA sendo esta a maior exploração agro-pecuária em Portugal. Está situada entre os concelhos de Benavente, Vila Franca de Xira e de Salvaterra de Magos. Possui uma área total aproximadamente de 18 mil hectares, dividida por parcelas com características topográficas, edáficas e de exploração distintas, entre as quais de Lezíria e Charneca.

As características inerentes à zona da Lezíria de Vila Franca de Xira têm como objectivo a pastorícia com pastagens naturais, produção de forragem e de arroz. A zona da Charneca do Infantado, localizada na freguesia de Samora Correia, concelho Benavente, tem como actividade predominante a silvicultura e é constituída por montado de sobro, uma área de pinhal de pinheiro bravo e pinheiro manso, eucaliptal e olival. Abrange também outras espécies menos abundantes como a Azinheira, Carvalho Português e espécies ripícolas (Companhia das Lezírias, 2014).

A silvopastorícia é realizada no montado com pastagens naturais biodiversas e ricas em leguminosas. Nesta zona encontra-se também uma área de vinha para produção de vinho e um olival. Na Companhia das Lezírias desenvolvem-se outras

actividades de agro-turismo e educação ambiental, tais como as de alojamento, turismo equestre, zonas de caça associativa e turística, Quinta Pedagógica para escolas e observação de aves com o projecto EVOA (Companhia das Lezírias, 2010).

1.2 Raças utilizadas na exploração

Com o abandono da produção de animais menos produtivos e pela tendência de mercado mais exigente, as raças autóctones diminuíram o seu efectivo nacional. Contudo, algumas acções foram elaboradas com o intuito de manter uma biodiversidade genética em risco de desaparecer, com apoios nacionais e europeus que visam incentivar a produção destas raças. Desta forma espera-se um aumento da produção de animais autóctones ampliando o seu efectivo existente.

Dentro das raças que compõem o efectivo da Companhia das Lezírias podem-se referenciar duas raças autóctones, a Preta e a Mertolenga existentes em linhagem pura e que representam grande parte do efectivo, e duas raças exóticas, Charolês e Limousine em linhagem pura que têm como objectivo o melhoramento zootécnico. São assim divididas em Manadas de raça Preta, Mertolenga, Limousine, Charolês e Cruzada (manada sem raça pura resultante de vários cruzamentos) (Companhia das Lezírias, 2010).

A raça Preta apresenta ligação directa com o *Bos taurus ibericus*, assim como com outras raças da Península Ibérica e, apesar de não existir consenso, supõe-se que tenha origem de vários cruzamentos. Uma das hipóteses é o resultado de vários cruzamentos entre bovinos do planalto Mirandês, da raça Alentejana, a raça Brava de Lide do Ribatejo e raças Espanholas.

Com um tronco ancestral autóctone comum, as raças da Península Ibérica dividem-se em Portugal por duas raças, a Brava e a Preta, enquanto em Espanha são as raças Morucha, Avileña-Negra Ibérica, Salamanquina, Cárdena e Lide.

O solar desta raça localiza-se entre os rios Tejo, Sado e Sorraia pelos distritos de Évora, Portalegre, Beja, Santarém e Setúbal. Localizado principalmente em zonas de solos pobres, pouco favoráveis a produção de forragens próprias e com um clima mediterrânico, o crescimento das pastagens é muito irregular devido à ocorrência de Verões quentes e secos alternados com chuvas na estação fria.

Estes bovinos inicialmente foram utilizados para tracção em explorações agrícolas, devido às suas características de robustez e adaptação às flutuações de quantidade e qualidade de alimento disponível. Já nos dias de hoje, são utilizados para a

produção de carne, continuando a ser mantidos em regime extensivo, em pastagens naturais sob coberto de montado, com acesso a bolotas e produtos de desbaste dos montados ou em restolhos de culturas cerealíferas.

Actualmente, para otimizar o desenvolvimento e características produtivas desta raça e sob a supervisão da Associação de Criadores de Bovinos da Raça Preta, é dirigido um Livro Genealógico para que a morfologia da raça se mantenha estabelecendo um padrão. As características incluem pelagem uniformemente negra, de grande corpulência com membros fortes e com peso médio de 400 a 600 Kg nas fêmeas e 700 a 1000 Kg nos machos.

A produção de carne desta raça já se encontra autenticada com Denominação de Origem “Carne da Charneca DO” pelo Despacho nº 6641/98 de 22/04/98 (Gonçalves & Rodrigues, 2002; Associação de Criadores de Bovinos de Raça Preta, 2016).

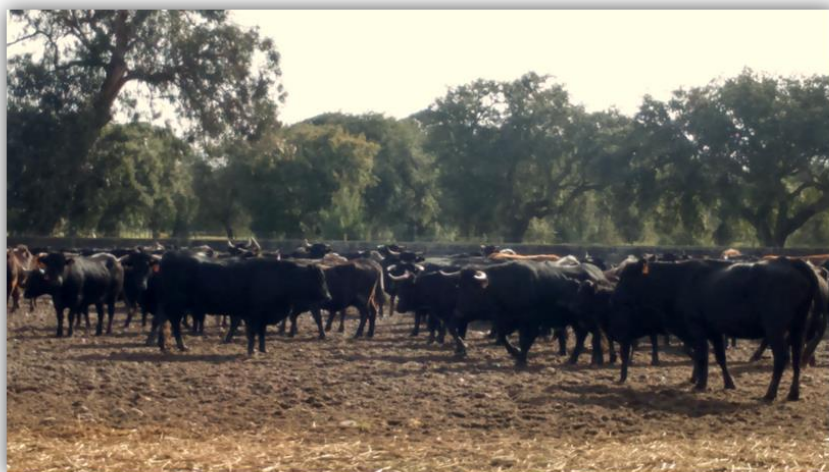


Figura 1: Parte do efectivo de Raça Preta. Fotografia original da autora

Tal como na raça Preta, existe um Livro Genealógico para a raça Mertolenga assegurando e mantendo uma linhagem genética destes animais. O seu património genético tem sido determinado, na sua maioria, sem o auxílio da inseminação artificial e tem vindo a proporcionar um melhoramento genético populacional, transmitindo características genotípicas e, consequentemente, fenotípicas a gerações futuras (Castro *et al.*, 2007).

O solar desta raça, tal como o nome indica, situa-se em Mértola no Baixo Alentejo, mas também em Alcoutim e Martinlongo. Actualmente estão em actividade efectivos distribuídos desde Castelo Branco, Santarém, Setúbal, Portalegre, Évora, Beja até São Miguel nos Açores.

Bernardo Lima apelidou esta raça “Charnequeiro” pela sua adaptação aos trabalhos orizícolas em terrenos arenosos do Sul do Tejo, fruto do cruzamento da raça Brava com Alentejana. Estima-se que a sua origem tenha sido dada no início do século XX através de bovinos que foram trazidos de Espanha. Destes, uma parte fixou-se junto ao rio Guadiana sendo os restantes difundidos para o Ribatejo através da divulgação em feiras em Garvão e Aljustrel nas primeiras décadas após a sua chegada a Portugal. Já no Ribatejo, houve uma combinação destes bovinos com bovinos Charnequeiro flavo e Mertolengo malhado proveniente de Garvão que, posteriormente, se dispersaram pelas margens dos rios Tejo, Sorraia e Sado.

Actualmente é utilizado como ajuda ao manejo do gado de Lide principalmente no Ribatejo, e para produção de carne (Frazão,1953; Associação de Criadores de Bovinos Mertolengo,2016).

Segundo o Livro Genealógico existem três fenótipos estandardizados: o rosilho, o vermelho e o malhado (Vermelha malhada ou Malhada de vermelho). De temperamento nervoso, têm uma adaptabilidade muito rústica verificando uma resistência às condições adversas e às variações de disponibilidade de pastagens, e têm um historial de animais de trabalho apesar da sua corpulência mediana. Englobam-se nos animais eumétricos longilíneos ou mediolíneos com dimorfismo sexual (Associação de Criadores de Bovinos Mertolengos,2016).



Figura 2: Cabrestos de Raça Mertolenga. Fotografia original da autora

Caracterizando as raças exóticas presentes nesta exploração, a raça Charolês segundo a Associação Portuguesa de criadores de bovinos da raça Charolesa, tem origem Francesa na região de Saône-et-Loire e Nièvre. Encontra-se dispersa por todo o mundo, estando presente em 70 países nos 5 continentes. Está submetida a diferentes tipos de clima, sendo uma das raças mais importantes a nível mundial.

Em Portugal foram introduzidos nos anos 60 e rapidamente se evidenciou a sua adaptação às condições climáticas adversas com temperaturas oscilantes características do clima mediterrânico. Encontra-se distribuída pelo Alentejo, em alguns pontos do Ribatejo e nos Açores (Associação Portuguesa da Raça Charolesa, 2016; Charolais International, 2016).

É uma raça de pelagem branca e por vezes creme, com pesos em adulto entre os 650 a 800 Kg para as fêmeas e de 950 a 1200 Kg para os machos. São considerados uma raça corpulenta com aptidão para carne. As qualidades intrínsecas desta raça reúnem um maior índice de crescimento e um menor índice de conversão dos alimentos, temperamento calmo e adaptação aos diferentes tipos de sistema de produção.

Esta raça é utilizada em cruzamentos, principalmente com raças autóctones, tendo como objectivo reduzir o período de engorda e aumentar a conformação da carcaça devido à sua grande homozigotia para caracteres de crescimento e à sua morfologia.

Em linha pura, é controlada pelo Livro Genealógico Português da raça Bovina Charolesa e internacionalmente as associações de criadores são agrupadas em Charolais International com o objectivo de padronizar a gestão do livro genealógico mundial (Associação Portuguesa da Raça Charolesa, 2016; Charolais International, 2016).



Figura 3: Parte do efectivo de Raça Charolês. Fotografia original da autora

A raça Limousine, tal como a raça Charolês, é utilizada em Portugal para melhoramento zootécnico das raças autóctones e para reprodução de animais com aptidão de carne.

Tem origem na região de Limousin em França. Foram outrora utilizados como animais de trabalho pelas suas características de robustez e comportamento dócil. Nesta região ocorrem variações térmicas entre os -15C° e os 30C°, o solo é ácido e

granítico com relevo inconstante, o que facilitou a sua adaptação às características inerentes a diferentes locais, globalizando a sua dispersão.

A transição no sector agrícola do uso de animais de tracção para a mecanização fez com que produtores seleccionassem estes animais pela sua facilidade ao parto e rápido crescimento. Por esta razão, verifica-se uma vincada permanência dessas características nos animais resultantes destes cruzamentos (Limousine Portugal, 2016).

Após tentativas fracassadas de cruzamento com a raça Agenaise, com ideia inicial de melhoramento genético, no início do século XIX os reprodutores retomaram a seleção natural para recuperar as características da raça pura, principalmente a produção de carne. Posteriormente, viram a necessidade de um registo genealógico com o primeiro livro realizado em 1886 (International Limousin Council, 2016).

Em Portugal foi introduzida em 1929, e presentemente conta com um efectivo de mais de 4000 fêmeas reprodutoras.

Para além da facilidade ao parto que permite uma rápida adaptação dos vitelos que nascem pequenos, mas que rapidamente atingem ganhos médios diários superiores a 1,5 Kg, as características fenotípicas são uma pelagem flava entre o castanho e vermelho e peito e bacia largos. Apresentam 3 tipos morfológicos: o “Elevage” mais alto, o “Boucherie” mais baixo e com desenvolvimento muscular superior ao esquelético e “Mixte”, conjugando os dois anteriores com um desenvolvimento esquelético semelhante ao muscular.

A sua nutrição é feita por pastagens naturais, fenos e forragens desde o início da sua produção, pois permaneceram historicamente todo o ano no exterior sem perder a sua produtividade. Este facto é devido à sua robustez e adaptabilidade que não se verifica noutras raças o que levava os produtores franceses a tradicionalmente confinarem os seus bovinos (Limousine Portugal, 2016; International Limousin Council, 2016).



Figura 4: Reprodutor de Raça Limousine. Fotografia original da autora

Segundo um estudo participado pela INRA (L'Institut National de la Recherche Agronomique) para avaliar o valor genético dos bovinos com aptidão de carne, realizou-se uma genotipagem em 5000 bovinos de raça Francesa entre eles Limousine e Charolês. Serve o estudo descrito para que futuramente seja possível selecionar um reprodutor sabendo à partida qual vai ser o seu desempenho e que características vão transmitir aos seus descendentes, melhorando assim a fiabilidade da qualidade da carne.

Estão em curso trabalhos com o projecto “Gembal” e “1000 genomas” para estabelecer um conjunto de marcadores genéticos. Entre eles está a relação entre a expressão de DNAJA1 e a maciez da carne numa população de bovinos Charoleses, Limousine, e outras raças. Com este estudo poderá ser desenvolvido um teste de rotina em escala industrial para identificar bovinos com potencial para produzir carne macia, uma mais valia para melhor adaptar futuros cruzamentos com raças autóctones (INRA Science & Impact, 2016).

1.3 Maneio

A Companhia das Lezírias tem como objectivo o desenvolvimento sustentável do ecossistema utilizando o método de produção integrada e biológica em regime extensivo, com pastagens naturais e semeadas com diferentes espécies de plantas. Estas pastagens estão inseridas numa paisagem tradicional agrária, o montado, reconhecida pela FAO (Companhia das Lezírias, S.A., 2010). As pastagens biodiversas semeadas contêm uma grande variedade de plantas forrageiras com uma alta proporção de leguminosas. As espécies de plantas utilizadas foram selecionadas especificamente para o local a semear, consoante as condições físicas e químicas do solo e de acordo com as variações climáticas anuais. Desta forma, foi possível preencher todo o terreno em cobertura vegetal evitando lacunas no solo.

Devido à maior proporção de leguminosas, ocorre um aumento de fixação de azoto no solo que, sendo posteriormente utilizado pela planta, torna a sua produtividade mais sustentável. Por consequência, incita uma maior captação de carbono atmosférico através da fotossíntese e evita a utilização de adubos azotados em excesso.

As combinações destas características proporcionaram nesta exploração uma produtividade mais sustentável oferecendo não só alimento mais nutritivo, mas também um aumento de matéria orgânica no solo. Este facto deveu-se em parte à biomassa produzida pelas plantas, armazenada nos solos devido à grande densidade de raízes anualmente renovadas. Por outro lado, a fibra não digerida deixada pelos animais torna os solos mais férteis pela maior disponibilidade de nutrientes. Para além destes factores há também uma maior retenção de água pelo aumento de plantas, o que leva a uma diminuição da erosão nos solos pela redução do escoamento superficial da água (Teixeira, *et al.*, 2010; Terraprima, 2016)

Apesar da existência destas pastagens há também uma produção própria de produtos forrageiros necessários para colmatar as necessidades nutricionais aquando da insuficiência na disponibilidade de pastagens por condições climáticas adversas. Para além da produção de fenos de luzerna e sorgo, é proporcionado o acesso a restolho de culturas cerealíferas e a bolota do Montado.

O número total de animais em sistema extensivo e semi-extensivo é aproximadamente de 3500 bovinos. Apesar da maioria do efectivo bovino estar em pastoreio todo o ano, é necessário realizar transumância duas vezes por ano. Durante a Primavera e Verão permanecem na Zona da Lezíria e no Outono e Inverno na Zona da Charneca com pastagens naturais e biodiversas incluídas no Montado.

As manadas são divididas por raça, denominando-se Preta C, D, E e DP Mertolenga A e B, Charolês, Limousine e Cruzada CX e F.

As fêmeas seleccionadas exclusivamente para reprodução são cobertas em regime de monta natural com a introdução de um macho num grupo de fêmeas. Este é seleccionado consoante prévia avaliação zootécnica e exame reprodutor. Permanecem durante toda a gestação nas pastagens. Após o nascimento, as crias permanecem junto da progenitora até ao desmame e no final desta fase machos e fêmeas são separados para iniciar uma nova etapa, a da recria. A recria é feita em pastos de pastagens permanentes em regadio para onde, após um período de crescimento, os animais são seleccionados e transferidos. Aqueles anteriormente seleccionados para aptidão de carne são encaminhados para um sistema semi-intensivo onde iniciam a fase de acabamento.

Neste local a sua alimentação é composta por feno produzido na exploração e ração fornecida *ad libitum*. Os animais escolhidos para fins reprodutivos durante a seleção para a recria, permanecem junto das manadas constituídas por progenitores e crias em regime extensivo (Companhia das Lezírias, 2010).

2. Revisão bibliográfica

2.1 Parasitas gastrointestinais

As parasitoses provocadas por parasitas gastrointestinais encontram-se entre os problemas sanitários de maior relevância para a produção de carne por todo mundo, podem provocar uma redução no ganho de peso e exponenciar indiretamente os custos de produção pela necessidade frequente de aquisição de produtos antiparasitários.

A susceptibilidade para desenvolver doença clínica pode variar consoante diferentes factores, tais como o género, idade, altura do ciclo reprodutor (que, por sua vez, pode influenciar o sistema imunitário), predisposição genética, capacidade de resiliência do animal aos danos provocados pela parasitose, e estabelecer um equilíbrio de sobrevivência tanto para o parasita como para o hospedeiro sem grandes danos. Também a resistência ao parasitismo pela reexposição sistemática ao parasita, em que podem estar envolvidos determinados componentes genéticos e imunológicos, actua como variável.

A patogenicidade de cada parasita varia pelas características inerentes ao parasita e pela carga parasitária presente no hospedeiro e eliminação de ovos, assim como pelo estado geral de saúde do animal parasitado.

Em produção animal é necessário estabelecer o mínimo de perdas económicas, onde o conhecimento dos parasitas mais patogénicos e mapeamento da região é fundamental para estabelecer protocolos antiparasitários e diferentes tipos manejo. Mesmo que exista uma constante infecção moderada é imperativo que se acautele um adequado plano nutritivo e que os níveis de stress se encontrem no mínimo possível (Anderson & Rings, 2009).

2.1.1 Classe Nematoda

Os nemátodes são os parasitas gastrointestinais que têm uma grande importância económica. O seu microbiótomo é variável no sistema digestivo onde completam o seu ciclo de vida. A sua distribuição geográfica poderá ser semelhante entre espécies, mas a sua transmissão pode ser condicionada por factores exógenos

sazonais diferentes consoante a sua localização mundial. Assim um nemátode pode ser considerado de grande significância numa zona ao contrário de outra.

O ciclo de vida é semelhante entre os nemátodes de maior importância, sendo maioritariamente directo e a forma infectante a larva L3. O ciclo biológico inicia-se na eliminação de ovos pelas fezes, desenvolve-se o primeiro estágio (L1), que posteriormente muda para o segundo estágio larvar (L2). Ao desenvolver a forma larvar L3, esta permanece envolvida pela cutícula da L2 para evitar a sua dessecação e desloca-se para a vegetação, em gotículas de água onde poderá ser ingerida durante o pastoreio dos ruminantes. O desenvolvimento e sobrevivência das L3 dependem de condições climáticas como a temperatura ambiental e humidade. Os nemátodes pertencentes à superfamília Trichostrongyloidea são particularmente resistentes ao Inverno mas diminuem a sua resistência à medida que as temperaturas altas sejam extremas. A humidade é imperativa para a sobrevivência e para que as larvas se desloquem para o pasto para serem ingeridas pelos animais. A ausência de condições ambientais para a sobrevivência das larvas faz com que entrem em hipobiose, o que possibilita a ocorrência, após períodos de seca, de um grande número de larvas após as primeiras chuvas.

Ao ser ingerida, a L3 perde a cutícula que a envolve pela influência de uma diminuição de oxigénio, aumento de dióxido de carbono e temperatura corporal do hospedeiro. Desloca-se para o local anatómico de preferência ao ciclo de vida, e evolui para L4, um adulto imaturo. Posteriormente matura para adulto macho ou fêmea reprodutor. A produção de ovos ocorre após 3 semanas após a ingestão. Em condições ambientais desfavoráveis o desenvolvimento para parasita adulto é condicionado e entram num estado de hipobiose, ocorre uma cessão de actividade metabólica, não são reconhecidos pelo sistema imunitário do hospedeiro e podem permanecer neste estado num longo período. Os estímulos ambientais externos para cessar este estado variam entre espécies de parasitas, habitat, condições atmosféricas e até de ano para ano (Anderson & Rings, 2009 ; Radostits *et al.* , 2006).

Ao longo da vida, os bovinos vão adquirindo resistência parasitária, principalmente durante o primeiro ano de vida. Esta imunidade é expressa com uma diminuição na eliminação de ovos e redução de parasitas adultos, conseqüentemente, um número menor de larvas infectantes. Os surtos de parasitoses ocorrem com o aumento da ingestão da L3 que oprimem qualquer possibilidade de resposta imunitária ou resiliência, desencadeando sinais clínicos. Dentro desta classe podemos distinguir:

2.1.1.1 Superfamília Trichostrongyloidea

A maior parte das parasitoses é constituída por múltiplo parasitismo, onde algumas espécies, destacam-se por serem mais patogénicas, levando a maiores perdas económicas. Os estrongilídeos do género *Ostertagia* são responsáveis por provocar lesões no abomaso durante a fase de maturação dos parasitas, que na fase adulta, emergem das glândulas abomasais levando à sua destruição, aumento do pH e digestão deficiente (Anderson & Rings, 2009). As parasitoses por *Ostertagia ostertagi* diferenciam-se em dois tipos:

A Ostertagiose do Tipo I ocorre quando há um aumento significativo de larvas nas pastagens devido à eclosão dos ovos pelo estímulo de temperatura mais altas, chegando a um pico no meio do Verão e Outono. Animais que não são resistentes a este parasita, como os bezerros e bovinos imunossuprimidos, ao ingerirem pasto contaminado com uma grande carga de larvas desenvolvem uma gastroenterite parasitária.

Os principais danos são provocados quando as larvas infectantes completam o seu desenvolvimento nas glândulas gástricas do abomaso e ao fim de aproximadamente 20 dias emergem, altura em que se iniciam os sinais clínicos. Durante este tempo as células parietais produtoras de ácido clorídrico são destruídas e substituídas por células não diferenciadas ou por células cubóides secretoras de muco. É provocada uma hiperplasia e espessamento da mucosa com destruição das junções intercelulares e aumento do pH abomasal. Com o pH acima de 4,5 a pepsina não é activada para digerir proteínas e com pH acima de 6 o pepsinogénio não é transformado em pepsina, aumentando a sua concentração sanguínea. Pelo mesmo motivo, o conteúdo do abomaso fica menos bacteriostático e ocorre um desequilíbrio bacteriano do rúmen. O aumento de gastrina na corrente sanguínea na tentativa de estimular a secreção de ácido clorídrico também se verifica. Com a perda de junções intercelulares há uma perda de proteína, que em casos severos origina hipoalbuminemia, edema submandibular, diarreia aguda, inapetência e perda de peso (Radostits *et al.*, 2006; Taylor, 2007).

A Ostertagiose do Tipo II ocorre devido à maturação simultânea de uma grande quantidade de larvas que se encontravam em hipobiose nas glândulas gástricas (EL4) do abomaso e cuja ingestão ocorreu no Outono prévio. O período da doença não é coincidente à do aumento de larvas no pasto e apesar dos vitelos já terem uma grande quantidade de larvas, existem poucas em desenvolvimento ou adultas. Essas larvas

reassumem o seu desenvolvimento no final do Inverno desenvolvendo as mesmas lesões do Tipo I (Andrews *et al.*, 2008).

Os factores que contribuem para o início da doença clínica podem ser o tratamento anti-helmíntico que remove os parasitas adultos, mudança na dieta para pastagens de rápido crescimento ou mudança das condições atmosféricas (Anderson & Rings, 2009).

Além da contagem de ovos por grama de fezes e sinais clínicos, o diagnóstico poderá também incluir a medição do teor plasmático de pepsinogénio nos vitelos, que se encontra aumentado, e pela concentração plasmática da gastrina. A classificação é obtida pela data do início da sintomatologia, entre Julho e Setembro ocorre Ostertagiose Tipo I e de Março a Maio do Tipo II. Quando em contacto com o parasita, a maioria dos bovinos adultos adquirem imunidade a partir dos 18 meses (Taylor, 2007; Andrews *et al.*, 2008).

As perdas económicas não são só responsabilizadas pela inapetência e diarreia, mas primariamente pelo desvio de proteínas endógenas para o tracto gastrointestinal, que, apesar de manter alguma reabsorção, conduz a uma perturbação na absorção do azoto e energia metabólica, devido à necessidade de sintetizar proteínas vitais como as albuminas e imunoglobulinas. Desta forma é necessário, recorrer ao sequestro de proteína muscular e tecido adiposo (Taylor, 2007).

Trichostrongylus axei, que tem como microbiótipo o abomaso, e apesar de raramente ser o parasita principal nas gastroenterites parasitárias, contribui para o desenvolvimento das mesmas, e pode estar associado à *Ostertagia ostertagi* (Anderson & Rings, 2009). Pode ser encontrado em vários hospedeiros, como ruminantes, equídeos, suínos e leporídeos. Com dimensões pequenas e morfologia idêntica a um cabelo, pode ser negligenciada a sua presença durante a necrópsia e muitas vezes confundido com parasitas da espécie *Strongyloides* e *Cooperia* (Bowman, 2009).

Mesmo num elevado número de parasitas tendem a ser assintomáticos, mas com uma persistência prolongada poderão ocorrer lesões circulares com relevo e congestão na mucosa do abomaso. As consequências das lesões na mucosa, quando muito elevadas, podem ser comparadas com aquelas produzidas por *Ostertagia* spp devido ao aumento da permeabilidade e do pH, sendo os principais sinais clínicos a diarreia aquosa e rápida perda de peso.

Outras espécies de *Trichostrongylus* podem ser encontradas no intestino delgado, onde as lesões são semelhantes às do abomaso e a maturação para adulto é

desenvolvida no epitélio intestinal. Ocorre uma atrofia nas vilosidades e dilatação das criptas intestinais acompanhada por um infiltrado eosinófilo. As suas lesões são restringidas à porção anterior do intestino e a diminuída absorção intestinal provocada pelas lesões é compensada na porção posterior (Radostits *et al.*, 2006; Taylor, 2007).

A L3 é resistente a temperaturas de Inverno em número suficiente para que a sua sintomatologia se evidencie na Primavera. Na Austrália e África, foi demonstrado que após longos períodos de seca, ao chover, um grande número de larvas aparentemente dessecadas tornou-se activa e disponível no pasto. No entanto, é mais comum o aumento decorrer no Verão e Outono, com os sinais clínicos a serem demonstrados mais nestes períodos.

A imunidade, tal como nos estrongilídeos do género *Ostertagia*, demonstrou-se ser adquirida ao longo do tempo (Taylor, 2007).

A hemoncose provocada pelo parasita *Haemonchus placei* é distinta das outras parasitoses existentes no abomaso por estes serem hematófagos e provocarem uma anemia. O decurso da doença depende da quantidade de parasitas adultos e da capacidade de o animal compensar a perda dos constituintes sanguíneos. Consequentemente, numa situação crónica ocorre um défice de ferro e hipoproteinémia acompanhada com edema submandibular ou anasarca.

Com dimensões que podem chegar aos 3 cm, as fêmeas produzem até 10.000 ovos por dia, com um pico de produção às 6-7 semanas, podendo mesmo chegar às 8 semanas. As condições necessárias para o desenvolvimento da larva infectante são temperatura mínima de 10°C e precipitação de 5 cm³ por mês. Esta restrição climática não implica um menor número de larvas infectantes nos pastos, pois as fêmeas têm uma alta fecundidade, produzindo muitos ovos simultaneamente (Radostits *et al.*, 2006; Andrews *et al.*, 2008). Os ovos são depositados na Primavera e o desenvolvimento das L3 no início do Verão, podendo permanecer sob a fase EL4 no abomaso até à próxima Primavera (Taylor, 2007).

Os animais jovens são mais susceptíveis a uma grande carga parasitária ao ingerir pasto contaminado principalmente em clima quente e húmido. Na eventual quebra repentina do acesso ao pasto por seca ou sobrepastoreiro podem evidenciar sinais clínicos. A resistência pode ser adquirida, ao contrário dos ovinos, se as condições nutritivas e imunológicas estiverem adequadas (Radostits *et al.*, 2006; Andrews *et al.*, 2008; Anderson & Rings, 2009).

O género *Cooperia* é o mais comumente encontrado em bovinos jovens. É possível que este género tenha adquirido uma maior importância desde que aparentemente se tornou resistente à desparasitação com anti-helmínticos pertencentes ao grupo de lactonas macrocíclicas. A sua importância patológica em animais de produção é semelhante à dos *Trichostrongylus* pelas lesões que provocam (Bowman, 2009).

No diagnóstico por caracterização dos ovos, a sua morfologia é idêntica entre espécies e a sua distinção apenas é possível pela realização de coproculturas. Dentro das espécies, *Cooperia oncophora* é a mais patogénica para os bezerros, obtendo imunidade a uma reinfecção dentro de 8 a 12 meses, mas grandes cargas parasitárias podem induzir enterites com atrofia das vilosidades e consequente redução de área disponível para absorção dos nutrientes, diminuindo o seu ganho médio diário. Os adultos são principalmente portadores e disseminadores (Taylor, 2007).

Cooperia oncophora tem a capacidade de suspender o desenvolvimento larvar em EL4 (semelhante a *Ostertagia*) em regiões do hemisfério norte no Outono e Inverno, e no hemisfério sul na Primavera e Verão. Esta fase de hipobiose foi descrita também em períodos de seca prolongados (Taylor, 2007).

A presença de estrongilídeos do género *Cooperia* está associada igualmente à existência do género *Ostertagia*, o que agrava o quadro clínico. Com o decorrer do controlo amplamente praticado para *Ostertagia*, os parasitas do género *Cooperia* têm vindo a aumentar, o que evidencia uma maior importância para este parasita provocar doença clínica (Anderson & Rings, 2009).

Distingue-se dos restantes tricostrongilídeos o género *Nematodirus* pelo desenvolvimento em L3 dentro do ovo e a sua eclosão depender de estímulos extrínsecos, nomeadamente de um período de temperaturas baixas seguidas de temperaturas amenas. Este é normalmente predominante em ambientes que são desfavoráveis para o desenvolvimento larvar, como regiões áridas ou com Invernos longos, sendo um exemplo a larva de *Nematodirus battus*. Esta característica tende para concentrar larvas infestantes na Primavera em apenas uma geração por ano. A sua severidade é directamente proporcional à contaminação dos pastos do ano anterior (Radostits *et al.*, 2006; Taylor, 2007).

A patogenicidade de *Nematodirus helvetianus*, o mais comum em bovinos, é ainda controversa, pois ainda não foi provada a sua ligação a surtos de gastroenterites

parasitárias. Os sinais clínicos não são óbvios, apenas em infecções severas pode ocorrer diarreia (Taylor, 2007).

Quando expostos pela primeira vez a este parasita, os animais jovens rapidamente desenvolvem resistência, ao contrário de outros tricostrongilídeos. Consequentemente, este parasita está associado a uma maior patogenicidade em animais jovens no primeiro pastoreio (Radostits *et al.*, 2006).

Dictyocaulus viviparus é considerado o grande causador de bronquite parasitária em bovinos, mas afecta principalmente animais em primeiro pastoreio e com mais incidência em pastagens permanentes ou semi-permanentes. A sua proliferação pode chegar a contaminar o pasto com 33 milhões de larvas derivadas de apenas um bezerro.

O seu ciclo de vida é diferenciado dos restantes nemátodes pela localização do parasita adulto, estes encontram-se principalmente no lúmen da árvore brônquica e traqueia.

Este também difere pela eliminação nas fezes da L1 e não de ovos. Este acontecimento é devido às fêmeas adultas serem ovovivíparas e produzirem ovos que contêm uma larva completamente desenvolvida, que eclode quase imediatamente. Os ovos que se encontram nos brônquios são transferidos, estimulados pela tosse, para a traqueia onde são deglutidos. Em simultâneo estes eclodem em larvas L1 e são transportadas pelo sistema digestivo para as fezes. Estas larvas sobrevivem provavelmente por nutrientes armazenados, conceito fundamentado pela observação dos grânulos das células intestinais da larva e pelo possível desenvolvimento para larva infectante (L3) em água limpa e aerada.

A evolução para L3 requer 3 a 7 dias com humidade e temperaturas entre os 18 e 21°C, o que faz com que as larvas se desloquem do bolo fecal para a pastagem com o auxílio do fungo ubiquitário *Pilobolus* para ser ingerida pelos hospedeiros. Quando ingeridas, as L3 migram através da parede intestinal para os linfonodos mesentéricos, são transportadas pela linfa e sangue em direcção ao coração e pulmões. Nos alvéolos, rompem os capilares após uma semana para se desenvolver após alguns dias em L4 e nos bronquíolos maturarem atingindo o estágio de adultos reprodutores. Após 3 a 4 semanas inicia-se a produção de ovos. Os adultos acabam por sucumbir após algumas semanas através de mecanismos de resposta imunitária.

A patogenia divide-se em três fases: a fase pré-patente entre o 8º a 25º dia, onde a L1 percorre os alvéolos provocando alveolite, seguida de bronquite à medida que

a larva se torna num adulto imaturo (L4) percorrendo os brônquios. Em casos com grande número de parasitas pode ocorrer falha respiratória pelo desenvolvimento de edema pulmonar e enfisema intersticial, mas apesar disso, se ocorrer tratamento nesta fase poderá haver uma resposta clínica favorável.

Na fase patente, por volta do 26º a 60º dia instala-se uma bronquite parasitária devido à presença de parasitas adultos e ovos. As infecções bacterianas secundárias podem surgir provocando sequelas, e se crónicas desenvolver bronquiectasia.

A fase pós patente ocorre no 61º ao 90º dia, que nos animais jovens, caracteriza-se pela diminuição dos sinais clínicos e diminuição de parasitas adultos, mas fragmentos de parasitas adultos destruídos pela resposta imunitária podem ser aspirados e provocar uma pneumonia por corpo estranho. Permanece uma contínua inflamação brônquica evoluindo em lesões residuais como fibrose brônquica e peribrônquica que podem permanecer durante meses. As células epiteliais alveolares, em alguns casos, tornam-se cubóides e não funcionais e os animais não resistem a esta condição (Radostits *et al.*,2006; Taylor, 2007; Bowman, 2009).

A bronquite parasitária bovina é imprevisível e esporádica, pois o sistema imunitário actua mais rapidamente do que em qualquer outro nemátode, protegendo os animais jovens que se encontram no pasto contaminado. A doença clínica desenvolve-se apenas se ocorrer uma elevada taxa acumulativa de larvas nos pastos ou diminuição na resposta imunitária do animal.

A dispersão larvar pela pastagem também pode condicionar a um aumento desta parasitose, além do fungo *Pilobolus* ser capaz de dispersar as larvas por via aérea através do seu esporângio, estas podem ser transportadas pela chuva, por minhocas, por veículos ou pela passagem de pessoas ou animais.

A imunidade a uma reinfecção ocorre na exposição a larvas que sobreviveram no Inverno após o contacto com as mesmas no prévio ano. Se os animais permanecerem longos períodos em pastos não contaminados uma possível reexposição pode desenvolver doença clínica. A detecção de larvas nas fezes pela técnica de Baermann deve ser realizada 12 dias após os primeiros sinais clínicos surgirem (Radostits *et al.*,2006).

2.1.1.2 Superfamília Ancylostomatoidea

Dentro desta superfamília os ruminantes são parasitados por espécies da Família Bunostominae. Em bovinos, a espécie *Bunostomum phlebotomum* tem como macrobiótopo o intestino delgado, é um dos maiores nemátodes dos ruminantes com 1 a 3 cm, é hematófago e o seu ciclo de vida pode ser directo por ingestão da larva infectante que se encontra no pasto após uma semana de eliminação dos ovos pelas fezes, ou por penetração cutânea, que pela corrente sanguínea migra para os pulmões e coração. Desenvolvendo a L4 nos alvéolos e alcançando a árvore brônquica e faringe, onde são deglutidas, completam o seu ciclo no intestino (Andrews *et al.*,2008).

Em infecções onde se encontram 100 a 500 parasitas, ocorre progressivamente anemia, hipoalbuminemia, perda de peso e ocasionalmente diarreia. Pode ocorrer prurido nos membros por ocorrer penetração cutânea, podendo ser acompanhado com manifestações de inquietação, assim como proporcionar uma entrada para bactérias patogénicas.

A sua ocorrência é mais frequente em zonas tropicais e sub-tropicais como no sul e oeste central dos Estados Unidos, Austrália, África e partes da Europa. Em zonas temperadas é pouco comum pois as larvas são muito susceptíveis à dessecação. Os bovinos após contacto com o parasita e posterior tratamento, normalmente adquirem imunidade (Radostits *et al.*,2006 ; Andrews *et al.*,2008).

2.1.1.3 Superfamília Ascaridoidea

Os nemátodes pertencentes à Superfamília Ascaridoidea adaptaram-se ao ambiente dos seus hospedeiros alterando o ciclo de vida padrão. Com uma membrana capaz de sobreviver a condições atmosféricas adversas, o ovo deste parasita é resistente durante anos nos solos e o desenvolvimento para o terceiro estágio larvar é feito no seu interior (Bowman, 2009).

Dentro desta Superfamília encontra-se a espécie *Toxocara vitulorum* em que a principal forma de contágio é através do leite materno ou por via transplacentária.

Nos animais adultos a principal via de infecção é oral que, após ingestão dos ovos embrionados contendo a larva infectante, esta eclode no intestino delgado, migra para diferentes órgãos tais como fígado, pulmões e rins. Em hospedeiros em gestação, as larvas migram para a placenta e infectam o feto, permanecendo no fígado e pulmões, e após o parto continuam a sua migração. Larvas que até então estariam em hipobiose na glândula mamária são activadas, na altura do parto para o úbere infectando o bezerro pelo leite, onde o seu número chega a um pico após 2 a 5 dias pós-parto.No décimo dia,

o bezerro tem parasitas adultos no intestino e os ovos começam a ser eliminados às 3 semanas . A doença clínica é evidenciada através da alteração do apetite, debilidade, desnutrição, cólicas, diarreia e obstruções intestinais .É comum em condições que permitam uma grande acumulação de ovos como em instalações sobrelotadas ou não higienizados (Radostits *et al.*,2006 ; Taylor, 2007).

Apesar deste nemátode ter prevalência em zonas tropicais e subtropicais, foi descrito no Reino Unido em 2007 e na América do Norte em 2009 (Davila *et al.*,2009 ; Jones *et al.*,2009).

Os efeitos patológicos ainda não são bem definidos, poderão ser desde obstrução e perfuração intestinal, enterite e diarreia intermitente e foi demonstrada a persistência de ovos nas fezes em vitelos até 1 ano.

2.1.2 Factores interpretativos na contagem de ovos em gramas de fezes e medidas de controlo para nemátodes

A identificação dos ovos da Superfamília Trichostrongyloidea (*Ostertagia* spp, *Trichostrongylus* spp, *Haemonchus* spp, *Cooperia* spp) e Ancylostomatoidea (*Bunostomum* spp) é dificultada pela sua semelhança morfológica, assim foram designados de ovos de estrongilídeos gastrointestinais (EGI) (Bowman, 2009).

A produção diária de ovos pelos parasitas também varia entre espécies, que segundo Ueno & Gonçalves (1998) pode ser observada na Tabela 1.

Tabela 1: Estimativa de produção diária de ovos de alguns helmintes (Adaptado de Ueno & Gonçalves, 1998)

Géneros de Helmintes	Produção diária de ovos
<i>Haemonchus</i>	5.000 – 10.000
<i>Ostertagia</i> , <i>Trichostrongylus</i> , <i>Cooperia</i>	100 – 200
<i>Strongyloides papillosus</i>	3.000
<i>Nematodirus</i>	50 – 100
<i>Oesophagostomum</i> , <i>Chabertia</i>	3.000
<i>Fasciola hepática</i>	2.000 – 8.000

Segundo o mesmo autor, o cálculo aproximado obtido pela contagem de ovos por grama de fezes (OPG) dá a indicação do grau de infecção, tendo em conta a patogenicidade de cada parasita. Apesar desta avaliação não podemos descurar factores ambientais e de manejo que podem alterar a patogenicidade da parasitose.

De acordo com o cálculo de OPG pode-se estabelecer uma estimativa representada na tabela 2.

Tabela 2: Tabela indicativa do grau de infecção pela contagem OPG (Adaptado de Ueno & Gonçalves, 1998)

Género de helmintes	Grau de infecção (OPG)		
	Leve	Moderada	Grave
Infecção mista	-	200- 700	700
<i>Haemonchus</i>	200	200- 500	500
<i>Ostertagia</i>	150	-	500
<i>Trichostrongylus axei</i>	50	50- 300	300
<i>Trichostrongylus</i>	-	-	500
<i>Bunostomum</i>	20	20- 100	100
<i>Cooperia</i>	500	500-3.000	3.000
<i>Cooperia punctata</i>	50	200	200
<i>Oesophagostomum radiatum</i>	50- 150	150-500	500

Relacionar a contagem de OPG e o número de parasitas adultos não é exacto, esta pode não avaliar uma infecção real, porque o grau da infecção é diferente consoante o parasita em causa. Uma parasitose severa é frequentemente causada por formas imaturas que não produzem ovos como acontece no início duma parasitose. Por isso uma contagem baixa de OPG pode não significar que exista um baixo número de parasitas no tracto digestivo.

A patogenicidade depende da espécie do parasita, é mais severa em espécies hematófagas como *Haemonchus* e *Bunostomum* que com 5.000 ovos provocam uma perda diária de 250 ml de sangue. Já *Trichostrongylus* com valores idênticos causam pouca patogenicidade (Ueno & Gonçalves, 1998).

Outro factor que poderá influenciar o número de OPG e classificar o grau patogénico da parasitose é a existência de larvas em hipobiose. Pode ocorrer principalmente, antes do Inverno ou antes do Verão para evitar as temperaturas extremas. Foi comprovado em estudos no Oregon, hipobiose nas duas estações do ano simultaneamente. Estudos efectuados na Austrália demonstraram que ocorre uma maior propensão para hipobiose em larvas de *Ostertagia* spp, em extensivo do que em intensivo (Frank *et al.*,1988 ; Eysker, 1997).

É conhecido que ocorre um aumento de eliminação de ovos no pós-parto. Borgsteede (1978), comprovou-o pela contagem de OPG, de fêmeas em pastos durante 2 anos e estabuladas na altura do parto. Ao regressar aos pastos foram uma fonte de contaminação. Considerou duas causas para este aumento, o desenvolvimento de larvas adultas anteriormente em hipobiose antes do parto e o aumento de produção de ovos pelos parasitas reprodutores devido à imunossupressão instalada no pós-parto,

diminuindo a sua resistência ao parasita. Após coprocultura verificou serem principalmente ovos do género *Ostertagia* e *Trichostrongylus* e ovos de *Cooperia oncophora* nas primeiras duas semanas e posteriormente outro pico de larvas foi observado constituído pelos géneros *Oesophagostomum*, *Haemonchus* e *Bunostomum* (Borgsteede, 1978).

Este aumento de eliminação ovos pós-parto pode intensificar a probabilidade de infecção para os bezerros quando estes iniciam a pastagem, mas segundo Ploeger (1989) o bezerro poderá tirar benefícios pela infecção com nemátodes. Durante o seu primeiro ano de pastoreio os animais com maiores níveis de exposição ao parasita ganharam mais peso do que aqueles com menos. Em consequência, os animais mais expostos aos parasitas e com maior carga foram os que adquiriram imunidade e ganharam mais peso no segundo ano de pastagem com o mesmo contacto parasitário. Estes dados foram comprovados por medições de títulos de anticorpos e do desempenho de crescimento específico ao grupo de animais em estudo. Apesar disso o desenvolvimento de imunidade deve ser contrabalançado com uma possível diminuição do peso provocada pela parasitose (Ploeger *et al.*, 1990).

Para além de metodologias coprológicas, em situações isoladas, realiza-se outros meios de diagnóstico. Recentemente, segundo Karanikola *et al* (2015), encontra-se em estudo um novo método de diagnóstico para detectar, numa amostra de soro e em simultâneo, anticorpos específicos contra *Cooperia oncophora*, *Dictyocaulus viviparus* e *Fasciola hepatica*. Foram estudadas estas espécies porque, *Cooperia oncophora* é conhecido pela sua ligação ao mais patogénico *Ostertagia ostertagi* e pela sua resistência a antihelmínticos cada vez maior, *D. viviparus* pelo seu contributo a propiciar deficiências respiratórias e *F. hepatica* com o seu potencial zoonótico.

Devido aos custos inerentes ao manuseamento dos animais em extensivo, este método poderia vir a diminuir os custos e fornecer uma informação fundamental na avaliação de infecções mistas sem despesas maiores com múltiplos testes (Karanikola *et al.*, 2015).

O desenvolvimento de novas técnicas de diagnóstico com alta sensibilidade e especificidade com antígenos recombinantes, providenciará a possibilidade de uma diminuição tanto financeira como ao nível do bem estar animal, pela diminuição da manipulação dos animais obtendo diagnósticos rápidos e eficazes para todo o grupo de animais.

Medidas de controlo

Maneio

O parasita que causa maior perda económicas é *Ostertagia ostertagi*. O controlo mais eficaz deste parasita pode incluir uma exposição ao parasita controlada para estimular a imunidade sem provocar perdas na produção. O controlo inicia-se pela conjugação de dois maneios, o do tratamento antihelmíntico no meio do Verão para diminuir a eliminação de ovos e desenvolvimento larvar, e uma mudança de pasto para um livre de possíveis larvas infectantes.

O seu controlo é dificultado pela ineficácia na eliminação da L4 em hipobiose. Uma das hipóteses para diminuir a contaminação é alternar as pastagens com ovinos e bovinos, para diminuir o número de larvas no pasto específicas para os bovinos. Segundo Barger & Southcott (1975) e Southcott & Barger (1975) seria um método a adoptar para alguns produtores. Esta rotação pode ser igualmente eficaz para *Trichostrongylus axei*, mas apesar deste ser comum tanto em ovinos como em bovinos, foi provado que a patogenicidade do mesmo diminui quando há contágio de bovinos para ovinos. Uma possível transmissão cruzada de parasitas mais comuns em ovinos neste maneio foi relatada, mas os bezerros rapidamente estabeleceram resistência parasitária e não desenvolveram doença clínica.

Este maneio só é possível porque os ovinos são hospedeiros incompatíveis entre as espécies de parasitas que causam maiores perdas económicas para os bovinos *Ostertagia ostertagi*, *Cooperia oncophora* e *Trichostrongylus axei*. É necessário também estabelecer o tempo ideal para realizar a sequência de pastagens tanto em relação ao ciclo do parasita, como às restrições que a gestão da exploração é sujeita. Esta sequência de troca de pastagens contaminadas por pastagens livres de larvas e ovos, se for antecedida dum tratamento com antiparasitários, tem ainda melhores resultados. Outra alternativa seria alternar as pastagens deixando uma área de pasto em pousio até que as L3 não existam (Barger & Southcott, 1975; Southcott & Barger, 1975; Barger *et al* , 1984; Fakae & Chiejina , 1988 ; Kumar *et al.*, 2015; Taylor *et al.* , 2016).

A prevalência do género *Bunostomum* pode ser reduzida através da profilaxia com antihelmínticos para controlar tricostrongílideos, combinado com o maneio de pastagens, por meio de drenagem ou evitando áreas húmidas.

A prevalência de parasitas *Toxocara vitulorum* pode ser reduzida com o tratamento de bezerros entre 3 a 6 semanas de idade, evitando assim o desenvolvimento

de parasita adulto no estado patente, mais comum em animais com menos de 6 meses (Taylor, 2007).

Tratamento

Actualmente existe um leque de anti-helmínticos de amplo espectro com grande eficácia contra larvas e parasitas adultos e baixa toxicidade para os ruminantes. Contudo devem ser utilizados em protocolos profiláticos estabelecidos para cada exploração de produção animal em sistema extensivo. O seu objectivo engloba a diminuição da contaminação dos pastos permitindo uma maior produtividade, e devem ser aplicados juntamente com outros procedimentos de gestão pecuária que necessitem de confinar os animais. Deve ser considerado um protocolo economicamente viável, que permita a prevenção de possíveis doenças clínicas ou sub-clínicas e que o intervalo de segurança do anti-helmíntico seja assegurado para os animais destinados ao abate ou para produção de leite.

Para obter uma maior eficácia nos protocolos profiláticos estabelecidos deve-se realizar técnicas coprológicas para assim proceder à escolha do anti-helmíntico mais adequado.

Foram comparadas por Bosco (2014) e Levecke (2012) diferentes técnicas coprológicas como McMasters, Cornell-Wisconsin, FLOTAC e FECPAK numa contagem de redução de ovos fecais (Faecal egg count reduction), mas concluíram que por não haver diferenças significativas, para decidir a necessidade de tratamento ou na escolha do anti-helmíntico profilático num grupo de animais, qualquer uma das técnicas será apropriada. (Levecke *et al.*, 2012; Bosco *et al.*, 2014).

Os anti-helmínticos devem ser também aplicados como uso terapêutico recorrendo ao diagnóstico laboratorial prévio para a sua correcta utilização. Nestes casos, na sua escolha deve-se ter em consideração a eficácia contra a forma infectante e resultar na interrupção dos sinais clínicos.

Os antiparasitários mais recentes são endectocidas e pertencem a três grandes grupos: as avermectinas/milbemicinas, os benzimidazóis/pró-benzimidazóis e os imidazotiazóis/tetraidropirimidinas.

As avermectinas/milbemicinas, também conhecidas como lactonas macrocíclicas, são um produto resultante da fermentação em culturas de *Streptomyces avermitilis*, que interferem na neurotransmissão através da abertura de canais de cloro provocando paralisia e morte do parasita. Encontram-se no grupo de anti-helmínticos de amplo espectro eficazes contra nemátodes e artrópodes, não sendo eficazes contra

céstodes e tremátodes, se houver infecção pelos mesmos deve-se recorrer a outro princípio activo como os do grupo benzimidazóis. As avermectinas/milbemicinas têm uma eficácia e segurança alta a doses baixas.

Os benzimidazóis/pró-benzimidazóis são princípios activos que se ligam à molécula tubulina inibindo a formação de microtúbulos, interrompendo a divisão celular do parasita, actuam também no funcionamento das mitocôndrias, privando o parasita da energia provocando a sua morte. Dentro deste grupo encontram-se princípios activos teratogénicos (albendazol e oxfendazol) o que limita a sua utilização em fêmeas gestantes. Além de possuírem uma acção com amplo espectro apresentam um efeito ovicida.

Os imidazotiazóis/tetraidropirimidinas actuam como agonistas nicotínicos no sistema neuromuscular provocando paralisia, têm uma acção na sua maioria contra as formas adultas de nemátodes (Urquhart *et al.*,1996; Radostits *et al.*,2006; Bowman, 2013).

Controlo biológico

Outras estratégias podem ser utilizadas para minimizar as infecções parasitárias, para além do manejo usado tradicionalmente para o controlo de nemátodes através da utilização de antiparasitários e gestão de pastagens.

Com o conhecimento da grande biodiversidade de espécies existentes nos solos, pode-se recorrer a métodos complementares de controlo através de associações biológicas desde o parasitismo ao mutualismo entre espécies, que contribuem para que ocorra uma diminuição ou se mantenha um número mínimo de formas infectantes de parasitas patogénicos no ambiente. Dentro destas espécies incluem-se fungos, bactérias, vírus, ácaros, insectos e plantas.

Os fungos nematófagos podem ser encontrados nas pastagens tanto permanentes como temporárias, em áreas cultivadas, vegetação em decomposição e solos das florestas, zonas coabitadas por ruminantes. Estes fungos têm a capacidade de acção ovicida pela adesão no ovo, de acção larvicida por ingestão e posterior morte, ou através das hifas do fungo que capturam as larvas (por exemplo *Duddingtonia flagrans* com capacidade de resistir ao processo digestivo dos ruminantes) (Ramos, 2013).

Um estudo experimental realizado por Dimander *et al.* , (2002) avaliou 5 tipos de tratamento para nemátodes gastrointestinais. Aplicaram diferentes estratégias de controlo parasitário; sem tratamento, tratamento com bolus de Ivermectina, controlo biológico com o fungo *Duddingtonia flagrans*, administração de partículas de fio de

cobre e rotação de pastagens, com a introdução de bezerros em pastos usados por animais adultos no ano anterior e transportados para silagem em Julho. Previamente administraram 5000 larvas L3 de *Ostertagia ostertagia* e *Cooperia oncophora*. Foi confirmado o potencial negativo que tem a infecção subclínica por nemátodes. Os animais sem tratamento sofreram uma diminuição no ganho médio diário em comparação com aqueles que se administrou Ivermectina; o grupo que fez rotação de pastagem teve menor número de resultados positivos em relação ao sem tratamento e para além do nível de infecção diminuir, os animais dispostos às rotações de pastagens, tiveram acesso a pastos sem fezes, o que fundamentado por Spörndly, (1996) aumenta o tempo de ingestão de alimento. A utilização do fungo proporcionou uma redução na disponibilidade às larvas, mas ocorreram limitações ao estudo, após elevadas precipitações que tornaram o crescimento do fungo inadequado, tendo-o dispersado para longe dos ovos e larvas, não proporcionou resultados fidedignos. A administração de cobre apenas foi provada eficaz em ovinos ao contrário aplicado nos bovinos (Spörndly, 1996; Dimander *et al.*, 2003).

A eficácia deste controlo biológico de nemátodes já foi testada em Portugal, permitindo a redução significativa de larvas infectantes nas fezes e pastagens com a administração do fungo *Duddingtonia flagrans* em equídeos (Madeira de Carvalho *et al.*, 2007).

Um estudo realizado por Fincher, (1975) avaliou um factor que poderia atenuar o número de larvas nos solos. Quando em número suficiente, escaravelhos coprófagos que poderão existir no pasto, podem minimizar o impacto das fezes com possíveis L3 no solo. Estes enterram as fezes em pouco dias, retirando o acesso das larvas aos nutrientes que necessitam e assim à pastagem, diminuindo significativamente o seu número.

As avermectinas/milbemicinas são excretadas nas fezes, e consequentemente tóxicas para animais aquáticos e insectos colonizadores de fezes, como os referenciados escaravelhos coprófagos. As aves, plantas e minhocas não são afectados. Ainda assim os impactos ambientais deste processo ainda não são claros, tanto para avermectinas como com outros compostos. Por isso, um estudo mais pormenorizado dos escaravelhos coprófagos poderia confirmar ou contestar, a diminuição do contágio pelas L3 (Radostits *et al.*, 2006; Bowman, 2013).

O uso de plantas com taninos condensados no controlo parasitário vem sido estudado ao longo dos anos, os seus benefícios contribuem para uma digestão protéica e

absorção de azoto mais eficaz e o seu efeito antihelmíntico tem a potencialidade de contribuir para uma produção sustentável de ruminantes.

As plantas forrageiras que apresentam teores elevados de taninos concentrados são luzerna, sanfeno, sorgo, ervilhaca, alfafa, tremoço e trevo.

Os extractos destas plantas, como os taninos concentrados, foram analisados *in vitro* em diferentes estudos. Verificou-se uma inibição no desenvolvimento do ovo, decremento na motilidade e evolução larvar, o que diminui a contaminação de pastagens, e reduz a disponibilidade nutricional larvar, e também provoca uma diminuição na motilidade dos parasitas adultos. O modo de acção ainda não é totalmente conhecida e quais os compostos específicos que actuam, mas sabe-se que quanto mais concentrado maior a actividade anti-helmíntica. Os mecanismos de acção são idênticos para parasitas do abomaso e do intestino (Novobilský *et al.*, 2013; Sprenger *et al.*, 2015). Apesar da existência destes estudos recentes ainda há pontos a desenvolver, como qual a administração mais correcta deste compostos na alimentação de ruminantes com o fim de obter uma acção antihelmíntica (Ramos, 2013).

2.1.3 Classe Cestoda

Os céstodes pertencem ao Filo Platyhelminthes no qual existem duas ordens de interesse veterinário, a Pseudophyllidea com o género *Diphyllbothrium* e *Spirometra* que necessitam de dois hospedeiros intermediários com diferentes estados larvares e, Cyclophyllidea com cinco famílias de importância veterinária: Taeniidae, Mesocestoididae, Anoplocephalidae, Dipylidiidae e Hymenolepididae, em que na maioria dos seus ciclos biológicos ocorre um hospedeiro intermediário (Bowman, 2009).

São helmintes caracterizados por possuírem segmentos individuais planos e longos. A sua alimentação é realizada através da absorção dos nutrientes pela superfície do tegumento. Para um eficaz desenvolvimento, e como não têm órgãos de digestão, aumentam o seu tamanho para que adquiram uma maior área de superfície de absorção de nutrientes, chegando a comprimentos consideráveis.

O céstode adulto é constituído por cabeça ou escólex com órgãos fixadores, um pescoço curto não segmentado, seguido de uma cadeia de segmentos conhecida por estróbilo. Cada segmento denomina-se proglote. Os proglotes posteriores ao escólex diferenciam-se pelo estado de maturação, quanto mais posteriores são mais desenvolvidos se encontram. No decurso deste processo de maturação desenvolvem órgãos reprodutores femininos e masculinos e um ou dois poros reprodutores laterais.

São por esta razão considerados hermafroditas. A fertilização pode ocorrer tanto no mesmo segmento como entre segmentos adjacentes. O proglote no final da maturação acumula os ovos no interior de um ramo do útero, perdendo estruturas internas durante este processo. Até que por fim o segmento é destacado do estróbilo e eliminado pelas fezes. A desintegração do proglote grávido permite o acesso aos ovos aos hospedeiros intermediários.

Os ovos no seu desenvolvimento completo contêm o primeiro estágio larvar, a oncosfera ou embrião hexacanto. Envolvido por duas membranas embriónicas, a mais interior, o embrióforo, é mais espessa e estriada. A membrana embriónica mais exterior é mais frágil e desfaz-se ainda no útero.

Os ovos ao serem ingeridos pelo hospedeiro intermediário são digeridos permitindo a activação da oncosfera. Neste desenvolvem-se para um segundo estágio larvar, conhecidos como metacestóides que, dependendo da espécie, podem ser designados por cisticerco, cenuro, estrobilocerco, quisto hidático ou cisticercoide. Quando o metacestóide é ingerido pelo hospedeiro definitivo, o escólex fixa-se à mucosa intestinal e apenas permanece no hospedeiro uma porção de tecido considerada indiferenciada.

Na base do escólex desenvolvem-se segmentos formando uma cadeia de proglotes, inicialmente indiferenciados e para ao longo do tempo ocorrer a sua maturação (Urquhart *et al.*, 1996; Taylor, 2007; Bowman, 2009).

2.1.3.1 *Moniezia spp*

O género *Moniezia* pertence à família Anoplocephalidae e são frequentes sobretudo em animais em pastoreio.

Os ovos eliminados nas fezes dos hospedeiros são ingeridos por ácaros oribatídeos, nos quais desenvolve-se entre 1 a 4 meses o segundo estágio larvar, o cisticercoide. Os ácaros oribatídeos que se encontram nos pastos, têm higrotropismo positivo permanecendo nos locais húmidos do solo. São posteriormente ingeridos pelos hospedeiros juntamente com a pastagem.

A diferenciação das espécies *Moniezia expansa* e *Moniezia benedeni* só pode ser realizada microscopicamente, pelas suas distintas características morfológicas. *Moniezia expansa* é mais comum em ovinos, as glândulas interproglotídeas são observadas ao longo da margem posterior de cada segmento, enquanto que *Moniezia benedeni* é mais comum em bovinos e as glândulas interproglotídeas são mais curtas e

localizadas na parte central de cada proglote. O comprimento do segmento em relação à largura é maior em *Moniezia benedeni* do que encontramos em *Moniezia expansa*. Outra forma de distinguir estas duas espécies é através da morfologia dos ovos, sendo quadrangulares quando se trata de *Moniezia benedeni* e triangulares em *Moniezia expansa* com um embrião piriforme em ambos.

O período pré patente é de aproximadamente 6 semanas, mas parasitas adultos podem permanecer no intestino por 3 meses.

A sua patogenicidade é considerada de pouca significância, principalmente em animais adultos, mas podem ocorrer infecções massivas causando diarreia ou obstrução intestinal devido a grandes quantidades de parasitas adultos.

Durante o primeiro ano de vida é comum bezerros serem contaminados, podendo provocar perdas económicas devido a desordens gastrointestinais e consequente diminuição de peso ou ganho médio diário. A probabilidade de ocorrer infecções diminui durante o crescimento dos bezerros.

Vários estudos em África com zonas ecologicamente diferentes, demonstraram que os parasitas do género *Moniezia* permanecem nos helmintos principais em ruminantes.

A taxonomia do género *Moniezia* continua controversa, até à data foram reconhecidas 7 espécies morfologicamente difíceis de distinguir e a auto-fecundação dificulta a caracterização, a diversidade no género *Moniezia* é maior do que se pensava. Apenas está disponível informação genética para *Moniezia benedeni*, *M. expansa* e *M. monardi*. Foi desenvolvido análise de PCR para distinguir as duas primeiras. Segundo Diop *et al.* (2015) *Moniezia expansa* mantém-se predominante em ovinos e *Moniezia benedeni* em bovinos (Ba *et al.* ,1993; Diop *et al.* ,2015).

Para identificar a presença deste parasita é recomendado realizar a técnica de flutuação simples numa solução saturada de açúcar, apesar de ter uma sensibilidade de 60% em infecções leves, em graves chega aos 90%. Já foram desenvolvidos testes serológicos para o anticorpo específico e para o antigénio nas fezes, mas não se encontram geralmente disponíveis (Radostits *et al.* ,2006).

Ainda sem consenso ao número de espécies do ácaro orabíteo específicos com hospedeiro intermediário para *Moniezia benedeni* alguns autores fundamentam 37 espécies diferentes. Ainda é pouco compreendido a interacção biológica entre o ácaro e o cistiscercóide para que se estabeleça futuramente a sua patogenicidade .

A espécie *Scheloribates laevigatus* parece ser a mais comum, desenvolve um maior número de cisticercoides num tempo menor e contém a maior taxa de infecção que outras espécies estudadas específicas para *Moniezia benedeni*. Apesar disso alguns autores sugerem que qualquer espécie maior de 300 a 400 µm pode ser hospedeiro intermediário de *Moniezia* spp ou que os hábitos alimentares do ácaro podem interferir com a susceptibilidade do contágio (Xiao & Herd, 1992).

Foi até verificado numa exploração intensiva uma infecção permanente deste parasita devido a forragem contaminada com ácaros oribatídeos contendo cisticercóides e reinfecção nas camas pelos proglotes grávidos (Irie *et al.*, 2013).

Segundo Xiao & Herd (1992), baixas temperaturas diminuem a taxa de infecção dos ovos. E segundo Irie *et al.*, (2013) é possível isolar estes ácaros em solos com baixa biomassa e arenosos características encontradas nas pastagens naturais. Segundo o mesmo autor os ácaros oribatídeos podem também ser encontrados nas camas dos animais em sistema intensivo, evidenciado pela observação do mesmo nas fezes recolhidas neste estudo. Irie *et al.* (2013) conclui que há a possibilidade de ocorrer um ciclo completo também em animais estabulados (Xiao & Herd, 1992; Andrews *et al.*, 2008; Irie *et al.*, 2013).

2.1.4 Medidas de controlo para céstodes

Moniezia benedeni causa uma parasitose com patogenicidade moderada, principalmente em animais adultos, em bezerros pode provocar perdas económicas devido a desordens gastrointestinais e consequente diminuição de peso ou ganho médio diário. Para diminuir possíveis perdas é necessário proceder a medidas de controlo.

As larvas cisticercóides nos ácaros oribatídeos (hospedeiro intermediário) podem sobreviver ao Inverno, e durante a Primavera pode ocorrer um aumento de actividade dos ácaros oribatídeos na pastagem, e com isso a possibilidade de uma maior infecção deste parasita. Por estes motivos a desparasitação deverá ser no fim da Primavera com o objectivo de diminuir a contaminação de novos ácaros oribatídeos.

Como prevenção deve-se evitar o uso das mesmas pastagens com animais jovens em anos consecutivos ou realizar uma manutenção dos solos com aração e semear novas culturas.

Devido à sua patogenicidade moderada, apenas em situações de infecções severas, se altera as estratégias de controlo parasitário. Nestes casos aplica-se o uso de

antihelmínticos de largo espectro que também sejam eficazes nos céstodes. São usados anti-parasitários do grupo dos benzimidazóis (Urquhart *et al.*, 1996; Taylor, 2007).

2.1.5 Classe Trematoda (Família Paramphistomatidae)

Nos parasitas pertencentes a esta classe destacam-se os da ordem Digenea com maior relevância veterinária, onde se encontram os parasitas da família Fasciolidae, Dicrocoeliidae e Paramphistomatidae de maior interesse nos ruminantes (Bowman, 2009).

Na família Paramphistomatidae, os parasitas adultos têm uma forma atípica dentro dos tremátodes, são cónicos e espessos em vez de achatados, estão presentes no rúmen e retículo e classificam-se com diferentes géneros, o género *Paramphistomum*, *Calicophoron*, *Cotylophoron*, *Bothriophoron*, *Orthocoelium* e *Giganocotyle* sendo o mais comum o género *Paramphistomum*. (Ferrerias *et al.*, 2014; Taylor, Coop, & Wall, 2016).

As trematodoses causadas pelos géneros *Paramphistomum*, *Calicophoron*, *Cotylophoron* são subdiagnosticadas, muitas vezes consideradas irrelevantes sendo a sua importância pouco reconhecida e considerada doença subclínica.

Os tremátodes pertencentes à família Paramphistomatidae possuem uma distribuição mundial, têm uma grande prevalência em regiões tropicais e subtropicais com particularidade em África, Ásia e Austrália. A ocorrência de paramfistomoses têm sido relatadas ao longo do tempo, como específicas consoante a sua zona; na Europa *Paramphistomum cervi*, *P. daubneyi*, *P. ichikawai*, *P. microbothrium*; Austrália e Nova Zelândia, afectando bovinos e ovinos, o *Paramphistomum ichikawai* e *Calicophoron calicophorum*; na Ásia *Paramphistomum cervi*, *Paramphistomum explanatum*, *Gastrothylax crumenifer*, *Cotylophoron cotyphorum*, *Fischoederius elongates* e *Fischoederius cobboldi* (Mage *et al.*, 2002; Anuracprreda *et al.*, 2008).

A taxonomia dos géneros causadores das paramfistomoses é ainda muito contestada pois muitas espécies descritas poderão ser sinónimas, sendo diferenciadas sobretudo pelo tamanho e forma.

Os parasitas desta família necessitam como hospedeiro intermediário caracóis aquáticos encontrados no pasto junto a charcos ou lagoas. Dos géneros que podemos encontrar na Europa, os *Planorbis* e *Bulinus* distribuídos mundialmente para *Paramphistomum cervi*; os géneros *Fossaria* e *Bulinus* para *Paramphistomum*

microbothrium e os *Omphiscola*, *Galba truncatula* e *Lymnaea truncatula* em *Calicophoron daubneyi* principalmente na zona do Mediterrâneo (Taylor *et al.* ,2016).

Animais infectados eliminam ovos do género *Paramphistomum* nas fezes, que em ambiente aquático desenvolvem um miracídio no seu interior. Após 2 a 4 semanas o miracídio completa o seu desenvolvimento, pronto a eclodir do ovo. Revestido por cílios desloca-se na água para encontrar a espécie adequada de caracol aquático, e assim perfurar o seu tegumento para proceder ao seu desenvolvimento. Se este não encontrar a espécie de caracol específica, esgota as suas reservas energéticas e morre dentro de 24 horas.

No caracol aquático perde o revestimento ciliado e forma um esporocisto. Através de repetidas divisões assexuais dá origem a rédias. Estas desenvolvem-se até romperem a parede do esporocisto para se alimentarem do tecido do caracol aquático. Após novas divisões a rédia desenvolve uma segunda geração e posteriormente, forma uma terceira geração larvar a cercária. Esta com um corpo discoidal e uma cauda, liberta-se do interior do caracol até 2 meses em temperaturas amenas para se mover na água. Estes caracóis aquáticos têm a capacidade de estar em períodos secos o que prolonga no tempo (de horas a 30 dias) a possibilidade de existir cercárias após precipitação e formação de charcos.

Na água a cercária desloca-se até à superfície para alcançar vegetação acima do nível da água e poder se enquistar, formando a metacercária, com a potencialidade de sobreviver meses. Torna-se assim na forma infectante para os hospedeiros definitivos ao ingerirem a vegetação (Bowman, 2009).

Quando o quisto é ingerido a sua barreira é quebrada, as formas imaturas são libertadas no duodeno do hospedeiro definitivo e aderem à sua mucosa. Permanecem no duodeno durante aproximadamente 6 semanas para posteriormente migrarem para o retículo e rúmen, onde se desenvolvem ao estado adulto, fase que produzem ovos. O período pré patente varia entre 7 a 10 semanas (Rolfe *et al.* , 1991; Taylor, 2007).

A sua patogenicidade varia consoante a fase de desenvolvimento do parasita, os adultos no rúmen e retículo são considerados pouco patogénicos, mas em grandes quantidades provocam diminuição de peso e taxa de crescimento. Já as formas imaturas, por se fixarem à mucosa do íleo e duodeno, provocam erosão da mesma podendo originar enterites, diarreia, edema submandibular, ulcerações hemorrágicas associadas a anemia e hipoproteïnemia.

A sua epidemiologia depende do acesso a fontes de água nos pastos dos animais. Os caracóis aquáticos infectados têm a capacidade de estivar, estes resistem em períodos secos e após as chuvas a forma larvar reiniciam o seu ciclo de vida (Taylor, 2007).

As parasitoses causadas por parasitas do género *Paramphistomum* com uma grande distribuição geográfica, têm sido subvalorizadas como causa de perdas económicas ou até mortalidade principalmente em zonas tropicais e subtropicais. Na Europa foi até agora considerada inofensiva, mas recentes artigos de levantamentos epidemiológicos evidenciam um alerta para um aumento da sua prevalência e consequentes danos económicos.

Uma das possíveis causas deste aumento pode ser devido ao eficaz controlo com o uso de moléculas específicas para fasciolose desde 1990, deixando o hospedeiro intermediário como o *Galba truncatula* e o *Lymnaea truncatula* mais predisposto a ser contaminado por *Paramphistomum cervi* ou *P. daubneyi*. A possibilidade de adaptação à espécie de hospedeiro intermediário (por exemplo entre *Lymnaea truncatula* e *L. glabra*) e capacidade de sobrevivência à estivação, fecundidade e longevidade do caracol aquático possibilita um aumento na prevalência deste parasita. Foi relatado por Mage *et al.* (2002) que a prevalência de fasciolose e caracóis aquáticos infectados diminuiu e parasitoses por *Paramphistomum daubneyi* aumentaram em França (Rolfe *et al.*, 1991; Abrous *et al.*, 1999; Mage *et al.*, 2002; Díaz *et al.*, 2006; Rieu *et al.*, 2007).

O diagnóstico clínico continua não específico e os métodos imunológicos e detecção de anticorpos no soro ainda não são conclusivos. O método de contagem de ovos na câmara de McMaster segundo Rieu *et al.* (2007) continua a ser o mais fiável para demonstrar a presença de paramfistomos adultos, com uma especificidade e sensibilidade perto de 1. Neste estudo concluíram que se forem detectados mais de 100 OPG assume-se que o animal está infectado com mais de 100 paramfistomos adultos.

Estes valores de OPG são fundamentais para o estabelecimento de uma terapêutica, já que nesta parasitose a elevada carga é decisiva para a iniciar.

Com a limitação no uso dos reagentes no método de contagem de OPG, pela desvantagem dum possível erro na identificação do ovo por um de tremátode distinto, ou pela ausência de eliminação de ovos numa fase inicial da parasitose, a opção de diagnóstico para detecção com coproantigénio poderá ser futuramente uma alternativa.

Usando a mesma abordagem já estabelecida para a fasciolose, Anuracpreda *et al.*, (2008) revelaram um perfil proteico do antigénico *Paramphistomum cervi* adultos,

pela técnica de immunoblotting, com soro de bovinos infectados, e diferenciaram com outros parasitas semelhantes como a *Fasciola gigantica* e estrongilídeos. Já Díaz *et al*, (2006) avaliaram a resposta humoral de IgG contra *Calicophoron daubneyi* através da comparação entre resultados pela técnica de sedimentação e ELISA (já estabelecido para fasciolose e dicroceliose). Confirmado como elevada esta resposta imunológica, no estudo de Díaz *et al*, (2006) ocorreu um aumento no número de bovinos expostos ao parasita (Díaz, *et al.*, 2006; Rieu, *et al.*, 2007).

O aumento de casos de paramfistomoses evidência uma necessidade de novos estudos para verificar a eficácia de tratamentos e respostas imunitárias.

A imunidade estabelecida é referida por alguns autores como Díaz *et al*, (2006), que constataram que após reinfecções houve uma diminuição na resposta de anticorpos resultante dum decréscimo na carga parasitária. Mas esta imunidade estabelecida contrapõe-se com uma prevalência alta em animais com mais de 30 meses num estudo realizado por Ferreras *et al*, (2014). O motivo para esta contradição poderá ser por, apesar de haver após as reinfecções uma diminuição da carga parasitária, os animais adultos parasitados continuarem a eliminar ovos nas fezes afectando os animais jovens que pastam pela primeira vez. Apesar desta imunidade adquirida, a digestão dos alimentos e absorção permanecem diminuídas pelos danos na mucosa (Díaz *et al.*, 2006; Ferreras *et al.*, 2014).

O conhecimento estrutural do tegumento deste parasita é essencial para o desenvolvimento de antiparasitários ou vacinas, estudo já realizado por Panyarachun *et al* (2010). A variação intra e interespecífica de marcadores genéticos em Paramphistomatidae e estudos filogenéticos de tremátodes Digenea, nomeadamente a caracterização da sequência completa de rDNA de *Paramphistomum cervi* estão em curso para aprofundar os conhecimentos e futuros métodos de diagnóstico entre diferentes espécies de parasitas (Panyarachun *et al.*, 2010; Zheng *et al.*, 2014).

2.1.6 Medidas de controlo de tremátodes (Família Paramphistomatidae)

Baseado em factores epidemiológicos pode ser adoptado um sistema de controlo numa forma sustentável, envolve uma gestão de pastos e altura de desparasitação. A prevalência de caracóis aquáticos infectados pode prever uma data de tratamento ou mudança de animais. Outra alternativa seria sujeitar os animais infectados cronicamente a uma desparasitação nos períodos de risco de ingestão de metacercárias, para assim reduzir o número de ovos libertados pelas fezes nos solos e impedir

contaminação do hospedeiro intermediário na subsequente época das chuvas (Rolfe *et al.*, 1991).

Segundo Díaz *et al* (2007) e Szmidt-Adjidé *et al* (2000) a probabilidade de o hospedeiro ingerir metacercárias é entre Maio e Junho após chuvas de Janeiro-Fevereiro e Novembro e Dezembro sucedendo às chuvas de Setembro-Outubro. Estas favoreceram o desenvolvimento da cercária no caracol aquático em anterior estivação durante o Verão. Consideramos o aparecimento de ovos nas fezes 2 a 3 meses após ingestão das metacercárias, e o seu desenvolvimento com temperaturas mínimas até 5° a 6 ° C (altura que atrasa a libertação das cercárias) (Szmidt-Adjidé *et al.*, 2000; Díaz *et al.*, 2007) e de um atraso na libertação do miracídio do ovo nos 15°C comparado com 25°C (Rolfe *et al.*, 1991). No México, segundo Rangel-Ruiz (2003) entre Julho a Outubro (época das chuvas) e Novembro a Fevereiro (época ventosa) são as épocas mais propícias para encontrar animais afectados (Rangel-Ruiz, 2003).

Para diminuir possíveis infecções deve-se fornecer bebedouros aos animais com água canalizada ou tratada com moluscicida e restringir o acesso a locais com reservatórios de água naturais (Taylor, 2007).

Para o tratamento de paramfistomoses em bovinos são utilizados os princípios activos oxiclozanida e closantel, mais aplicados em tremátodes ruminais associados a ivermectina, levamisol ou resorantel (Urquhart *et al.*, 1996; Radostits *et al.*, 2006; Cardoso, 2010).

É de salientar que a junção dos compostos ivermectina associado com clorsulon, utilizados no tratamento de Fascíola hepática com regularidade não é eficaz para paramfistomos.

2.1.7 Classe Coccidia

Os animais com menos de um ano são os mais susceptíveis à parasitose por coccídeas. Apesar de nem todos reagirem da mesma forma, as alterações podem ser desde cargas parasitárias leves autolimitantes e assintomáticas até ocorrer infecções graves fatais (Andrews *et al.*, 2008).

2.1.7.1 Família Eimeriidae

As coccídeas desta família são espécie-específicas em relação ao seu hospedeiro.

Com uma distribuição ubiqüitária, são conhecidas 21 espécies que infectam bovinos, destas na Europa Central foram isoladas 13 espécies diferentes de *Eimeria*, sendo as mais comuns a *Eimeria bovis*, *E. zuernii*, consideradas mais patogénicas, e

E. Auburnensis, *E. subspherica*, *E. ellipsoidalis* e *E. alabamensis* (Faber *et al.*, 2002; Andrews *et al.*, 2008; Tomczuk *et al.*, 2015).

O ciclo de vida é dividido em três fases: esporogonia, merogonia/esquizogonia, gametogonia. Na esporogonia, oocistos não esporulados são eliminados nas fezes. A sua parede é resistente às condições climáticas adversas, de modo que, apenas em temperaturas aproximadas de 27°C, uma humidade alta e óptima oxigenação, é possibilitado ao seu núcleo se dividir e se diferenciar em 4 esporocistos com 2 esporozoítos no seu interior e designar-se oocisto esporulado. O tempo deste processo varia, mas pode ocorrer entre 2 a 4 dias. Nesta fase o oocisto esporulado encontra-se na fase infectante.

Após a ingestão dos oocistos esporulados, inicia-se a fase de merogonia/esquizogonia com uma reprodução assexuada. Nesta fase os oocistos esporulados libertam os esporocistos por acção mecânica ou devido aos níveis de dióxido de carbono, enquanto os esporozoítos são libertados do interior dos esporocistos, pela acção da tripsina e bÍlis durante a digestão.

Individualmente, cada esporozoÍto penetra uma célula epitelial intestinal e forma o trofozoÍto. Este após alguns dias divide-se para formar um meronte/esquizonte, uma estrutura que é formada por um elevado número de organismos nucleados alongados classificados como merozoÍtos. No fim da divisão e desenvolvimento, rupturam a célula epitelial intestinal e são libertados merozoÍtos para invadir células intestinais vizinhas.

A última fase, a fase de gametogonia que engloba a formação de novos oocistos, é realizada em reprodução sexuada. Inicia-se com a diferenciação dos merozoÍtos em gametÓcitos femininos e masculinos. Os gametÓcitos femininos, denominados de macrogametÓcitos, aumentam o seu tamanho e preenchem a célula parasitada, enquanto os gametÓcitos masculinos, denominados de microgametÓcitos são submetidos a várias divisões para formarem organismos unicelulares flagelados, os microgametas. Para ocorrer a fusão entre os dois núcleos, os microgametas rompem a célula epitelial para penetrar outra que contenha um macrogametÓcito. Da sua fusão resulta a formação de um zigoto que após o desenvolvimento numa parede enquistada à sua volta passa a denominar-se oocisto. Este oocisto não esporulado é posteriormente libertado nas fezes (Taylor, 2007).

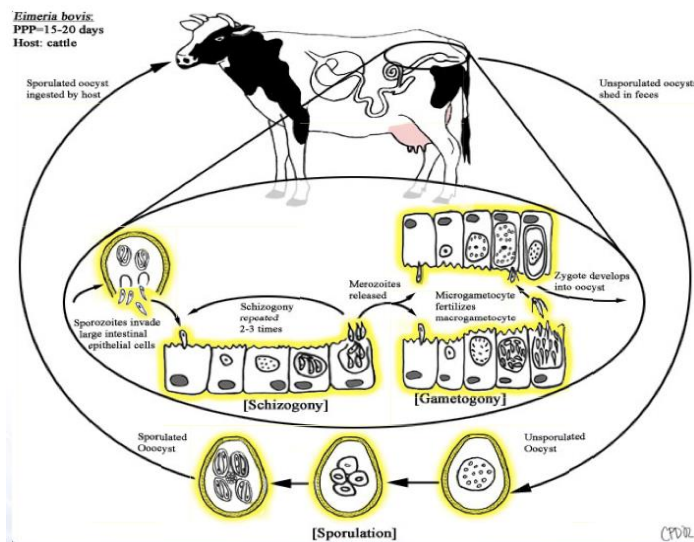


Figura 5:Ciclo de vida *Eimeria bovis*.

Fonte:
<http://research.vet.upenn.edu/ParasiteLifeCycles/EimeriabovisLifeCycle/tabid/7941/Default.aspx>

Para se realizar um prognóstico/diagnóstico específico identificando as espécies de *Eimeria* mais patogênicas, deve-se recorrer à esporulação em laboratório dos oocistos presentes nas fezes. Apesar disso é importante realçar que por si só a identificação da espécie de *Eimeria* não valida um diagnóstico de coccidiose, é fundamental correlacionar com a anamnese e sinais clínicos para descartar diagnósticos diferenciais. Na contagem de OOPG se observados valores acima de 5000 oocistos em ruminantes pode ser considerado significativo. Com valores abaixo não sugere doença clínica, mas indica uma fonte de infecção ambiental. Contagens superiores a 100.000 oocistos são comuns em surtos severos, após este pico pode ocorrer contagens baixas, mas o animal já se encontra em disenteria e em estado crítico (Radostits *et al.*, 2006).

Um grande número de oocistos pode ser encontrado em animais saudáveis, situação que já foi demonstrada em várias pesquisas com uma taxa de prevalência de 30% a 50%. É por vezes auto-limitante e benéfica esta co-existência entre o parasita e hospedeiro, porque estabelece uma resposta imunitária. Mas a eliminação de oocistos pode manter-se durante semanas ou mesmo meses provocando um possível infecção noutros animais.

Em contrapartida, oocistos não esporulados nas fezes podem não ser observados durante o diagnóstico e mesmo assim estar a ocorrer uma coccidiose severa e mesmo fatal. Isto deve-se ao facto de o ciclo de vida se encontrar durante a fase assexual, fase que ocorre ruptura das células epiteliais intestinais provocando danos, antes dos oocistos se desenvolverem.

A patogenicidade por espécie é evidenciada pela localização das células infectadas. As espécies *Eimeria zuernii* e *Eimeria bovis* infectam células na porção inferior do íleo e na fase sexuada infectam células no ceco e colón. Esta característica

faz com que *E. bovis* e *E. zuernii* sejam mais patogénicas, estas destroem as criptas das células epiteliais do colón, o que potencia a sua patogenicidade. Isto porque, quando as células do intestino delgado são infectadas e é destruído o seu epitélio, ocorre uma consequente diminuição de absorção de nutrientes, mas que num ponto de vista global, pode ser minimizada à *posteriori* pelo colón com a absorção dos mesmos. Mas quando o colón também é infectado é impossibilitado uma reabsorção de nutrientes e de água. Consequentemente pode ocorrer desidratação e desnutrição podendo provocar a morte.

Segundo estudos histopatológicos, ocorre uma infiltração inflamatória granulocítica da mucosa e observa-se detritos celulares em toda porção intestinal, assim como tífite aguda e colite necrótica. Estes danos foram registados principalmente durante o período patente da infecção. A arquitectura das vilosidades intestinais é alterada, o epitélio e células da bordadura diminuem de tamanho, e ficam com uma aparência lisa. Devido a estas alterações, a área disponível para absorção na mucosa é diminuta provocando perdas económicas com a diminuição ganho médio diário (Andrews *et al.* , 2008; Sharma *et al.* , 2015).

A coccidiose apenas se instala se ocorrer uma carga parasitária elevada ou se houver uma depressão imunitária devido a stress, exaltando um novo período de excreção mais elevado. Poderá acelerar a fase endógena do ciclo e consequente eliminação de oocistos. O stress pode ser provocado por transporte, sobrepopulação, condições atmosféricas adversas, má nutrição ou alteração na alimentação, doenças concomitantes, confinamento e alteração na hierarquia dos bovinos com introdução de um animal novo (Svensson *et al.* ,1994; Taylor, 2007).

Os sinais clínicos incluem diarreia aquosa por vezes hemorrágica, anorexia com consequente perda de peso e tenesmo. O desenvolvimento dessas diarreias líquidas em animais infectados ocorrem principalmente após pastoreio em pastagens previamente contaminadas por bovinos infectados (Andrews *et al.* , 2008).

Num estudo realizado por Samson- Himmelstjerna *et al.* (2006) com animais em primeira pastagem, foram observadas infecções com espécies diferentes de *Eimeria* e monoinfecções. A espécie predominante causadora de coccidiose, foi identificada inequivocamente como a *E. alabamensis*. Outras espécies foram encontradas em sistema extensivo como *Eimeria bovis*, *Eimeria auburnensis*, *Eimeria zuernii*, *Eimeria ellipsoidalis* e *Eimeria bukidnonensis*. A taxa de mortalidade provocada por *E. alabamensis* permanece abaixo dos 1%, mesmo quando se apresenta em polinfecções. Mas apesar de maioritariamente apresentar uma baixa morbilidade, infecções com *E.*

alabamensis podem contribuir para uma diminuição no ganho de peso médio diário durante os primeiros meses de pastagem, e ocasionalmente necessitar de tratamento para evitar uma eventual morte na sequência desta parasitose.

Nestes bovinos jovens do estudo realizado por Samson- Himmelstjerna *et al.* (2006) foi verificado um incremento de oocistos significativo após 7-9 dias de primeira pastagem. Foi comprovado que este aumento foi devido à persistência de oocistos no solo provenientes de pastagens do ano anterior com animais infectados. Além dos pastos, os oocistos podem ser transmitidos por forragens contaminadas e armazenadas por um período até 8 meses. Ao ser necessário suplementar os animais a pasto poderá ocorrer uma reinfecção.

As condições atmosféricas adversas a que são sujeitos os animais em sistemas extensivos podem provocar stress e reactivar a fase endógena do ciclo aumentando a eliminação de oocistos nas fezes (Samson- Himmelstjerna *et al.*, 2006).

Já foi fundamentado por vários autores que os bezerros obtêm imunidade ao longo do primeiro ano de vida quando em contacto com este protozoário. Esta imunidade tende a ser específica à espécie de *Eimeria* presente. No entanto, para que a imunidade se estabeleça, este tem de ser sujeito a uma infecção severa e aguda ou repetida e moderada. Assim é fundamental um equilíbrio entre o hospedeiro e este protozoário para que possa ser estabelecida uma imunidade no início de vida do animal (Faber *et al.*, 2002; Radostits, *et al.*, 2006; Bowman, 2009).

Foi comprovado que anticorpos maternos são transferidos pelo colostro, e Faber *et al.* (2002) acrescenta ainda o benefício destes anticorpos maternos contra outros protozoários da subordem de Eimeriina como *Cryptosporidium*. Foi descrito também pelo mesmo autor, um pico de OOPG de fezes durante a fase peri-parto, que apesar de não serem ainda definidos os mecanismos para este aumento, este potencia uma possível infecção ao bezerro recém-nascido (Faber *et al.*, 2002; Fiege *et al.*, 1992).

Segundo Svensson *et al* (1994) a resistência dos oocistos de *Eimeria* spp nos solos durante o Inverno pode chegar a temperaturas até -5° a -8°C durante vários meses. A esporulação para se desenvolver são necessárias condições de temperaturas amenas de pelo menos 27°C e humidade superior a 80%, ocorrendo em 4 dias. Apesar disso, os oocistos esporulados são mais resistentes do que os não esporulados, permanecendo nos solos. Esta persistência nos solos poderá ser um problema clínico a cautelar (Svensson *et al.*, 1994).

Em comparação com outros países as coccidioses podem ocorrer ao longo do ano. Na parte oeste dos Estados Unidos da América é maior no Verão, Outono e Primavera, enquanto no Canadá segue-se ao Inverno com temperaturas muito baixas ou flutuações bruscas, em bezerros com aptidão para carne com 6 a 10 meses. Na Austrália bezerros após a desmama e no primeiro ano de pastagem em clima tropical seco acompanhado com o stress de mudança de alimentação ocorre um pico de casos clínicos (Radostits *et al.* , 2006).

Outro factor de risco de infecção, é o acesso a água contaminada em bebedouros ou no ambiente. Mitchell *et al.* (2012) comprovou significativamente a associação da excreção de oocistos com a frequência da limpeza dos bebedouros. Águas paradas são um bom reservatório e propagação de oocistos coccídeos tanto no pasto como em estábulo. Está comprovado que o acesso a água limpa e de qualidade diminui tanto parasitoses como a infecção de outros patogénicos (Mitchell *et al.* , 2012).

2.1.8 Medidas de controlo para coccídeos

Sendo por vezes auto limitante, o tratamento de coccidiose sugere o isolamento do animal afectado e administrado tratamento de suporte com fluidoterapia, pois o tratamento com agentes quimioterápicos tem pouco efeito em fases tardias da doença. Para evitar o desenvolvimento de uma enterite bacteriana secundária ou pneumonia é indicado a administração de sulfonamidas. Em casos de coccidiose em fase aguda é usado o mesmo princípio activo empiricamente, pois não existe informação suficiente para estabelecer outro protocolo.

Quando o tratamento se aplica como grupo de animais a abordagem implica a administração de coccidiostáticos como o amprólio juntamente com a ração, este actua na primeira geração de esquizontes (este produto não existe em Portugal).

O controlo profilático de coccidiose envolve em sistema extensivo, o acesso a bebedouros e comedouros com ração suplementar seja acima do solo para que não ocorra contaminação fecal, e o acesso a água nos solos restringida (Radostits *et al.* , 2006; Cardoso, 2010; Bowman, 2013).

3. Objectivo

Este estudo teve como objectivo avaliar quais os parasitas gastrointestinais existentes nesta exploração de bovinos de carne em regime extensivo e semi-extensivo, dentro de diferentes faixas etárias e áreas de pastoreio distintas entre o período de 21 de Novembro 2014 a 18 de Junho de 2015.

4. Material e Métodos

4.1 Material

Neste estudo foram recolhidas amostras de bovinos com diferentes raças, géneros e em faixas etárias distintas, que permaneciam em diferentes locais consoante a sua época reprodutiva, faixa etária e objectivo produtivo.

Os bovinos foram divididos em duas categorias A e B e foram recolhidas um total de 373 amostras fecais:

Categoria A: Constituída por 3 grupos: Engorda (15- 24 meses), Prado (8-15 meses) e Desmama (6-8 meses). A recolha de amostras procedeu-se na seguinte forma:

- ✓ 105 amostras fecais de bovinos em sistema de engorda entre 21 de Novembro de 2014 e 04 de Junho de 2015.
- ✓ 64 amostras fecais de bovinos em sistema extensivo sob prado permanentes entre 10 de Fevereiro 2015 e 18 de Junho 2015
- ✓ 78 amostras fecais de bezerros durante a desmama a 05 de Março de 2015

Categoria B: Nesta categoria as amostras foram recolhidas de animais em sistema extensivo, em época reprodutiva ou fêmeas gestantes e os machos para cobrição.

A recolha de amostras procedeu-se na seguinte forma:

- ✓ 111 amostras fecais de bovinos fêmeas reprodutoras e 15 machos reprodutores que se subdividem em grupos. Foram recolhidas entre 11 de Maio de 2015 e 25 de Maio de 2015:
 - Grupo Preta E: 18 amostras de fêmeas adultas e 2 machos adultos
 - Grupo Preta D: 13 amostras de fêmeas adultas e 2 machos adultos
 - Grupo Preta C: 19 amostras de fêmeas adultas e 2 machos adultos
 - Grupo Preta DP: 14 amostras de fêmeas adultas e 2 machos adultos
 - Grupo Limousine: 8 amostras de fêmeas adultas e 1 macho adulto
 - Grupo Charolês: 5 amostras de fêmeas adultas e 1 macho adulto
 - Grupo Mertolenga: 14 amostras de fêmeas adultas e 1 macho adulto
 - Grupo Cruzada: 20 amostras de fêmeas adultas e 4 machos adultos

Estes grupos possuem fêmeas com a raça correspondente ao nome que os caracteriza e machos com raça Limousine ou Charolês, com excepção dos grupos Preta

DP e Mertolenga em que o objectivo reprodutivo é de manter uma linhagem pura com machos da respectiva raça.

As amostras fecais foram recolhidas directamente da ampola rectal com auxílio de um saco de plástico individual para cada animal. Após a recolha foram acondicionadas num recipiente térmico e transportados para o Laboratório da FMV-ULHT onde foram refrigeradas a 4C°.

Esta recolha de amostras fecais apenas foi realizada quando se procedia métodos de profilaxia ou a pesagem dos animais.

4.2 Métodos

4.2.1 Coprologia quantitativa

Contagem de ovos por grama de fezes é uma técnica que representa um valor relativo de ovos num total de fezes produzidas diariamente pelo animal. Foi utilizada para contabilizar ovos de EGI, céstodes e oocistos de coccídeas.

Esta técnica necessita de uma câmara de McMaster (Fig.6) dividida em duas grelhas com 1cm x 1cm, solução hipersaturada, dois copos graduados, vareta de vidro, pipeta, balança e microscópio óptico.

Segundo a técnica descrita por Ueno & Gonçalves (1998) é aconselhado para bovinos adultos pesar 4 gramas de fezes, recolhidas directamente do recto, com o auxílio de uma balança e adicionar 56ml de solução saturada num copo de goblé. Homogeneizou-se a mistura e filtrou-se para outro copo graduado para assim retirar todo o material sólido existente. Com uma pipeta retirou-se a parte do filtrado de modo a preencher as duas grelhas da câmara de McMaster. Ao fim de aproximadamente 5 minutos procedeu-se à observação microscópica e contagem dos ovos em ambas as grelhas, excluindo os ovos visualizados fora da grelha.

Após finalizar a contagem multiplicou-se o número total de ovos/oocistos por 50 para obter o resultado de ovos por gramas de fezes (Ueno & Gonçalves, 1998; Gibbons, *et al.* , 2015).

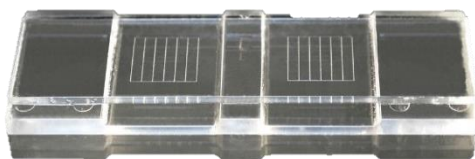


Figura 6: Câmara Macmaster. Fonte: <http://www.vetslides.com/two-chamber-macmaster-counting-slides>

4.2.2. Coprologia qualitativa

Técnica de flutuação simples é utilizada para identificar ovos de nemátodes e céstodes por suspensão, pela maior densidade do soluto em relação aos mesmos.

Para este estudo e no seguimento da técnica de contagem de ovos por grama de fezes utilizou-se o filtrado obtido e introduziu-se num tubo de ensaio de modo a preenchê-lo até a formação de um menisco. Colocou-se uma lamela e aguardou-se aproximadamente 20 minutos. Para observação no microscópio óptico retirou-se a lamela colocando-a sobre uma lâmina com o cuidado de não perder o conteúdo líquido da lamela. A observação foi realizada com lentes objectivas 4x e 10x para melhor identificar os ovos/oocistos. Foi possível obter medições dos ovos/oocistos com o auxílio de uma régua no microscópio óptico, para uma identificação mais precisa (Ueno & Gonçalves, 1998).

Técnica de sedimentação natural tem como vantagem a recuperação de ovos mais pesados como os dos tremátodes, alguns céstodes e larvas que não flutuam com as soluções hipersaturadas.

Após realizar a técnica de flutuação simples utilizou-se o mesmo tubo de ensaio para realizar esta técnica. Assim retirou-se o sobrenadante até 2/3 sem agitar o sedimento e aguardou-se aproximadamente 30 minutos. Retirou-se com o auxílio de uma pipeta Pasteur uma porção de filtrado que permanece no fundo do tubo de ensaio e colocou-se numa lâmina. Para visualizar no microscópio óptico procedeu-se à coloração com uma gota de Azul de Metileno para que partículas vegetais ou fecais obtenham uma cor azulada deixando os ovos com a sua coloração natural (Ueno & Gonçalves, 1998; Gibbons, *et al.*, 2015).

Técnica de Baermann é também usada para detectar larvas do primeiro estágio de nemátodes pulmonares, apesar do seu biótopo ser a árvore brônquica, para completarem o seu ciclo estes migram para o sistema digestivo sendo eliminadas novas formas larvares L1 nas fezes. O fundamento desta técnica baseia-se na migração ou movimento das larvas das fezes para a água limpa.



Figura 7: Adaptação de aparelho de Baermann.
Fotografia de: Catarina Oliveira no Lab Vet ULHT

Para realizar esta técnica é necessário o auxílio do aparelho de Baermann apresentado na figura nº7. Colocou-se uma “trouxa” de gaze com aproximadamente 5 a 10 gramas de fezes suspensa numa vareta na boca do funil. Após o preenchimento do funil com água da torneira tépida, de modo que envolva por completo as fezes, aguardou-se 24 horas para permitir a migração das larvas para a água. Com o auxílio da torneira retirou-se do fundo do funil alguns mililitros da solução para um tubo de ensaio, aguardando pelo menos 30 minutos para proceder à observação microscópica. Retirou-se com uma pipeta Pasteur uma gota para uma lâmina e procedeu-se à coloração com soluto de Lugol. Na observação microscópica é necessário distinguir nemátodes de vida livre ou com estágios diferentes do parasita específico que pesquisamos, que neste trabalho foi o *Dictyocaulus viviparus* (Ueno & Gonçalves, 1998) (Gibbons *et al.* , 2015).

4.2.3 Coprocultura

Muitos ovos de Nemátodes têm uma morfologia idêntica como os géneros *Haemonchus*, *Ostertagia*, *Trichstrongylus*, *Cooperia*, *Bunostomum*, e *Oesophagostomum*, de modo a distingui-los, foi necessário proceder a coproculturas das amostras para assim os identificar pelo estudo morfológico larvar, a espécie de parasita. Esta técnica proporciona um ambiente adequado para os ovos eclodirem e se desenvolver a larva infectante L3.

Para realizar esta técnica são necessárias aproximadamente 30 gramas de fezes, retiradas directamente do recto. Com as fezes homogeneizadas com serradura estéril introduziu-se num copo de plástico, com papel de alumínio tapou-se o copo, mas fez-se furos no papel para que permita aerificação da cultura proporcionando um meio aeróbico e evitar crescimento de fungos. De seguida permaneceu no meio ambiente durante 15 dias. Para recolher as larvas preencheu-se o copo com água corrente, com uma placa de Petri tapou-se o copo para inverte-lo. Na placa de Petri colocou-se 5 a 10 ml de água. No dia seguinte retirou-se o conteúdo que permanece na placa de Petri com o copo invertido para um tubo de ensaio. Após algumas horas retirou-se o sobrenadante para retirar do fundo do tubo de ensaio, com o auxílio de uma pipeta Pasteur, uma gota para uma lâmina e procedeu-se à coloração com Lugol para distinguir larvas de vida livre que rapidamente obtêm a cor castanho escuro enquanto as larvas parasitárias coram lentamente devido à sua membrana protectora.

A identificação microscópica foi realizada com lentes objectivas de 4x, 10x e 40x, considerando características morfológicas de identificação pelas chaves dicotômicas e informações obtidas referidos nos anexos V, VI, VII, VIII, IX e X.

É de salientar que os ovos de tremátodes e céstodes não eclodem na coprocultura, devido a isso apenas se caracterizou nemátodes (Ueno & Gonçalves, 1998; Gibbons *et al.*, 2015).

4.3 Análise estatística

Foi utilizado o Microsoft Office Excel 2007 onde foram introduzidos os dados para posterior análise no SPSS 22.

A análise estatística teve por base os resultados da coprologia quantitativa (que deram origem a variáveis quantitativas representadas na tabela nº 3) e da coprologia qualitativa (que deram origem a variáveis qualitativas ou categóricas representadas na tabela nº 4)

Tabela 3: Variáveis quantitativas

Nome variável	Conteúdo	Unidade
OPG EGI	Contagem de ovos/oocistos em gramas de fezes avaliando a sua carga parasitária	Múltiplos de 50
OOPG <i>Eimeria spp</i>		
OPG <i>Moniezia benedeni</i>		
OPG <i>Toxocara vitulorum</i>		

Tabela 4: Variáveis qualitativas

Nome variável	Conteúdo	Unidade
EGI	Presença ou ausência de ovos de parasitas visualizados com o auxílio das técnicas coprológicas qualitativa de flutuação simples (Willis) e sedimento natural	0 = negativo 1= positivo
<i>Eimeria spp</i>		
<i>Moniezia benedeni</i>		
<i>Toxocara vitulorum</i>		
<i>Paramphistum spp</i>		

A análise realizada para a categoria A incluiu ainda as variáveis Grupo, dia de recolha e Estação do Ano de acordo com a chave representada na tabela nº 5. Para a categoria B foi analisada a variável Grupo, descrita na tabela nº 6.

Tabela 5: Chave representativa da Categoria A

Nome variável	Conteúdo	Chave
Grupo	Grupos divididos por faixas etárias e manejo	1= Engorda 2 = Prado 3 = Desmama
Recolha	Data de recolha da amostra fecal	1= 21/11/2014 8= 15/06/2015 2= 27/01/2015 9= 18/06/2015 3= 10/02/2015 10=05/03/2015 4= 09/04/2015 11= 12/05/2015 5= 03/06/2015 12= 15/05/2015 6= 04/06/2015 13= 15/05/2015 7= 24/02/2015 14=20/05/2015 15=25/05/2015
Estação do Ano *	Condição atmosférica na data de recolha das amostras	1= Primavera 3= Outono 2= Verão * 4= Inverno

*Devido à limitação de tempo na recolha de amostras, não estão presentes nenhuns elementos no Verão

Tabela 6: Chave representativa da Categoria B

Nome variável	Conteúdo	Chave
Grupo	Grupos estabelecidos por grupo de animais que coabitam em locais distintos	1= Preta E 5= Charolês 2= Preta D 6= Mertolenga 3= Preta C 7= Preta DP 4= Limousine 8= Cruzada

Para as variáveis quantitativas realizou-se inicialmente uma análise estatística descritiva, seguindo-se testes ANOVA para comparação de médias de OPG/OOPG e correlações de Spearman.

Para as variáveis qualitativas a análise estatística descritiva baseia-se em análise de frequências relativas e absolutas com os respectivos gráficos, sendo a análise estatística inferencial baseada em testes de chi-quadrado, visando o estudo das relações entre variáveis em estudo.

5. Resultados

5.1 Análise quantitativa relativo ao OPG/OOPG

5.1.1 Estatística descritiva

Os Anexos II, III e IV apresentam as estatísticas descritivas das variáveis quantitativas, ou seja, dos resultados obtidos na contagem de ovos por grama de fezes e oocistos por grama de fezes.

Na categoria A, como apresentado nos Anexos II e III, podemos verificar que o maior número de ovos/oocistos visualizados, em média foi para EGI e *Moniezia benedeni* nos animais no grupo Prado com 137,5 e 35,94 OPG, respectivamente e no grupo Desmama para *Eimeria* spp. com 2233,33 OOPG.

No Anexo IV observa-se uma análise estatística descritiva dentro de cada grupo da Categoria B, possibilitando observar uma comparação nas médias de OPG/OOPG por raça. Observa-se que a média para OOPG de *Eimeria* spp. e OPG de *Moniezia benedeni* foi superior para o grupo 8 (Cruzada) com respectivamente, 2781,25 OOPG de *Eimeria* spp. e 12,50 OPG de *Moniezia benedeni*. Para EGI com 27,78 OPG o maior número visualizado em média foi para o grupo 4 (Limousine).

5.1.2. Análise inferencial

De seguida procedeu-se a uma comparação destas variáveis quantitativas para ambas as categorias.

Para a categoria A o objectivo foi, fundamentalmente, detectar diferenças significativas entre as médias de OPG/OOPG dentro dos 3 grupos para os diferentes parasitas, com o auxílio do teste ANOVA. Foram encontradas diferenças significativas entre os três grupos para OOPG de *Eimeria* spp. ($F(2, 244) = 49,681, p=0,000$), e OPG de *Moniezia benedeni* ($F(2, 244) = 4,872, p=0,026$). Os testes post-hoc de Bonferroni e de Tukey HSD indicaram que essas diferenças significativas foram entre as contagens de OOPG de *Eimeria* spp. e foi no grupo Desmama que essa diferença se observou maior. A diferença entre a média é de 2890,741 (entre os grupos Engorda e Desmama) e de 3128,438 (entre os grupos Prado e Desmama) oocistos por grama de fezes.

A diferença entre as médias de OOPG *Eimeria* spp. entre os grupos Engorda e Prado não é significativa.

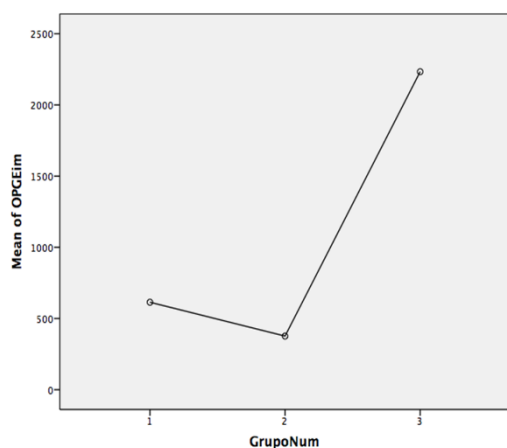


Gráfico 1 : Média de OOPG *Eimeria* spp. por grupo Engorda (1), Prado (2) e Desmama (3)

No caso de *Moniezia benedeni* diferenças significativas foram para o grupo Prado sendo a diferença de 35,94 OPG entre o mesmo e o grupo Engorda e 28,245 OPG entre os grupos Prado e Desmama em média.

A diferença entre as médias de OPG *Moniezia benedeni* entre a Engorda e Desmama não é significativa.

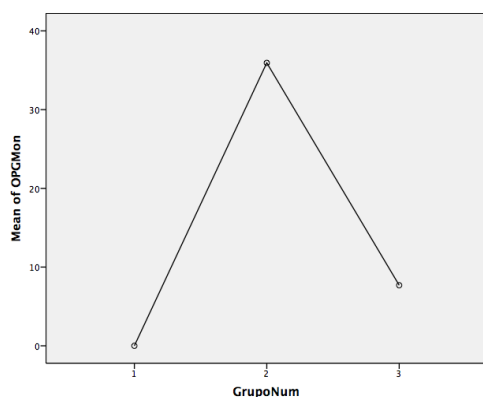


Gráfico 2 : Média de OPG *Moniezia benedeni* por grupo Engorda (1), Prado (2) e Desmama (3)

Nesta análise não é significativa a diferença entre médias de OPG para EGI e *Toxocara vitutlorum*.

Numa análise fundamentada no dia da recolha, os resultados obtidos tiveram diferenças significativas em OPG de EGI ($F(14, 232) = 2,591$, $p = 0,02$) e OOPG *Eimeria* spp. ($F(14, 232) = 29,061$, $p = 0,00$). Os testes post-hoc de Bonferroni e de Tukey HSD indicaram que há diferenças significativas entre as contagens de OPG de EGI entre a recolha nº3 e com as recolhas nº 1 a 7, 10,11,14 e 15

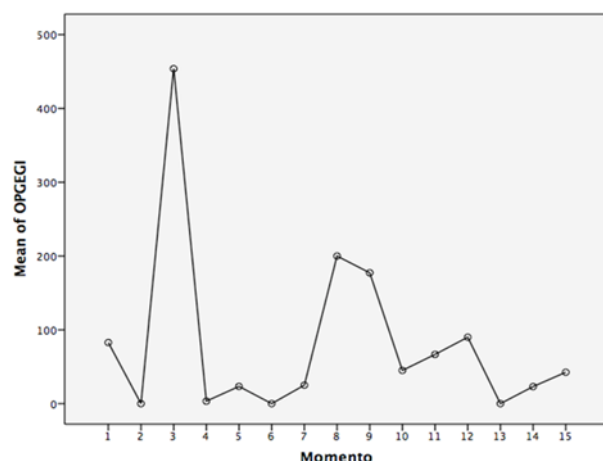


Gráfico 3 : Média para OPG EGI para recolhas (1 a 15)

Para as contagens de OOPG de *Eimeria* spp. as diferenças significativas foram entre as recolhas nº 15 e nº1 a 4 e nº6 a 13 e entre as recolhas nº 5 e os nº 1 a 4, nº 7 a 10 e nº 13.

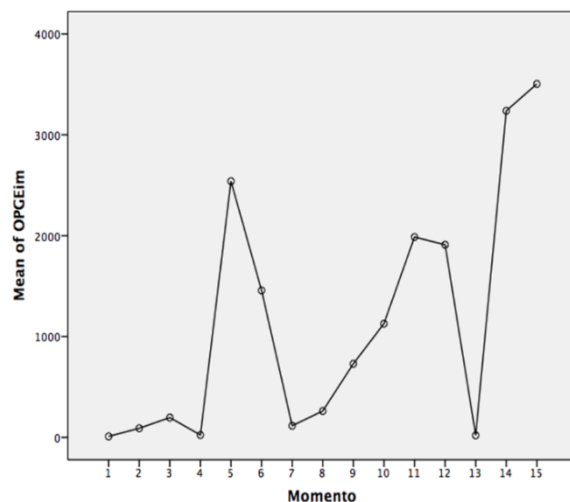


Gráfico 4: Média de OOPG *Eimeria* spp. para cada recolha (1 a 15)

A diferença entre as médias de OPG *Moniezia benedeni* e OPG *Toxocara vitulorum* dentro dos diferentes números de recolha não foi significativa.

Dentro desta categoria ainda foi possível realizar uma análise em relação à condição atmosférica e recolha das amostras. O teste de Tukey HSD assinalou que há diferenças significativas apenas nos OOPG *Eimeria* spp. entre a Primavera, o Outono e o Inverno com diferenças entre médias de 1404,1 e 862,4 OOPG respectivamente.

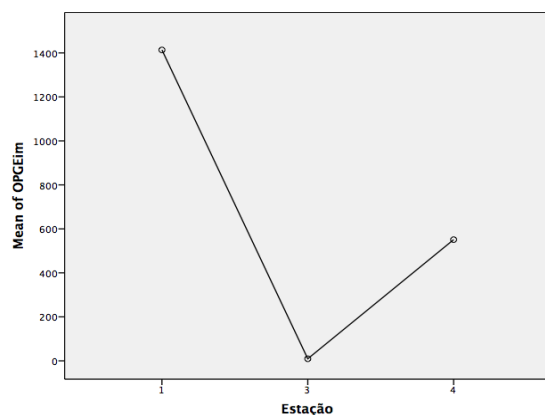


Gráfico 5: Média de OOPG *Eimeria* spp. durante as Estações do Ano. Primavera (1), Outono (3) e Inverno (4)

Para a Categoria B foram encontradas diferenças significativas entre os 8 grupos para OOPG *Eimeria* spp. ($F(7, 118) = 24,342, p = 0$) com o auxílio do teste ANOVA. Os testes post-hoc de Bonferroni e de Tukey HSD revelaram uma diferença significativa entre os OOPG *Eimeria* spp. no Grupo 8 em relação aos restantes grupos com exceção do Grupo 2 em que a diferença é menos significativa.

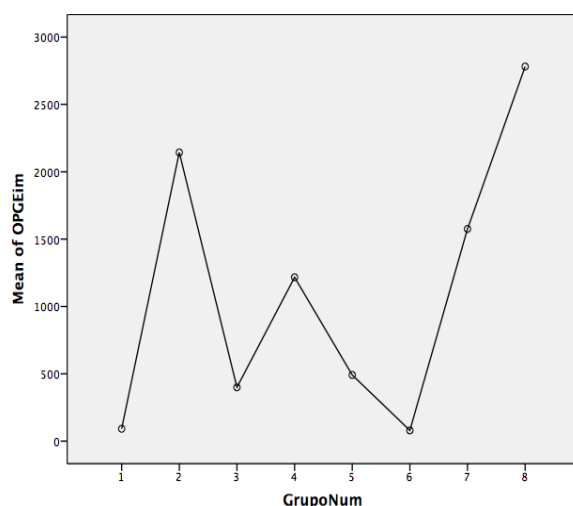


Gráfico 6: Média de OPG *Eimeria* spp. para cada grupo (1 a 8)

5.2 Análise qualitativa dos resultados obtidos pela técnica de Flutuação simples e sedimentação natural

5.2.1 Análise de frequências

As tabelas nº7 a 15 apresentam a análise das frequências absolutas e relativas dentro das variáveis qualitativas recolhidas. São apresentados os resultados dos testes de flutuação simples para EGI, *Eimeria* spp., *Moniezia benedeni*, *Toxocara vitulorum* e sedimentação para *Paramphistomum* spp.

Categoria A

Nesta categoria a percentagem de resultados positivos foi para EGI de 76,5%, *Eimeria* spp. 66,8%, *Moniezia benedeni* 8,1%, *Toxocara vitulorum* 0,4% e para *Paramphistomum* spp. 7,3% num total de 247 amostras fecais.

Tabela 7: Análise de frequência absolutas e relativa EGI por grupo

	EGI		Total
	Negativo	Positivo	
Engorda	46	59	105
Prado	5	59	64
Desmama	7	71	78
Total	58	189	247
%	23,5 %	76,5%	100%

Tabela 8: Análise de frequência absoluta e relativa *Eimeria* spp. por grupo

	<i>Eimeria</i> spp.		Total
	Negativo	Positivo	
Engorda	65	40	105
Prado	13	51	64
Desmama	4	74	78
Total	82	165	247
%	33,2%	66,8%	100%

Tabela 9: Análise de frequência absoluta e relativa *Moniezia benedeni* por grupo

	<i>Moniezia benedeni</i>		Total
	Negativo	Positivo	
Engorda	105	0	105
Prado	49	15	64
Desmama	73	5	78
Total	227	20	247
%	91,9%	8,1%	100%

Tabela 10: Análise de frequências absoluta e relativa *Toxocara vitulorum* por grupo

	<i>Toxocara vitulorum</i>		Total
	Negativo	Positivo	
Engorda	104	1	105
Prado	64	0	64
Desmama	78	0	78
Total	246	1	247
%	99,6%	0,4%	100%

Tabela 11: Análise de frequências absoluta e relativa *Paramphistomum* spp. por grupo

	<i>Paramphistomum</i> spp.		Total
	Negativo	Positivo	
Engorda	103	2	105
Prado	55	9	64
Desmama	71	7	78
Total	229	18	247
%	92,7%	7,3%	100%

Categoria B

Nesta categoria diferenciada por reprodutores e raças a percentagem de positivos foi de para EGI 37,3%, *Eimeria* spp. 87,3%, *Moniezia benedeni* 6,3% e para *Paramphistomum* spp. 10,32% num total de 126 amostras.

Tabela 12: Análise de frequências absolutas e relativas EGI para cada grupo

	EGI		Total
	Negativo	Positivo	
1	12	8	20
2	14	1	15
3	15	6	21
4	7	2	9
5	4	2	6
6	11	4	15
7	7	9	16
8	9	15	24
Total	79	47	126
%	62,7%	37,3%	100%

Tabela 13: Análise de frequência absoluta e relativa *Eimeria* spp. para cada grupo

	<i>Eimeria</i> spp.		Total
	Negativo	Positivo	
1	4	16	20
2	1	14	15
3	0	21	21
4	0	9	9
5	0	6	6
6	11	4	15
7	0	16	16
8	0	24	24
Total	16	110	126
%	12,7%	87,3%	100%

Tabela 14: Análise de frequência absoluta e relativa *Moniezia benedeni* para cada grupo

	<i>Moniezia benedeni</i>		Total
	Negativo	Positivo	
1	16	4	20
2	15	0	15
3	19	2	21
4	9	0	9
5	6	0	6
6	15	0	15
7	16	0	16
8	22	2	24
Total	118	8	126
%	93,7%	6,3%	100%

Tabela 15: Análise de frequência absoluta e relativa *Paramphistomum* spp. para cada grupo

	<i>Paramphistomum</i> spp.		Total
	Negativo	Positivo	
1	20	0	20
2	15	0	15
3	20	1	21
4	9	0	9
5	5	1	6
6	13	2	15
7	13	3	16
8	18	6	24
Total	113	13	126
%	89,68%	10,32%	100%

5.2.2 Análise Inferencial

Após realizada a análise descritiva das frequências, estabeleceu-se uma análise de relações entre as variáveis qualitativas, como a existência de alguma relação proporcional entre os Grupos e os resultados positivos ou negativos obtidos pela técnica de flutuação simples e sedimentação para os diferentes parasitas. Assim sendo, foram estabelecidas as seguintes relações através de testes de chi-quadrado:

Categoria A

Verificou-se uma relação significativa entre variáveis:

- 1) Grupo e EGI (χ^2 (2, N= 247) = 42,029, $p=0,000$) resíduos: (Engorda: -21,3; Prado: 10; Desmama: 11,3)
- 2) Grupo e *Eimeria* spp. (χ^2 (2, N=247) = 71,521, $p= 0,000$) resíduos: (Engorda: 30,1; Prado: -8,2; Desmama: -21,9)

Verifica-se em ambos os casos, que a proporção de animais parasitados com EGI nos grupos da Desmama e Prado são superiores aos do grupo Engorda, onde a proporção de animais não parasitados é maior que nos anteriores grupos; em relação ao parasitismo por *Eimeria* spp. verifica-se um aumento proporcional no grupo Desmama em relação ao grupo Prado que no valor de EGI não se verifica.

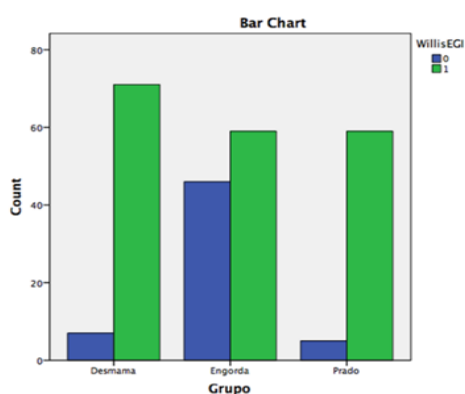


Gráfico 8: Resultados positivos e negativos para EGI nos grupos Desmama, Engorda e Prado

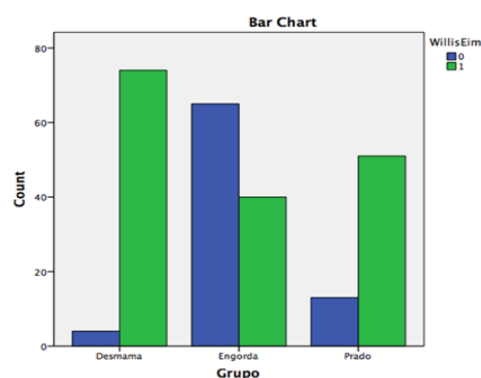


Gráfico 7: Resultados positivos e negativos para *Eimeria* spp. nos grupos Desmama, Engorda e Prado

- 3) Grupo e *Moniezia benedeni* (χ^2 (2, N=247) = 29,788, $p= 0,000$) resíduos: (Engorda: -8,5; Prado: 9,8; Desmama: -1,3), verifica-se que o Grupo Prado tem uma proporção de animais positivos maior que os restantes Grupos apesar do grupo Desmama se aproximar mais desses valores.
- 4) Grupo e *Paramphistomum* spp. (χ^2 (2, N= 247) = 9,179, $p= 0,010$) resíduos: (Engorda: -5,7; Prado: 4,3; Desmama:1,3) verifica-se uma proporção de animais parasitados maior no grupo Prado e Desmama do que no grupo Engorda.

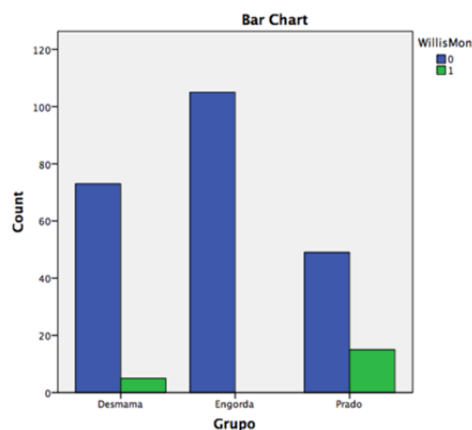


Gráfico 9: Resultados positivos e negativos para *Moniezia benedeni* nos grupos Desmama, Engorda e Prado

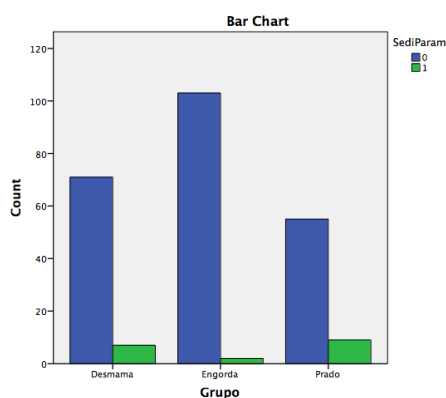


Gráfico 10: Resultados positivos e negativos para *Paramphistomum* spp. nos grupos Desmama, Engorda e Prado

- 5) A análise entre os Grupos e *Toxocara vitulorum* os resultados negativos e positivos não teve resultados significativos.

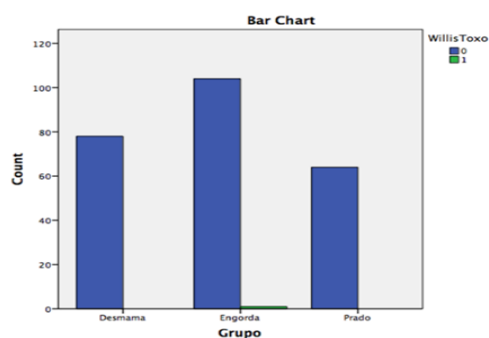


Gráfico 11: Resultados positivos e negativos para *Toxocara vitulorum* nos grupos Desmama, Engorda e Prado

Categoria B

Realizou-se para esta categoria, igualmente através de testes chi-quadrado a verificação da existência de alguma relação entre o Grupo e resultados positivos ou negativos obtidos pelos testes de Flutuação Simples e Sedimentação para os diferentes parasitas. Assim sendo, foram estimadas as seguintes relações com significância entre as variáveis:

- 1) Grupo e EGI (χ^2 (7, N=126) = 17,379, p= 0,015) verifica-se que o Grupo 8 (Cruzada) tem em proporção um número superior de animais parasitados do que os restantes grupos.
- 2) Grupo e *Eimeria* spp. (χ^2 (7, N= 126) =62,255, p= 0,000) observou-se que os grupos 3 e 8 (Preta C e Cruzada) tem o número maior de positivos, e apenas o Grupo 6 (Mertolenga) tem em proporção um número maior de resultados negativos que os restantes Grupos.

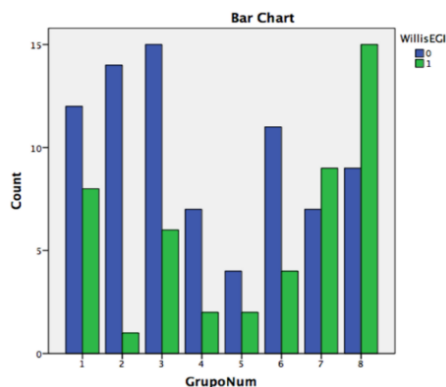


Gráfico 13: Resultados positivos e negativos para EGI nos 8 grupos

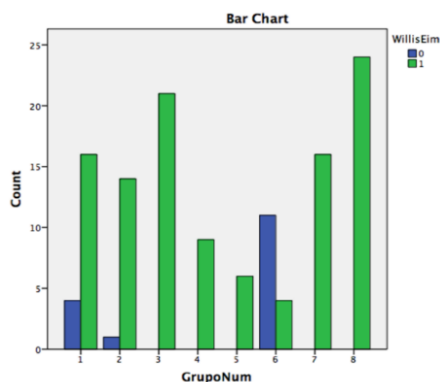


Gráfico 12: Resultados positivos e negativos para *Eimeria* spp. nos 8 grupos

3) Não houve uma relação significativa entre os Grupos (1 a 8) entre os resultados positivos e negativos para o *Moniezia benedeni*, *Toxocara vitulorum* e *Paramphistomum* spp.

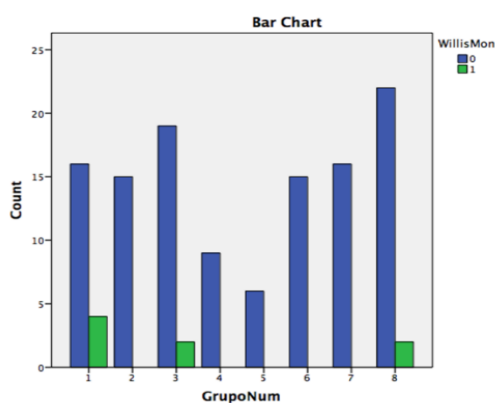


Gráfico 14: Resultados positivos e negativos para *Moniezia benedeni* nos 8 grupos

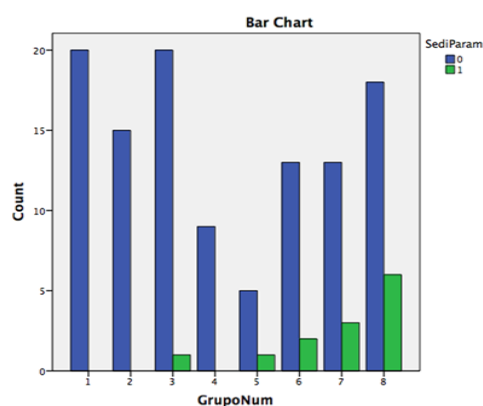


Gráfico 15: Resultados positivos e negativos para *Paramphistomum* spp. nos 8 grupos

As próximas figuras nº 8, 9, 10, e 11 exemplificam algumas observações na técnica de Flutuação simples de EGI (fotografias originais da autora):

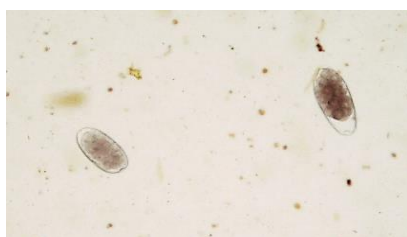


Figura 9: Ovos EGI com características distintas

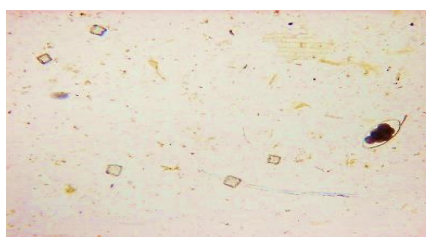


Figura 8: Infecção mista com ovos EGI, *Moniezia benedeni*, *Nematodirus* spp.

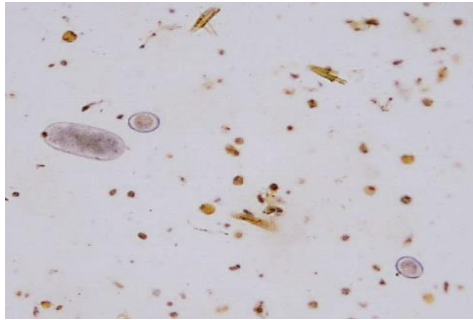


Figura 10: Ovo de EGI e oocisto de *Eimeria* spp.

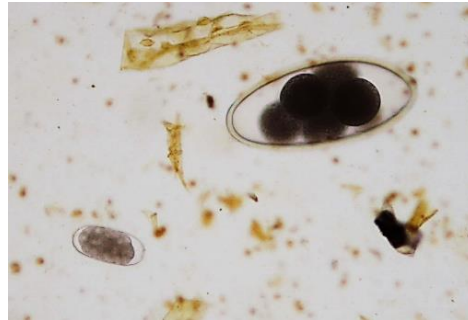


Figura 11: Ovos de EGI com distinção de *Nematodirus* spp. no lado direito

Representado nas figuras 12 e 13 encontram-se exemplos de ovos de *Moniezia benedeni* observados (fotografias originais da autora):

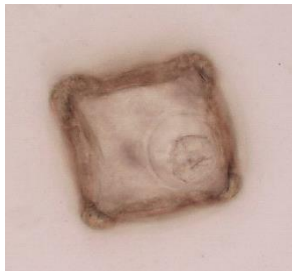


Figura 13: Ovo *Moniezia benedeni* com oncosfera

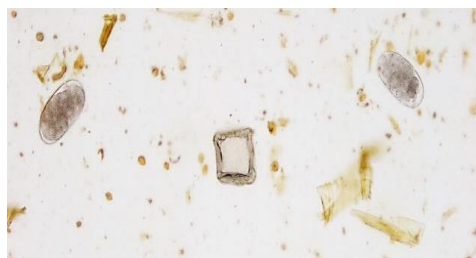


Figura 12: Ovo *Moniezia benedeni* e ovos EGI

De seguida nas figuras 14, 15, 16, 17, 18 e 19 encontra-se fotos de oocistos observados neste estudo (fotografias originais da autora):



Figura 14: Oocisto *Eimeria* spp.



Figura 15: Oocisto *Eimeria* spp.



Figura 17: Oocisto de *Eimeria* spp. Figura 16: Oocisto de *Eimeria* spp.

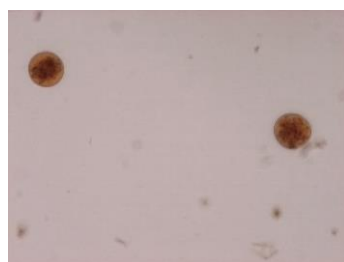
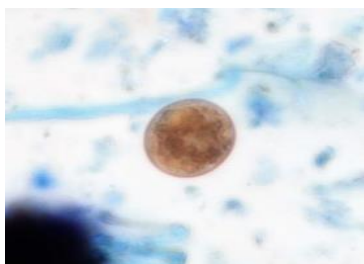


Figura 18: Oocisto de *Eimeria* spp. Figura 19: Oocisto *Eimeria* spp.

Nas figuras 20, 21 e 22 encontra-se fotos de ovos de *Paramphistomum* spp. observados neste estudo (fotografias originais da autora)

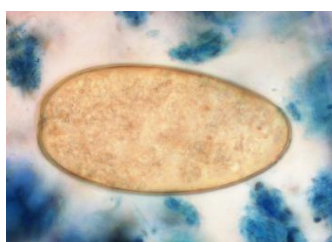


Figura 22: Ovo de *Paramphistomum* spp.



Figura 21: Ovo de *Paramphistomum* spp.



Figura 20: Ovo de *Paramphistomum* spp.

5.3 Análise qualitativa dos resultados obtidos pela técnica de Baermann e Coprocultura

Técnica de Baermann

Os resultados obtidos pela técnica de Baermann revelaram que apenas duas amostras foram positivas para larvas L1 de parasitas pulmonares, na Categoria A nos dias de recolha 1 e 10 e os restantes negativos.

Coprocultura

Através da realização de coproculturas foi possível observar as larvas no terceiro estágio de desenvolvimento (L3) de estrongilídeos, que por meio da contagem das larvas L3, foi possível avaliar a prevalência dos principais parasitas gastrointestinais presentes na população de ruminantes estudados. A classificação foi realizada consoante a chave dicotómica e diagramas nos Anexo X, XI e XII e assim como as representações morfológicas nos Anexos VII, VIII e IX.

Representados nos gráficos 16, 17 e 18 estão as percentagens para cada grupo da categoria A em cada recolha e no gráfico 19 as percentagens para os grupos da categoria B.

Categoria A

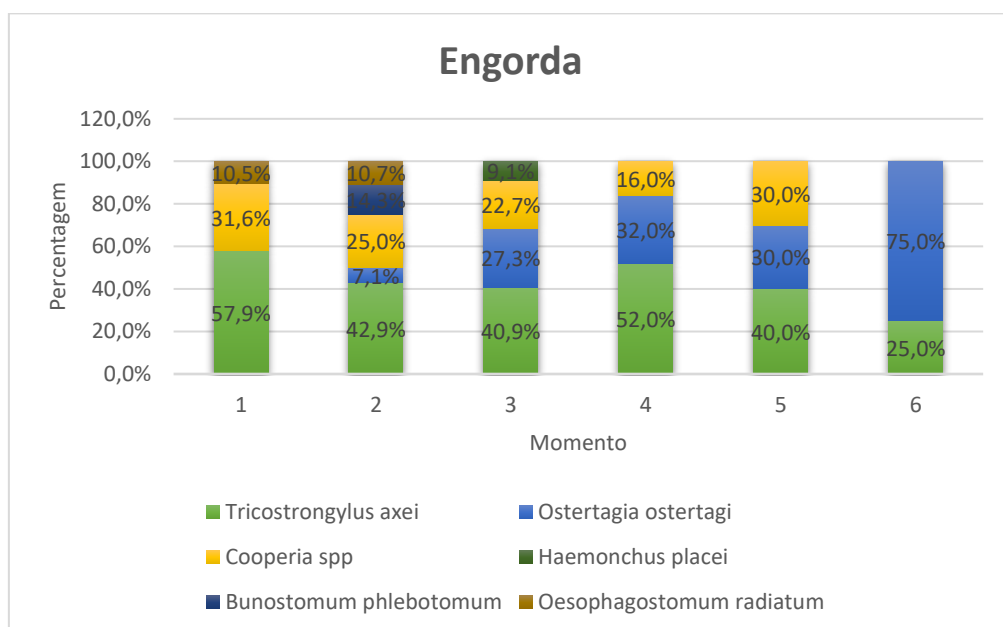


Gráfico 16 : Percentagem de larvas obtidas por coprocultura em cada recolha (Engorda)

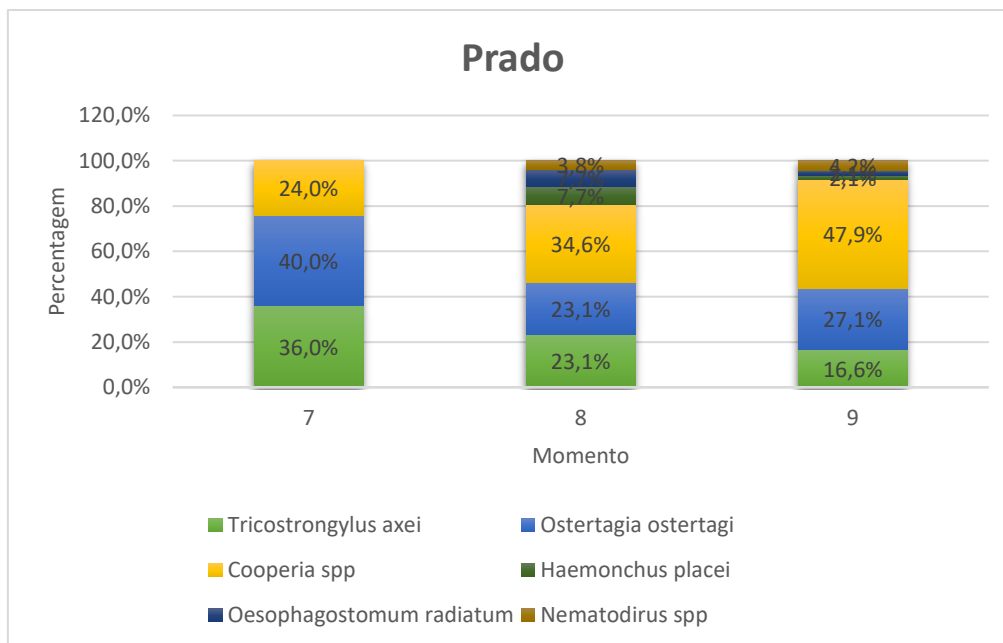


Gráfico 17: Percentagem de larvas obtidas por coprocultura em cada recolha (Prado)

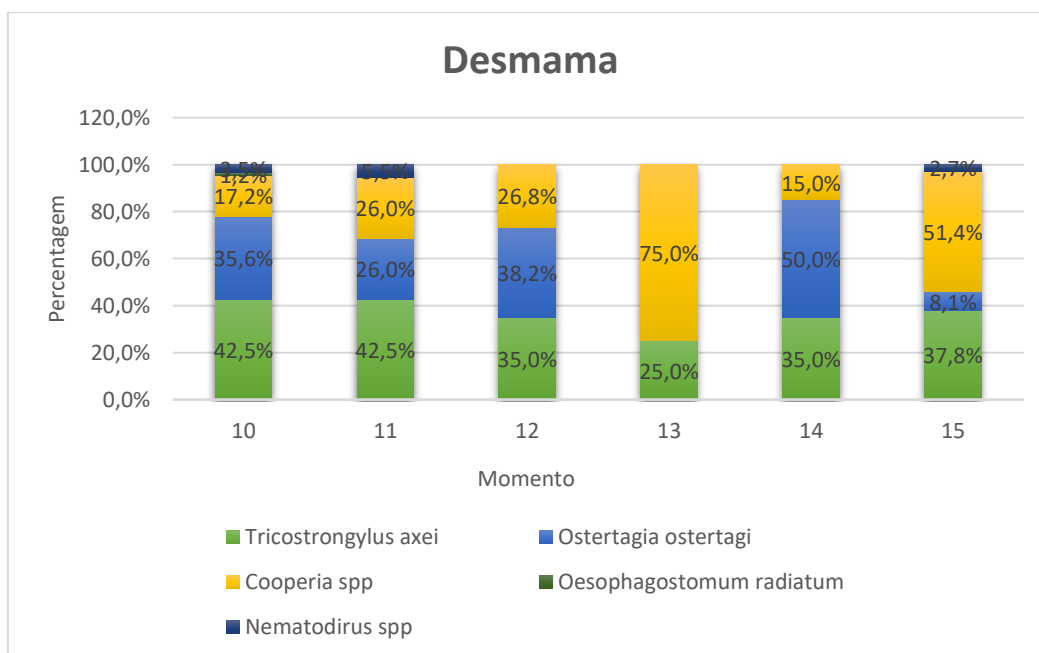


Gráfico 18: Percentagem de larvas obtidas por coprocultura em cada recolha (Desmama)

Dentro dos géneros identificados nas coproculturas encontrou-se nas recolhas 1 a 6 no grupo Engorda, uma prevalência média de 28,6% de *Ostertagi ostertagi*, 43,2% de *Trichostrongylus axei*, 20,8% de *Cooperia* spp., 2,4% de *Bunostomum phlebotomum*, 3,5% de *Oesophagostomum radiatum* e 1,5% de *Haemonchus placei*.

No grupo Prado, nas recolhas 7 a 9, encontrou-se em prevalência média 30,1% de *Ostertagi ostertagi*, 25,2% de *Trichostrongylus axei* e 35,5% de *Cooperia* spp., 3,3% de *Oesophagostomum radiatum*, 3,3% *Haemonchus placei*, 2,6% de *Nematodirus* spp.

No grupo Desmama nas recolhas 10 a 15, encontrou-se em prevalência média 26,32% de *Ostertagi ostertagi*, 36,3% de *Trichostrongylus axei* e 35,23% de *Cooperia* spp., 0,2% de *Oesophagostomum radiatum*, 1,95% de *Nematodirus* spp.

Categoria B

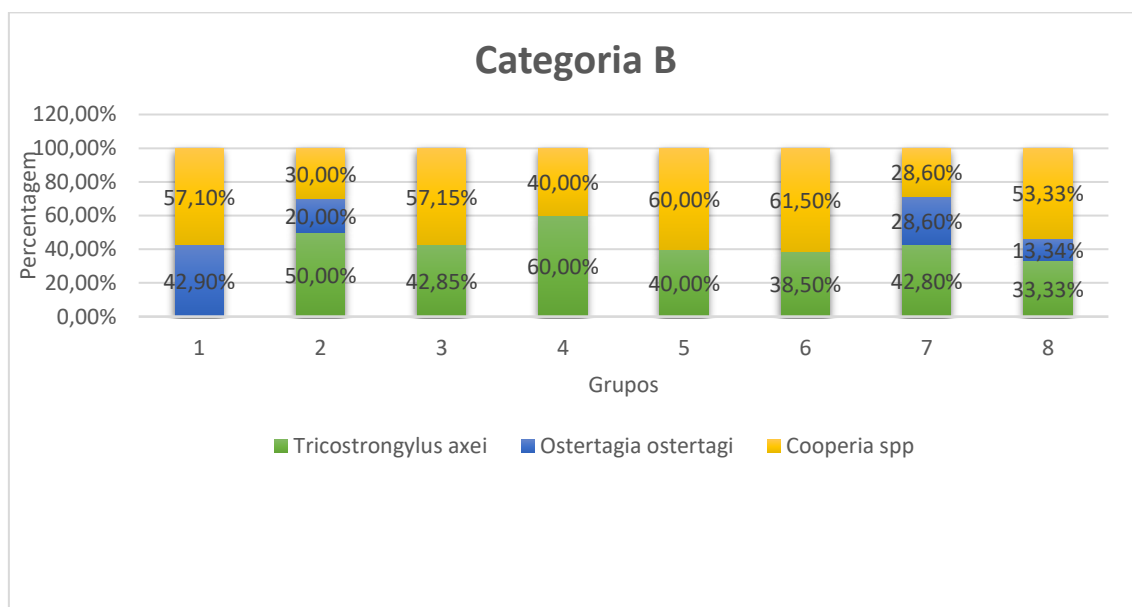


Gráfico 19: Percentagem de larvas obtidas por coprocultura em cada recolha nos 8 grupos da categoria B

Observou-se na Categoria B a prevalência média nas recolhas 1 a 8, de 13,1% de *Ostertagi ostertagi*, 38,4% de *Trichostrongylus axei* e 48,5% de *Cooperia* spp.

5.5 Caracterização climática durante o período de estudo

A caracterização climática durante o período de recolha de amostras baseou-se nos dados recolhidos pelo Instituto Português do Mar e da Atmosfera, e segundo os Boletins Climatológicos Sazonais e Mensais de Portugal Continental, e verificando-se:

O Outono de 2014 (Setembro, Outubro e Novembro) foi considerado o 2º mais quente e chuvoso desde 2000, com uma onda de calor mais significativa desde 1941,

entre os dias 17 e 27 de Outubro. Foi registado que 4 dos 10 Outonos mais quentes (por ordem decrescente) foram em 2006, 2014, 2009 e 2010. A região de Lisboa e litoral Oeste foi das zonas com maior precipitação comparando com os valores normais (IPMA, Boletim Climatológico Sazonal - Outono 2014, 2014).

Novembro de 2014 foi classificado como muito chuvoso, com precipitação duas vezes superior do valor normal, com a estação meteorológica de Lisboa a registar o 3º valor mais alto desde 1941 com 200 a 300 mm total durante o mês. Teve temperatura do ar entre 12,9Cº mínima e 18,2Cº máxima (IPMA, Boletim Climatológico Mensal - Novembro 2014, 2014).

Dezembro de 2014, Janeiro de 2015 e Fevereiro de 2015 caracterizaram-se como muito frios e secos, com precipitação com os valores mais baixo dos últimos 26 anos de 50 a 100 mm nos dois primeiros e 10 a 25mm no último.

A temperatura média do ar variou entre mínimo de 8,8Cº e 14,7Cº em Dezembro, 7,8Cº e 14,4Cº em Janeiro e 8Cº e 14,8Cº em Fevereiro respectivamente. Em Dezembro e Janeiro ocorreu um aumento de número de dias com temperaturas mínimas inferiores a 0Cº num total de 4 a 6 dias que diminui em Fevereiro para 2 a 3 dias.

Em Dezembro, sob a influência anticiclónica ocorreu uma forte estabilidade atmosférica com ventos fracos, formação de geada e nevoeiro matinal nomeadamente em zonas de vale e junto ao rio com acentuado arrefecimento noturno, que se prolongou para o mês de Janeiro. No dia 7 foi registado na estação de Lisboa uma temperatura máxima de 5Cº e mínima de 1,1Cº resultando uma amplitude térmica muito baixa, valor mais baixo desde 1982.

Pode-se concluir que o Inverno de 2014/2015 foi muito frio e seco e é de salientar que dos 8 Invernos mais secos desde 1931 metade ocorreu em 2000, 2005, 2012 e 2015 (IPMA, Boletim Climatológico Sazonal - Inverno 2014-2015, 2015; IPMA, Boletim Climatológico Mensal - Dezembro 2014, 2015; IPMA, Boletim Climatológico Mensal - Janeiro 2015, 2015; IPMA, Boletim Climatológico Mensal - Fevereiro 2015, 2015)

A Primavera de 2015 (Março, Abril e Maio) foi muito quente e seca com registos de 3 ondas de calor¹, uma no final de Março e início de Abril e duas em Maio.

A precipitação teve um valor médio de 118,1 mm, valor muito inferior comparado com os valores normais, que conjugado com as temperaturas mais elevadas

¹ Do ponto de vista climatológico uma onda de calor verifica-se quando num intervalo de, pelo menos 6 dias consecutivos, a temperatura máxima do ar é superior em 5°C ao respetivo valor médio diário da temperatura máxima (no período de referência 1961-1990).

que o esperado, iniciou-se uma seca em Fevereiro que piorou ao longo da Primavera.

Março, Abril e Maio foram considerados meses muito secos, com temperaturas médias superiores ao normal e com uma precipitação mais baixa dos últimos 18 anos.

A temperatura média mínima foi de 9,6C° e máxima de 18,7C° em Março, de 12,7C° e 21,3C° em Abril e 15,4C° e 25,5C° em Maio respectivamente.

A precipitação em Abril aumentou em relação a Março com valor total de 50 a 100mm em vez de 10 a 25mm no mês anterior mas não evitou que houvesse um aumento de seca moderada na região Centro.

Maio foi considerado extremamente quente e seco com o 2º valor de temperatura máxima do ar mais alto desde 1931, valores totais de precipitação até 5mm, e com registo de duas ondas de calor, uma delas no final do mês por todo território continental, prolongando-se para Junho. O número de dias com temperatura máxima maiores que 30C° foi de 7 a 8 dias neste mês.

A Primavera acabou com 55% do território continental em situação de seca severa a extrema incluindo a Zona de Lisboa e Vale do Tejo, estes valores foram estabelecidos pelo índice meteorológico de seca PDSI² (IPMA, Boletim Climatológico Sazonal - Primavera 2015, 2015; IPMA, Boletim climatológico Mensal- Março 2015, 2015; IPMA, Boletim Climatológico Mensal - Abril 2015, 2015; IPMA, Boletim Climatológico Mensal - Maio 2015, 2015)

No mês de Junho manteve-se extremamente quente e seco registando-se entre 16 a 20 dias temperaturas máximas superiores a 35C°. Com temperaturas média mínima de 17,2C° e máxima de 28,3C° com uma precipitação total de 5 a 10 mm. O índice de seca aumentou de intensidade no Ribatejo e Alto Alentejo neste período.

Este mês foi considerado o mais quente dos últimos 10 anos (IPMA, Boletim Climatológico Mensal - Junho 2015, 2015).

É considerando normal valores registados entre 1971 e 2000. Todos os valores foram avaliados por escalas no mapa de Portugal ou pela estação meteorológica de Lisboa/Gago Coutinho sendo considerada a mais próxima à zona ribeirinha.

²Índice que se baseia na quantidade de precipitação, temperatura do ar e capacidade de água disponível no solo para detectar a ocorrência de períodos de seca, classificando-os em termos de intensidade (fraca, moderada, severa e extrema)

6. Discussão

O método mais usado mundialmente para a contagem de ovos por gramas de fezes é a técnica de McMaster, desenvolvida na Austrália (Gordon & Whitlock, 1939). A sua sensibilidade analítica varia entre 10 a 50 ovos por gramas de fezes o que limita a monitorização da eficácia dos anti-helmínticos em amostras com densidade baixa de ovos. Mas segundo Bosco (2014) e Levecke (2012), que realizaram estudos comparativos entre os métodos coprológicos de contagem de ovos (McMaster, Cornell-Wisconsin e FLOTAC), apesar dessa limitação, para decidir a necessidade de tratamento num grupo de animais ou estabelecer protocolos profiláticos qualquer uma das técnicas será apropriada (Bowman, 2009; Levecke *et al.*, 2012; Bosco *et al.*, 2014).

A interpretação que retiramos na contagem de ovos por gramas de fezes nem sempre é simples. Para analisar a patogenicidade parasitária em que, potencialmente aquele animal ou grupo se encontra, temos de ter em consideração que a quantidade de ovos não se reflete em número de parasitas adultos. Cada espécie é responsável por um grau de patogenicidade, independentemente do número de parasitas ser superior ou inferior estes podem provocar mais ou menos danos no animal.

Uma contagem de ovos pode ser influenciada por vários factores entre eles a idade dos animais. Os animais adultos parasitados e possuidores de um certo grau de resistência, podem eliminar menos ovos do que animais jovens.

Outro factor é a presença de formas imaturas nos hospedeiros e apresentarem OPG negativos, este valor é devido a estas não eliminarem ovos porque ainda não completaram a sua maturação. Estamos presentes de uma infecção recente e não negativa.

Também nos animais com uma boa nutrição existe uma menor probabilidade de desenvolver uma parasitose clínica, ou não apresentar sinais clínicos mesmo com um elevado número de parasitas adultos.

Na interpretação da análise de OPG para EGI podemos verificar que em média ocorre um maior número de ovos nas fezes no grupo Prado na categoria A, com 137,5 OPG e na categoria B para o grupo 4 (Limousine) com 27,78 OPG. Mas apesar destes grupos apresentarem um maior número de ovos, a diferença entre OPG dos outros grupos, em ambas as categorias não foi significativa, e todos os grupos tiveram um grau de infecção mista considerada leve.

Ao verificar a análise estatística representada nos Anexos II e III podemos apontar dois dias de recolha de fezes em que detectaram-se números máximos de ovos

que poderiam ser considerados de infecção mista elevada, sendo que para o grupo Engorda na recolha nº3 com 3650 OPG e para o grupo Prado na recolha nº9 com 1350 OPG. Mas ao avaliar as contagens realizadas nestes dias, verificou-se que no total de animais existentes em ambos grupos a infecção era leve. Podemos concluir que estes valores foram influenciados por um animal mais susceptível ou com uma possível imunossupressão que agravou o valor da carga parasitária.

A técnica de flutuação simples por ter carácter qualitativo, foi utilizada neste estudo para indicar a presença ou ausência de ovos ou oocistos. Quando a contagem pela técnica de McMaster destes se apresentava nula e positiva nesta técnica foi indicativo de estar a ocorrer uma baixa carga parasitária nas amostras. Com esta técnica avaliou-se a proporção de positivos e negativos entre cada grupo nas categorias A e B.

Ao avaliar resultados positivos e negativos para a presença de ovos EGI pela técnica de flutuação simples, proporcionalmente podemos afirmar que ocorreu um maior número de animais positivos significativos na categoria A para os grupos da Desmama e Prado do que no grupo Engorda. Os grupos Desmama e Prado tiveram resultados proporcionais semelhantes (Desmama com 71 positivos e 7 negativos em 78 amostras e Prado com 59 positivos e 5 negativos em 64 amostras). Em proporção, no total de amostras recolhidas, o grupo Engorda teve uma menor diferença entre valores (59 positivos e 46 negativos em 105 amostras).

Na categoria B, o grupo 8 (Cruzada) observou-se proporcionalmente um maior número de positivos (15 amostras positivas em 24) em relação aos restantes grupos desta categoria.

Para compreender quais as espécies de parasita presentes, temos de ter em conta a região, altura do ano, a idade, e sinais clínicos presentes nos animais, pois estes podem nos dar indícios de qual a espécie encontrada. Estes factores não descartam uma avaliação mais detalhada através da coprocultura (Anderson, 2009).

É de salientar primeiramente que esta técnica, a coprocultura, tem como base a identificação de características morfológicas das larvas L3 que distinguem a espécie, e por isso possui limitações relacionadas com a experiência de quem as classifica. A identificação baseia-se nas características morfológicas das larvas, tais como, o tamanho da larva, tamanho da bainha da cauda, formato da cabeça e a presença ou não de dois corpos ovais refringentes.

Em relação ao género houve uma maior prevalência para os nemátodes gastrointestinais da Superfamília Trichostrongyloidea e sempre infecções mistas. Ao

contrário do estudo realizado por Cardoso (2010), que teve o objectivo de avaliar a prevalência e eficácia no controlo de parasitoses gastrointestinais no concelho de Odemira, e do estudo por Ramos (2013) de avaliação de parasitoses gastrointestinais em bovinos de raça Brava em sistema extensivo, na região do Ribatejo, que obtiveram além de infecções mistas também verificaram infecções simples.

De um modo geral, a prevalência na categoria A e B de EGI foi para as espécies *Trichostrongylus axei*, *Ostertagia* spp. e *Cooperia* spp., e foi compatível com os resultados obtidos no estudo de Ramos (2013). Já no estudo de Cardoso (2010) as espécies predominantes foram *Cooperia* spp. *Ostertagia* spp. e *Oesophagostomum* spp.

A categoria A teve uma frequência relativa de 76,5% de parasitismo por nemátodes. Por ordem decrescente, o grupo Engorda teve uma prevalência média de *Trichostrongylus axei* (43,2%), *Ostertagia* spp. (28,6%) e *Cooperia* spp. (20,8%). Para as recolhas 2 e 3 verificou-se uma maior diversidade de espécies, mas com percentagens muito menores. Além das últimas espécies observaram-se 2,4% *Bunostomum phlebotomum*, 3,5% *Oesophagostomum radiatum* 1,5% *Haemonchus placei*.

No grupo Prado, houve uma prevalência média de 35,5% de *Cooperia* spp, 30,1% de *Ostertagia* spp e 25,2% de *Trichostrongylus axei*, 3,3% de *Oesophagostomum radiatum*, 3,3% de *Haemonchus placei* e 2,6% de *Nematodirus* spp.

No grupo Desmama, ocorreu uma prevalência média de 36,3% de *Trichostrongylus axei* e 35,23% de *Cooperia* spp, 26,32% de *Ostertagia* spp., 1,95% *Nematodirus* spp. e 0,2% *Oesophagostomum radiatum*.

Nos bovinos em sistema extensivo pertencentes à categoria B ocorreu uma prevalência média de 48,5% de *Cooperia* spp, 38,4% de *Trichostrongylus axei* e 13,1% de *Ostertagia* spp entre os oito grupos, com uma frequência relativa de 37,3% de nemátodes no total de amostras obtidas nesta categoria.

O microbiótipo dos estrongilídeos do género *Ostertagia* e de *Trichostrongylus axei* é o abomaso e a sua presença pode estar associada. Provocam inapetência e diarreia, desenvolvendo distúrbios na absorção de azoto e energia metabólica. Estes encontram-se entre os três principais parasitas encontrados nas coproculturas realizadas dentro da categoria A e B, mas pela contagem de ovos por grama de fezes a carga parasitária destes é leve (EGI). Assim verifica-se a sua presença nos bovinos adultos (categoria B) que poderão ter adquirido imunidade e nos animais jovens (categoria A) em que o controlo antiparasitário foi suficiente.

Provocando igualmente alterações digestivas, as lesões provocadas pelo género *Cooperia* diminui a absorção de nutrientes pela atrofia das vilosidades intestinais. Está muitas vezes também associado a *Ostertagia* spp. agravando o quadro clínico. Neste estudo verificou-se essa associação com os três parasitas mencionados (*Ostertagia* spp., *Trichostrongylus axei* e *Cooperia* spp.) por se encontrarem entre as três primeiras prevalências com maior percentagem.

As espécies hematófagas (*Haemonchus placei* e *Bunostomum phlebotomum*) que poderiam ser mais patogénicas verificaram percentagens inferiores a 3%.

Numa comparação entre OPG e os resultados das coproculturas, contrariamente a estudos realizados por Ramos (2013) e Malcata (2014), a coprocultura e a técnica de flutuação simples revelaram a presença de larvas em amostras em que não se tinha observado ovos de EGI pela técnica de McMaster, nomeadamente no grupo Engorda nas recolhas nº 2 e nº 6, no grupo Desmama na recolha nº 13 e na Categoria B nas recolhas nº5 e nº7. Assim, a sensibilidade da técnica de McMaster foi confirmada ser reduzida em amostras com baixa densidade de ovos.

A prevalência de estrongilídeos do género *Ostertagia*, *Trichostrongylus* e *Cooperia* verificada neste estudo na categoria B, pode ser comparada com o estudo de Borgsteede (1978). Os resultados de OPG nesse estudo verificaram um aumento de eliminação de ovos pós-parto considerado pelo desenvolvimento de larvas em hipobiose ou por um aumento de produção de ovos pelos parasitas, facilitado pela imunossupressão no pós-parto nas primeiras semanas. Foi seguido posteriormente de outro pico, com a eliminação de ovos por *Oesophagostomum* spp., *Haemonchus* spp. e *Bunostomum* spp.

Estes valores corroboram os dados obtidos neste estudo em relação à predominância de espécies parasitárias entre progenitoras e bezerros. As espécies visualizadas foram semelhantes no grupo Desmama, no grupo Prado e no grupo Engorda, equiparado ao segundo pico de eliminação de ovos avaliados no estudo de Borgsteede (1978). Assim as progenitoras poderão ter contaminado os pastos que habitam e os bezerros que permanecem com as mesmas em sistema extensivo (Borgsteede, 1978).

Durante a recolha das amostras ocorreu um Outono, Inverno e Primavera secos, mas em Abril ocorreu um ligeiro aumento da precipitação que poderá ter permitido que as larvas de tricostrongilídeos no interior dos blocos de fezes se mantivessem vivas até à época com maior pluviosidade, altura que as L3 se deslocam para o pasto e são

ingeridas. Assim, verificou-se que mesmo nas condições climáticas do Ribatejo que podem ter temperaturas extremas e pouca precipitação, a prevalência de espécies parasitárias se manteve tanto na categoria A como na B.

A rotação de pastagens contaminadas para pastagens livres de ovos e larvas (L3) poderá ter contribuído para um melhor controlo parasitário na exploração que o estudo decorreu. Além disso, o tratamento com antiparasitários prévio à mudança de pastagens poderá ter potenciado a diminuição da carga parasitária nestes animais (Barger *et al.*, 1984; Fakae & Chiejina, 1988; Kumar, *et al.*, 2015).

A observação de ovos de *Toxocara vitulorum* e *Dictyocaulus viviparus* não foi significativa para se estabelecer uma relação ao estudo efectuado.

Na técnica de McMaster para a avaliação do parasita *Moniezia benedeni*, o número mais elevado de OPG na categoria A foi verificado no grupo Prado, com uma média de 35,94 OPG, que em comparação com os 7,69 OPG no grupo Desmama e 0 no grupo Engorda provou-se significativa.

Pode-se afirmar que no grupo Prado houve um aumento do OPG para *Moniezia benedeni* e que a causa poderá ter sido devido à contaminação das pastagens onde se encontram estes animais. Estas encontravam-se em regadio, com humidade e temperatura adequadas ao desenvolvimento dos ácaros oribatídeos. Além de serem de regadio, estas pastagens são permanentes e não passam por uma aração frequente, o que poderia diminuir o número de ácaros.

Segundo Irie *et al.* (2013) pode ocorrer uma contaminação pelas forragens que contêm ácaros oribatídeos, mas neste estudo, aquando suplementados com forragens os animais não evidenciaram aumento de ovos de *Moniezia benedeni*.

Com o clima que se proporcionou durante o estudo, com um Inverno frio e seco e uma Primavera muito quente e seca, pode ter contribuído para uma redução do hospedeiro intermediário. Apesar disso, em Abril ocorreu precipitação, e com a chegada da Primavera pode ter proporcionado um aumento na actividade do ácaro oribatídeo, e a sua infecção pelas fezes contaminadas com ovos, continuando o ciclo do parasita (Xiao & Herd, 1992).

Na categoria B, grupo 8 (Cruzada) foi o que registou, em média uma maior quantidade ovos de *Moniezia benedeni* com 12,50 OPG, mas em comparação com os outros grupos da categoria B, a diferença não é significativa e os dados encontram-se muito dispersos.

Apesar destes factores a carga parasitária média era baixa, comprovada pela técnica quantitativa de McMaster e de Flutuação simples onde se observou um pequeno número de ovos.

Na Categoria A, observou-se a presença de parasitismo por céstodes de 8,1% num total de 247 amostras, sendo os grupos Prado, Desmama e Engorda com as seguintes percentagens 6,075%, 2,025% e 0% respectivamente. Na Categoria B, observou-se 6,3% de positivos num total de 126 amostras, com as seguintes percentagens: 3,15% no grupo Preta E, 1,575% no grupo Preta C e 1,575% no grupo Cruzada.

Analisando o parasitismo em grupo de animais as percentagens de positivos são baixas não requerendo maiores cuidados.

Apesar destes valores, o antiparasitário usado (Ivermectina) não está indicado para este parasita, mas os resultados obtidos não oferecem um motivo para adicionar ou alterar para outro princípio activo como benzimidazóis e pró-benzimidazóis de amplo espectro (Andrews *et al.*, 2008).

Através da técnica de McMaster foi quantificado o parasitismo por *Eimeria* spp. (OOPG). Nos dias da recolha não foram observados sinais clínicos compatíveis com coccidiose porém, verificou-se a presença de oocistos de *Eimeria* spp.

Foram encontrados oocistos com a morfologia compatível com *Eimeria bovis*, *E. alabamensis* e *E. zuernii* que corrobora os resultados de vários estudos na Europa, tal como um estudo realizado por Tomczuk *et al.* (2015) na Polónia onde os autores avaliaram a influência de factores extrínsecos, como o tamanho da manada, em sistemas intensivos e extensivos e factores intrínsecos como a idade dos bovinos para *Eimeria* spp.

Na categoria A, no grupo Desmama foi contabilizado o maior número de oocistos, teve em média 2233,33 oocistos. Este grupo compreendia animais com idades de 6 a 8 meses, sendo estas idades referidas por Tomczuk *et al.* (2015) de serem as mais predispostas à coccidiose em sistemas intensivos e em sistemas extensivos.

Neste grupo (Desmama) os bezerros só foram separados das mães no dia da recolha das amostras fecais, estando em contacto directo com as progenitoras até então, o que possibilita ocorrer posteriormente um aumento de libertação de oocistos nas fezes derivado ao pico de stress a que foram sujeitos. No entanto, em geral este baixo valor observado neste estudo é essencial para que não ocorra doenças microbianas concomitantes que podem provocar uma imunossupressão nos bezerros (Cicek, *et al.*,

2007; Tomczuk, *et al.*, 2015). Neste estudo o número de oocistos não era elevado, mas a presença de *Eimeria* spp. em número moderado e repetido pode ser essencial para o estabelecimento de imunidade ao protozoário durante o primeiro ano de vida.

Outro factor de contaminação é o aumento de eliminação de oocistos peri-parto que possibilita a infecção do recém-nascido, mas para atenuar este factor está comprovado a transferência de anticorpos maternos pelo colostro (Faber *et al.*, 2002; (Radostits *et al* , 2006; Bowman, 2009).

Na Categoria B que é constituída pelos grupos Preta E, Preta D, Preta C, Preta DP, Limousine, Charolês, Mertolenga e Cruzada observou-se 87,3% de positivos em 126 amostras, onde o maior número de oocistos foi no grupo Cruzada, constituído por bovinos oriundos de cruzamentos de raças com uma média de 2781,2 OOPG. A grande percentagem de animais parasitados por coccídeos pode ter sido devido à contaminação das pastagens, às quais os animais tiveram acesso. Pode ocorrer um grande número de oocistos em animais saudáveis, e sendo muitas vezes auto-limitante é até benéfico esta coexistência para se estabelecer uma resposta imunitária, e se adquirir imunidade e resistência a uma possível re-contaminação.

Segundo Radostits *et al* (2006) o número de OOPG só é significativo a partir de 5000 oocistos, mas números inferiores indicam contaminação do ambiente e uma potencial fonte para uma infecção severa. Quando na coprologia constata-se uma grande quantidade de oocistos, em bovinos saudáveis, poderá não ser indicativo de doença e o contrário, existindo pequenas quantidades de oocistos em diarreias graves e agudas poderá ser indicativo de necessidade de tratamento mesmo com uma baixa contagem, isto porque a principal produção de oocistos pode já ter ocorrido. Outro factor da baixa contagem de oocistos nas fezes aquosas pode ser devida à sua diluição, e assim o número de oocistos não corresponder à realidade (Radostits *et al*, 2006; Andrews *et al* ,2008; Tomczuk, *et al.*, 2015).

Segundo Sanson-Himmelstjerna *et al* (2006), solos contaminados por animais infectados, os oocistos permanecem nas pastagens no ano seguinte contaminando ou re-contaminando novos animais. Também se verifica em forragens contaminadas armazenadas até 8 meses.

Neste estudo apesar da rotação de pastagens, e de abrangerem áreas muito grandes a contaminação é persistente, mas permanece moderada, o que poderá ser benéfico para estabelecer um equilíbrio imunitário entre protozoário-bovino.

Águas contaminadas tanto em bebedouros como no ambiente são um foco de contaminação. Neste estudo verificou-se que os bebedouros distribuídos nas pastagens e nos estábulos de Engorda estavam limpos e fornecidos com água corrente, o que poderá ter minimizado também infecções mais graves. (Mitchell *et al* , 2012)

A Primavera foi a estação do ano com maior contagem de oocistos que coincide com a altura em que se confinou os animais que estavam em pastoreio para aplicar métodos de profilaxia, como vacinação, desparasitação e recolha de sangue. Este aumento na Primavera poderá ser apenas porque corresponde à altura que se obteve um maior número de amostras na categoria B. Para a categoria A o valor médio foi maior para o grupo Desmama, em que as recolhas foram obtidas na Primavera. Sendo este grupo constituído por bezerros que estariam até à altura junto das progenitoras, os valores coincidem com os da categoria B, constituída por grupos de progenitoras.

Para além disso, os oocistos persistem a temperaturas até -8 C° durante o Inverno e ocorre esporulação em temperaturas amenas, dados que abrangem as condições climáticas durante este estudo.

Na análise estatística em relação às estações do ano e amostras recolhidas, os resultados revelados apenas foram significativos para *Eimeria* spp.

Pelos resultados obtidos através da técnica de Sedimentação foram observados ovos de paranfistomídeos, porém sem significado estatístico.

Para a categoria A a presença ovos de paranfistomídeos foi positivo para 7,3% dos animais (2 em 105 amostras no grupo Engorda, 9 em 64 amostras no grupo Prado e 7 em 78 amostras no grupo Desmama). Os grupos Prado e Desmama que se encontravam em sistema extensivo estavam mais predispostos ao contacto com pasto contaminado. O grupo Engorda onde o resultado foi positivo para 2 amostras num total de 105, pode ter sido em decorrência da permanência destes animais em pastagem de regadio antes de serem confinados para a engorda.

Na Categoria B a presença de ovos de paramfistomídeos foi de 10,32% (1 no grupo Preta C em 21 amostras, 1 no Charolês em 6 amostras, 2 no Mertolenga em 15 amostras, 3 no Preta DP em 16 amostras e 6 no Cruzada em 24 amostras) o que indica que todos estes grupos que se encontravam em sistema extensivo podem ter tido contacto com lagos ou zonas húmidas contaminadas.

Para este parasitismo, os 31 resultados positivos num total de 373 amostras não foram estatisticamente significativos, para se poder estabelecer uma relação entre as variações climáticas. Mas este baixo número pode ter sido influenciado por ter ocorrido

um Outono quente e chuvoso, e um Inverno com baixas temperaturas (dias com temperaturas mínimas abaixo de 0 C°) e seco, acrescido de uma Primavera muito quente e seca, com ondas de calor e precipitação abaixo de valores normais. Estas condições climáticas extremas e invulgares poderão ter contribuído para a diminuição de sobrevivência dos caracóis aquáticos (diminuição de cercárias) ou para a cessação do ciclo de vida do parasita nas pastagens (diminuição das metacercárias).

O risco de contaminação poderá ter sido minimizado pelo facto de os animais terem acesso a bebedouros limpos, com água renovada frequentemente o que diminuiu a probabilidade de existir hospedeiros intermediários.

As parasitoses por paramfistomídeos têm actualmente uma grande distribuição geográfica, e na Europa tem sido considerada inofensiva. Mas segundo Mage *et al.* (2002) alguns artigos constataram um aumento da sua prevalência, com o consequente impacto económico que isso advém, com perdas no ganho médio diário no peso das animais. É necessário realizar mais estudos para verificar imunidades estabelecidas em animais adultos, minimizar futuros danos económicos e verificar a eficácia do manejo profilático.

Esse aumento pode ser derivado ao controlo de fasciolose ao longo dos anos, com o uso de princípios activos específicos para tal, predispondo o hospedeiro intermediário a ser contaminado por *Paramphistomum* spp. (Abrous *et al.*, 1999; Mage *et al.*, 2002; Rieu *et al.*, 2007).

7. Conclusões

Os resultados indicaram que a avaliação do parasitismo existente numa exploração em sistema extensivo e semi-extensivo de bovinos de carne, é indicativo de um melhor conhecimento das espécies parasitárias existentes, da sua epidemiologia, dos factores predisponentes e se o manejo sanitário empregado estaria a ser eficaz para controlar as parasitoses.

Podemos concluir após a realização de técnicas coprológicas quantitativas e qualitativas, com uma amostragem de 373 animais, num total aproximado de 3500 animais em sistema extensivo e semi-extensivo, que esta exploração possuía uma carga parasitária baixa para nemátodes, céstodes e coccídeos. Com isto verificou-se um correcto manejo profilático, gestão de pastagens e produção de forragens.

Neste estudo os bezerros na fase de separação das progenitoras (Desmama) ao serem transferidos para pastagem com pastos permanente (Prado), tiveram a maior

percentagem de infecção por *Eimeria* spp. Estes animais até à data de recolha encontravam-se em extensivo com um mínimo de manipulação durante todo ano. Já os animais que, ao serem transferidos do prado para estábulos para proceder a engorda tiveram em maior número a espécie EGI e *Moniezia benedeni*.

Para os 8 grupos de animais em sistema extensivo, com pastagens naturais durante todo ano e que eram os reprodutores, a percentagem foi maior para *Eimeria* spp.

Para identificar especificamente quais as espécies de EGI presentes procedeu-se às coproculturas. De uma maneira geral foram encontrados principalmente *Cooperia* spp, *Ostertagia ostertagi* e *Trichostrongylus axei* em todas as amostras observadas abrangendo todas as faixas etárias, raças e formas de manejo.

Neste estudo, não foi possível evidenciar quais os parasitas existentes em cada época do ano, porque as datas de recolha não abrangeram um ano inteiro que permitisse percorrer todas as estações do ano. Dentro do período estudado verificou-se que foi na Primavera que se obteve maiores números de oocistos de *Eimeria* spp.. Nos restantes géneros parasitários os valores não foram significativos para se poder correlacionar estes dados.

A observação de *Paramphistomum* spp. evidência a necessidade de proceder a avaliações periódicas das espécies parasitárias existentes nas explorações, para assim detectar alterações em relação à carga parasitária e prevalência de novos parasitas.

O facto de nesta exploração as zonas de pastoreio serem de grandes dimensões e ocorrer transumância para áreas com um encabeçamento aproximado de 3 cabeças por hectare, pode ter sido um factor para uma maior dispersão dos ovos/oocistos, larvas e hospedeiros intermediários.

Reconhece-se actualmente uma maior necessidade do conhecimento da fauna parasitária. Com o aumento constante de problemas relacionados com a resistência de anti-helmínticos, alterações climáticas, intensificação da agricultura e alteração de práticas de gestão pecuária, aumentou a necessidade de obter um diagnóstico mais preciso para a monitorização de parasitoses.

O mapeamento geográfico dos parasitas existentes auxilia a realização de protocolos profilácticos mais precisos às zonas agro-climáticas, e quais os pastos contaminados a evitar, tanto para pastoreio como para produção de forragens.

8. Referências bibliográficas

- Abrous, M., Rondelaud, D., Dreyfuss, G., & Cabaret, J. (1999). Infection of *Lymnaea truncatula* and *Lymnaea glabra* by *Fasciola hepatica* and *Paramphistomum daubneyi* in farms of central France. (INRA/Elsevier, Ed.) *Vet.Res.* 30, 113-118.
- Anderson, D. E., & Rings, D. M. (2009). *Food Animal Practice* (Vol. Fifth). Saunders-Elsevier.
- Andrews, A., Blowey, R. W., Boyd, H., & Eddy, R. G. (2008). *Bovine Medicine* (Second ed.). Blackwell Publishing.
- Anuracprreda, P., Wanichanon, C., & Sobhon, P. (2008). *Paramphistomum cervi*: Antigenic profile of adults as recognized by infected cattle sera. (Elsevier, Ed.) *Experimental Parasitology* 118, 203-207.
- Associação de Criadores de Bovinos de Raça Preta. (s.d.). Obtido em 19 de Março de 2016, de www.racapreta.com.pt
- Associação de Criadores de Bovinos Mertolengos . (s.d.). Obtido em 23 de Fevereiro de 2016, de www.mertolenga.com
- Associação Portuguesa da Raça Charolesa. (s.d.). Obtido em Março de 2016 , de 16
- Ba, C., Wang, X. Q., Renaud, F., Euzet, L., Marchand, B., & Meeus, T. D. (1993). Diversity and specificity in cestodes of the genus *Moniezia*: Genetic evidence. (A. S. Parasitology, Ed.) *International Journal for Parasitology* 7, 853-857.
- Bangoura, B., Mundt, H.-C., Schmäsche, R., Westphal, B., & Daugschies, A. (2011). Prevalence of *Eimeria bovis* and *Eimeria zuernii* in German cattle herds and factors influencing oocyst excretion. *Parasitol Res*, 129-138.
- Barger, I., & Southcott, W. H. (1975). Control of nematode parasites by grazing management I Decontamination of cattle pastures by grazing with sheep. *International Journal for Parasitology* 5 , 39-44.
- Barger, I., Lewis, R. J., & Brown, G. F. (1984). Survival of infective larvae of nematode parasites of cattle during drought. (Elsevier, Ed.) *Veterinary Parasitology* 14, 143-152.
- Borgsteede, F. (1978). Observations on the post-parturient rise of nematode egg-output in cattle. (Elsevier, Ed.) *Veterinary Parasitology* 4, 385-391.
- Bosco, A., Rinaldi, L., Maurelli, M. P., Musella, V., Coles, G. C., & Cringoli, G. (2014). The comparison of FLOTAC, FECPAK and McMaster techniques for nematode egg counts in cattle. *Acta Parasitologica* 59(4), 625-628.
- Bowman, D. D. (2009). *Georgi's Parasitology for Veterinarians* (Ninth ed.). Saunders Elsevier .

- Bowman, D. D. (2013). *Georgis` Parasitology for Veterinarians* (10th edition ed.). Saunders Elsevier.
- Cardoso, J. M. (2010). *Contribuição para o estudo do parasitismo gastrointestinal e hepático em bovinos de carne em regime extensivo no Concelho de Odemira*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária , Universidade Técnica de Lisboa.
- Castro, J., Roquete , C., & Barata, G. (2007). Análise da evolução da resposta à selecção numa população da raça bovina Mertolenga. *Revista de Ciências Agrárias*, pp. 223-234.
- Charolais International. (s.d.). Obtido em 8 de Março de 2016, de www.charolais-international.com
- Cicek, H., Sevimli, F., Kozan, E., Köse, M., Eser, M., & Dogan , N. (2007). Prevelence of coccidia in beef cattle in western Turkey. (Springer-Verlag, Ed.) *Parasitol Res* 101, 1239-1243.
- Companhia das Lezírias. (Junho de 2014). *Companhia das Lezírias : a gestão florestal em prol da biodiversidade*. Samora Correia. Obtido em 5 de Novembro de 2015, de www.cl.pt: www.cl.pt
- Companhia das Lezírias, S.A. (2010). *Relatório de Sustentabilidade 2010*. Samora Correia. Obtido em Dezembro de 2015, de www.cl.pt
- Davila, G., Irsik, M., & Greiner , E. C. (2009). *Toxocara vitulorum* in beef calves in North Central Florida. (Elsevier, Ed.) *Veterinary Parasitology* 168, 261-263.
- Díaz, P., Lomba, C., Pedreira , J., Arias, M., Sánchez-Andrade, R., Suárez, J. L., . . . Paz-Silva, A. (2006). Analysis of the IgG antibody response against Paramphistomidae trematoda in naturally infected cattle Application to serological surveys. (Elsevier, Ed.) *Veterinary Parasitology* 140, 281-288.
- Díaz, P., Paz-Silva, A., Sánchez-Andrade, R., Suárez, J. L., Pedreira, J., Arias, M., . . . Morrondo, P. (2007). Assessment of climatic and orografic conditions on the infection by *Calicophoron daubneyi* and *Dicrocoelium dendriticum* in grazing beef cattle (NW Spain). (Elsevier, Ed.) *Veterinary Parasitology* 149, 285-289.
- Díaz, P., Pedreira, J., Sanchez-Andrade, R., Suárez, J. L., Arias, M. S., Francisco, I., . . . Paz-Silva, A. (2007). Risk periods of infection by *Calicophoron daubneyi* (Digenea: Paramphistomidae) in cattle from oceanic climate areas. (Springer-Verlag, Ed.) *Parasitol Res* 101, 339-342.
- Dimander, S.-O., Höglund, J., Ugglä, A., Spörndly, E., & Waller, P. J. (2003). Evaluation of gastro-intestinal nematode parasite control strategies for first-season grazing cattle in Sweden. (Elsevier, Ed.) *Veterinary Parasitology* 111, 193-209.

- Diop, G., Yanagida, T., Hailemariam, Z., Menkir, S., Nakao, M., Sako, Y., . . . Ito, A. (2015). Genetic Characterization of *Moniezia* species in Senegal and Ethiopia. (Elsevier, Ed.) *Parasitology International* 64, 256-260.
- Eysker, M. (1997). Some aspects of inhibited development of trichostrongylids in ruminants. (Elsevier, Ed.) *Veterinary Parasitology* 72, 265-283.
- Faber, J.-E., Kollmann, D., Heise, A., Bauer, C., Failing, K., Bürger, H. J., & Zahner, H. (2002). *Eimeria* infections in cows in the periparturient phase and their calves: oocyst excretion and levels of specific serum and colostrum antibodies. (Elsevier, Ed.) *Veterinary Parasitology* 104, 1-17.
- Fakae, B., & Chiejina, S. N. (1988). Relative contributions of late dry-season and early rains pasture contamination with Trichostrongyle eggs to the wet-season herbage infestation in eastern Nigeria. (Elsevier, Ed.) *Veterinary Parasitology* 28, 115-123.
- Fayer, R., Trout, J. M., Graczyk, T. K., & Lewis, E. J. (2000). Prevalence of *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Eimeria* infections in post-weaned and adult cattle on three Maryland farms. (Elsevier, Ed.) *Veterinary Parasitology* 93, 103-112.
- Ferreras, M. C., González-Lanza, C., Pérez, V., Fuertes, M., Benavides, J., Meze, M., . . . Manga-González, M. Y. (2014). *Calicophoron daubneyi* (Paramphistomidae) in Slaughtered cattle in Castilla y León (Spain). (Elsevier, Ed.) *Veterinary Parasitology* 199, 268-271.
- Fiege, N., Klatte, D., Kollmann, D., Zahner, H., & Bürger, H. J. (1992). *Eimeria bovis* in cattle: colostral transfer of antibodies and immune response to experimental infections. (Springer-Verlag, Ed.) *Parasitol Research* 78, 32-38.
- Fincher, T. G. (1975). Effects of dung beetles activity on the number of nematode parasite acquired by grazing cattle. *American Society of Parasitologists*, 759-762.
- Frank, G., Herd, R. P., Marbury, K. S., Williams, J. C., & Willis, E. R. (1988). Additional investigations on hypobiosis of *Ostertagia ostertagia*. *Int. J. Parasitol.* 18, 171-177.
- Frazão, T. (19 de 12 de 1953). O confuso bovino mertolengo . *Vida Rural* , p. 21.
- Gibbons, L. M., Jacobs, D. E., Fox, M. T., & Hansen, J. (2015). *The Royal Veterinary College & Food and Agricultural Organisation of the United Nations (RVC/FAO) Guide to Veterinary Diagnostic Parasitology*. Obtido em 30 de Novembro de 2015 , de <http://www.rvc.ac.uk/review/Parasitology/Index/Index.htm>

- Gonçalves, N. N., & Rodrigues, A. M. (2002). Caracterização técnica do sistema de produção de bovinos de raça Preta. *Agroforum*, 17: 13-18.
- Institut National de la Recherche Agronomique INRA Science & Impact. (s.d.). Obtido em 5 de Abril de 2016, de www.inra.fr
- International Limousin Council. (s.d.). Obtido em 25 de Março de 2016, de www.limousin-international.com
- IPMA. (2014). *Boletim Climatológico Mensal - Novembro 2014*. Instituto Português do Mar e da Atmosfera. Obtido em 20 de Fevereiro de 2016, de www.ipma.pt
- IPMA. (2014). *Boletim Climatológico Sazonal - Outono 2014*. Instituto Português do Mar e da Atmosfera. Obtido em 20 de Fevereiro de 2016, de www.ipma.pt
- IPMA. (2015). *Boletim Climatológico Mensal - Abril 2015*. Instituto Português do Mar e da Atmosfera. Obtido em 20 de Fevereiro de 2016, de www.ipma.pt
- IPMA. (2015). *Boletim Climatológico Mensal - Dezembro 2014*. Instituto Português do Mar e da Atmosfera. Obtido em 20 de Fevereiro de 2016, de www.ipma.pt
- IPMA. (2015). *Boletim Climatológico Mensal - Fevereiro 2015*. Instituto Português do Mar e da Atmosfera. Obtido em 20 de Fevereiro de 2016, de www.ipma.pt
- IPMA. (2015). *Boletim Climatológico Mensal - Janeiro 2015*. Instituto Português do Mar e da Atmosfera. Obtido em 20 de Fevereiro de 2016, de www.ipma.pt
- IPMA. (2015). *Boletim Climatológico Mensal - Junho 2015*. Instituto Português do Mar e da Atmosfera. Obtido em 20 de Fevereiro de 2016, de www.ipma.pt
- IPMA. (2015). *Boletim Climatológico Mensal - Maio 2015*. Instituto Português do Mar e da Atmosfera. Obtido em 20 de Fevereiro de 2016, de www.ipma.pt
- IPMA. (2015). *Boletim climatológico Mensal- Março 2015*. Instituto Português do Mar e da Atmosfera. Obtido em 20 de Fevereiro de 2016, de www.ipma.pt
- IPMA. (2015). *Boletim Climatológico Sazonal - Inverno 2014-2015*. Instituto Português do Mar e da Atmosfera. Obtido em 20 de Fevereiro de 2016, de www.ipma.pt
- IPMA. (2015). *Boletim Climatológico Sazonal - Primavera 2015*. Instituto Português do Mar e da Atmosfera. Obtido em 20 de Fevereiro de 2016, de www.ipma.pt
- Irie, T., Sakaguchi, K., Ota-Tomita, A., Tanida, M., Hidaka, M., Kirino, Y., . . . Horii, Y. (2013). Continuous *Moniezia benedeni* infection in confined cattle possibly maintained by an intermediate host on the farm. *Journal of Veterinary Medical Science* 75, 1585-1589.
- Jones, J., Mitchell, E. S., Redman, E., & Gilleard, J. S. (2009). *Toxocara vitulorum* infection in cattle herd in the UK. *Veterinary Record*, 171-172.

- Karanikola, S. N., krücken, J., Ramünke, S., Waal, T. d., Höglund, J., Charlier, J., . . . Demeler, J. (2015). Development of multiplex fluorescence immunological assay for the simultaneous detection of antibodies against *Cooperia oncophora*, *Dictyocaulus viviparus* and *Fasciola hepatica* in cattle. *Parasites & Vectors*, 1-11.
- Kumar, B., Mahara, B. R., Prasad, A., Joseph, J. P., Patel, B., & Patel, J. S. (08 de Maio de 2015). *Seasonal incidence of parasitic diseases in bovines of south western Gujarat (Junagadh), India*. (Springer, Ed.) doi:10.1007/s12639-015-0686-9
- Levecke, B., Rinaldi, L., Charlier, J., Maurelli, M. P., Bosco, A., Vercruysse, J., & Cringoli, G. (2012). The bias, accuracy and precision of faecal egg count reduction test results in cattle using McMaster, Cornell-Wisconsin and FLOTAC egg counting methods. (Elsevier, Ed.) *Veterinary Parasitology* 188, 194-196.
- Limousine Portugal*. (s.d.). Obtido em 25 de Março de 2016, de www.limousineportugal.com
- Madeira de Carvalho, L., Gillespie, A. T., Serra, P. M., Bernardo, F. A., Farrim, A. P., & Fazendeiro, I. M. (2007). Eficácia do fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* no controlo biológico da estrongilidose equina no Ribatejo. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, pp. 233-247.
- Mage, C., Bourgne, H., Toullieu, J. M., Rondelaud, D., & Dreyfuss, G. (2002). *Fasciola hepatica* and *Paramphistomum daubneyi*: changes in prevalences of natural infections in cattle and in *Lymnaea truncatula* from central France over the past 12 years. (E. S. INRA, Ed.) *Vet.Res.* 33, 439-447.
- Malcata, F. C. (2014). *Prevalência e controlo dos parasitas gastrointestinais em explorações bovinas leiteiras em Portugal Continental*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa.
- Mitchell, E., Smith, R. P., & Ellis-Iversen, J. (2012). Husbandry risk factors associated with subclinical coccidiosis in young cattle. (Elsevier, Ed.) *The Veterinary Journal* 193, 119-123.
- Novobilský, A., Stringano, E., Carbonero, C. H., Smith, L. M., Enemark, H. L., Mueller-Harvey, I., & Thamsborg, S. M. (2013). In vitro effects of extracts and purified tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) against two cattle nematodes. *Veterinary Parasitology*, 196, 532-537.
- Panyarachun, B., Sobhon, P., Tinikul, Y., Chotwiwatthanakun, C., Anupunpisit, V., & Anuracpreeda, P. (2010). *Paramphistomum cervi*: surface topography of the tegument of adult fluke. (Elsevier, Ed.) *Experimental Parasitology* 125, 95-99.

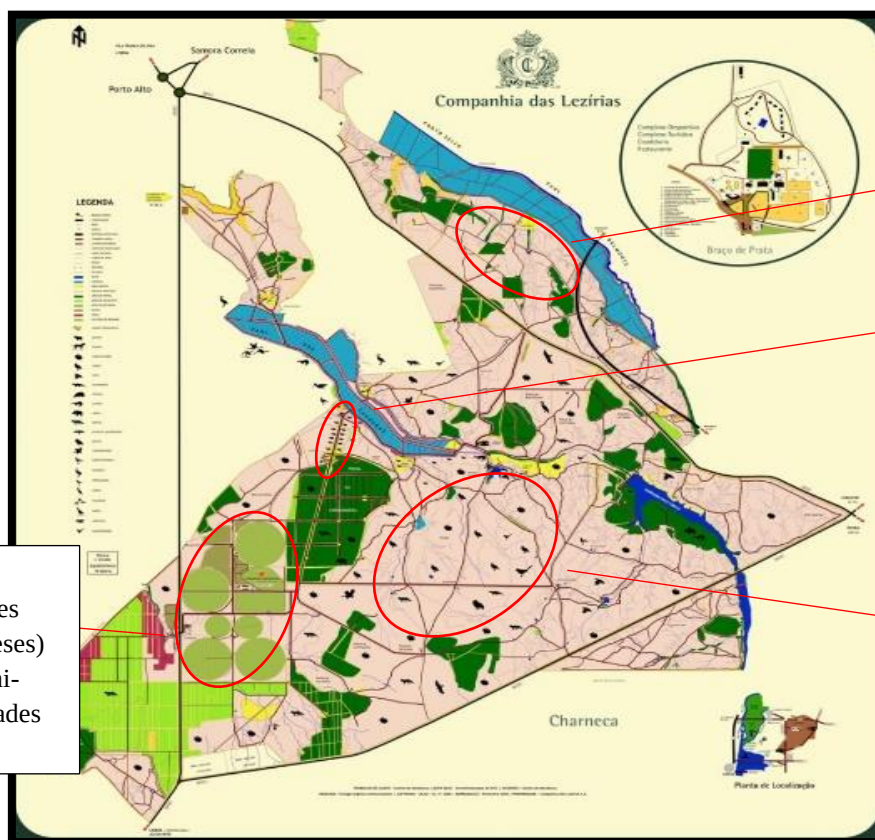
- Ploeger, H., Kloosterman, A., Borgsteede, F. H., & Eysker, M. (1990). Effect of naturally occurring nematode infections in the first and second grazing season on the growth performance of second-year cattle. (Elsevier, Ed.) *Veterinary Parasitology* 36, 57-70.
- Radostits, O. M., Gay, C. C., Hinchcliff, K. W., & Constable, P. D. (2006). *Veterinary Medicine* (10 th ed.). Saunders- Elsevier.
- Ramos, J. C. (2013). *Avaliação das parasitoses gastrointestinais em bovinos de raça Brava durante a Primavera e Verão*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa.
- Rangel-Ruiz, L. J., Albores-Brahms, S. T., & Gamboa-Aguilar, J. (2003). Seasonal trends of *Paramphistomum cervi* in Tabasco, Mexico. (Elsevier, Ed.) *Veterinary Parasitology* 116, 217-22.
- Rieu, E., Recca, A., Bénet, J. J., Saana, M., Dorchies, P., & Guillot, J. (2007). Reliability of coprological diagnosis of *Paramphistomum* spp. infection in cows. (Elsevier, Ed.) *Veterinary Parasitology* 146, 249-253.
- Rolfe, P., Boray, J. C., Nichols, P., & Collins, G. H. (1991). Epidemiology of Paramphistomosis in cattle. *International Journal for Parasitology* 7, 21, 813-819.
- Samson- Himmelstjerna, G. v., Epe, C., Wirtherle, N., Heyden, V. v., Welz, C., Radeloff, I., . . . Krieger, K. (2006). Clinical and epidemiological characteristics of *Eimeria* infections in first-year grazing cattle. (Elsevier, Ed.) *Veterinary Parasitology* 136, 215-.
- Sharma, S., Vijayachari, P., & AP, S. (2015). Histopathological studies of *Eimeria bovis* infection in calves. *Veterinary Science & Technology*.
- Southcott, W., & Barger, I. A. (1975). Control of nematode parasites by grazing management II Descontamination of sheep and cattle pastures by varying periods of grazing with the alternative host. *International Journal for Parasitology* 5, 45-48.
- Spörndly, E. (1996). The effect of fouling on herbage intake of dairy cows on late season pasture. *Journal of Animal Science* 46, 144-153.
- Svensson, C., Uggla, A., & Pehrson, B. (1994). *Eimeria alabamensis* infection as a cause of diarrhea in calves at pasture. (Elsevier, Ed.) *Veterinary Parasitology* 53, 33-43.
- Szmidt-Adjidé, V., Abrous, M., Adjidé, C. C., Dreyfuss, G., Lecompte, A., Cabaret, J., & Rondelaud, D. (2000). Prevalence of *Paramphistomum daubneyi* infection in cattle un central France. (Elsevier, Ed.) *Veterinary Parasitology* 87, 133-138.

- Taylor, M. (2007). *Veterinary Parasitology* (Third ed.). Blackwell Publishing.
- Taylor, M., Coop, R. L., & Wall, R. L. (2016). *Veterinary Parasitology* (fourth ed.). Wiley Blackwell.
- Teixeira, R., Domingos, T., Costa, A. P., Oliveira, R., Farropas, L., Barradas, A. M., & Carneiro, J. B. (2010). Soil organic matter dynamics in Portuguese natural and sown rainfed grasslands. *Ecological Modelling*, 222 (2011), 993-1001.
- Terraprima. (s.d.). Obtido em 6 de Janeiro de 2016, de www.terraprima.pt
- Tomczuk, K., Grzybek, M., Szczepaniak, k., Studzinska, M., Demkowska-Kutrzepa, M., Roczen-Karczmarz, M., & Klockiewicz, M. (2015). Analysis of intrinsic and extrinsic factors influencing the dynamics of bovine *Eimeria* spp. from central-eastern Poland. (Elsevier, Ed.) *Veterinary Parasitology* 214, 22-28.
- Ueno, H., & Gonçalves, P. C. (1998). *Manual para diagnóstico das Helminthoses de ruminantes* (Quarta ed.). Japan International Cooperation Agency.
- Urquhart, G., Armour, J., Duncan, J. L., Dunn, A. M., & Jennings, F. W. (1996). *Parasitologia Veterinária*. Guanabara Koogan S.A.
- Xiao, L., & Herd, R. P. (1992). Infectivity of *Moniezia benedeni* and *Moniezia expansa* to oribatid mites from Ohio and Georgia. (Elsevier, Ed.) *Veterinary Parasitology* 45, 101-110.
- Zheng, X., Chang, Q.-C., Zhang, Y., Tian, S.-Q., Lou, Y., Duan, H., . . . Zhu, X.-Q. (2014). Characterization of the Complete Nuclear Ribosomal DNA Sequences of *Paramphistomum cervi*. (H. P. Corporation, Ed.) *The Scientific World Journal*, 11.

Anexo I: Lezíria Sul e Charneca



Reprodutoras,
Machos e
bezerros na época
da Primavera e
Verão



Reprodutoras e bezerros na
época do Outono e Inverno

Permanência de Machos
fora da época reprodutora.

Pastagens de
regadio (idades
entre 8-15 meses)
e sistema semi-
extensivo (idades
15-24 meses)

Reprodutoras e bezerros na
época do Outono e Inverno

Anexo II: Análise estatística da Categoria A por grupo (Engorda, Prado e Desmame)

			Engorda	Prado	Desmame
OPG EGI	Média		85,24	137,5	44,87
	I.C	Mín	6,33	81,20	30,85
	95% Média	Máx	164,14	193,80	58,90
	Mediana		0	50	0
	Desvio Padrão		407,733	225,374	62,205
	Mínimo		0	0	0
	Máximo		3650	1350	250
OOPG Eimeria spp.	Média		614,29	376,56	2233,33
	I.C	Mín	376,76	259,93	1854,04
	95% Média	Máx	851,82	493,20	2612,63
	Mediana		0	200	2100
	Desvio Padrão		1227,386	466,919	1682,273
	Mínimo		0	0	0
	Máximo		5700	2400	7500
OPG Moniezia benedeni	Média		0	35,94	7,69
	I.C	Mín	0	2,60	-4,09
	95% Média	Máx	0	69,28	19,48
	Mediana		0	0	0
	Desvio Padrão		0	133,473	52,271
	Mínimo		0	0	0
	Máximo		0	850	450
OPG Toxocara vitulorum	Média		0,02	0,02	0
	I.C	Mín	-0,01	-0,02	0
	95% Média	Máx	0,05	0,05	0
	Mediana		0	0	0
	Desvio Padrão		0,137	0,125	0
	Mínimo		0	0	0
	Máximo		1	1	0

Anexo III: Análise estatística na Categoria A por dia de recolha

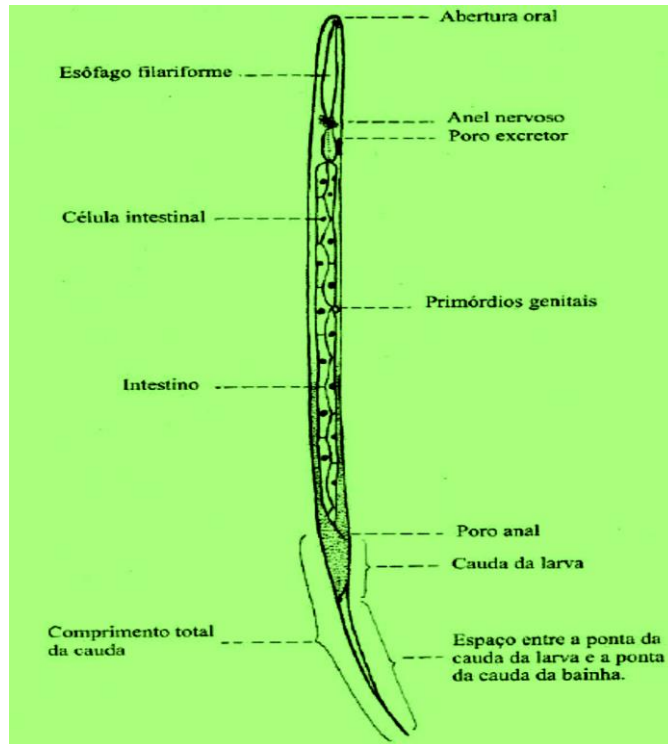
Engorda		1	2	3	4	5	6
OPG EGI	Média	82,8	0	453,8	3,33	23,33	0
	I.C 95%	Mín	-24,4	0	-160,1	-3,82	5,61
	Média	Máx	190	0	1067,8	10,48	41,05
	Mediana		0	0	100	0	0
	Desvio Padrão		297,4	0	1016	12,9	31,99
	Mínimo		0	0	0	0	0
	Máximo		1700	0	3650	50	100
	Prado	7	8	9			
	Média		25	200	177,27		
	I.C 95%	Mín	-3,91	114	41,69		
	Média	Máx	53,91	286	312,85		
	Mediana		0	150	50		
	Desvio Padrão		61,77	193,95	305,78		
	Mínimo		0	0	0		
	Máximo		250	750	1350		
	Desmama	10	11	12	13	14	15
	Média		45	66,67	90	0	23,08
	I.C 95%	Mín	15,69	32,49	-44,59	0	-0,38
	Média	Máx	74,31	100,85	224,59	0	46,53
	Mediana		0	50	50	0	0
	Desvio Padrão		62,61	61,721	108,39	0	38,81
	Mínimo		0	0	0	0	0
	Máximo		200	200	250	0	100
OPG Eimeria spp.	Engorda	1	2	3	4	5	6
	Média		9,38	90	196,15	23,33	2540
	I.C 95%	Mín	-27	-87,9	-44,76	0,25	1640,08
	Média	Máx	19,02	267,9	437,07	46,42	3439,9
	Mediana		0	0	0	0	2050
	Desvio Padrão		26,75	321,3	398,6	41,69	1625,04
	Mínimo		0	0	0	0	550
	Máximo		100	1250	1250	100	5700
	Prado	7	8	9			
	Média		115	261,36	729,55		
	I.C 95%	Mín	1,85	148,55	476,07		
	Média	Máx	228,15	374,18	983,02		
	Mediana		0	150	550		
	Desvio Padrão		241,75	254,45	571,68		
	Mínimo		0	0	100		
	Máximo		1000	1050	2400		
	Desmama	10	11	12	13	14	15
	Média		1127,50	1986,6	1910	20	3238,4
	I.C 95%	Mín	440,82	1341,1	984,5	-	2654,6
	Média	Máx	1814,18	2632,1	2835,4	35,53	2755,7
	Mediana		575	1800	2100	0	3200
							3125

	Desvio Padrão		1467,22	1165,6	745,31	44,72	966,12	1600,8
	Mínimo		0	700	1000	0	1650	1200
	Máximo		5900	5650	2800	100	4650	7500
OPG <i>Moniezia benedeni</i>	Engorda		1	2	3	4	5	6
	Média		0	0	0	0	0	0
	I.C 95%	Mín	0	0	0	0	0	0
	Média	Máx	0	0	0	0	0	0
	Mediana		0	0	0	0	0	0
	Desvio Padrão		0	0	0	0	0	0
	Mínimo		0	0	0	0	0	0
	Máximo		0	0	0	0	0	0
	Prado		7	8	9			
	Média		0	50	54,55			
	I.C 95%	Mín	0	-6	-29,22			
	Média	Máx	0	106	138,31			
	Mediana		0	0	0			
	Desvio Padrão		0	126,3	188,92			
	Mínimo		0	0	0			
	Máximo		0	450	850			
	Desmama		10	11	12	13	14	15
	Média		7,50	0	0	0	0	22,50
	I.C 95%	Mín	-3,95	0	0	0	0	-24,59
	Média	Máx	18,95	0	0	0	0	69,59
	Mediana		0	0	0	0	0	0
	Desvio Padrão		24,468	0	0	0	0	100,62
	Mínimo		0	0	0	0	0	0
	Máximo		100	0	0	0	0	450
OPG <i>Toxocara vitulorum</i>	Engorda		1	2	3	4	5	6
	Média		0,03	0	0,08	0	0	0
	I.C 95%	Mín	-0,03	0	-0,09	0	0	0
	Média	Máx	0,09	0	0,24	0	0	0
	Mediana		0	0	0	0	0	0
	Desvio Padrão		0,177	0	0,277	0	0	0
	Mínimo		0	0	0	0	0	0
	Máximo		1	0	1	0	0	0
	Prado		7	8	9			
	Média				0,05			
	I.C 95%	Mín			-0,05			
	Média	Máx			0,14			
	Mediana				0			
	Desvio Padrão				0,213			
	Mínimo				0			
	Máximo				1			

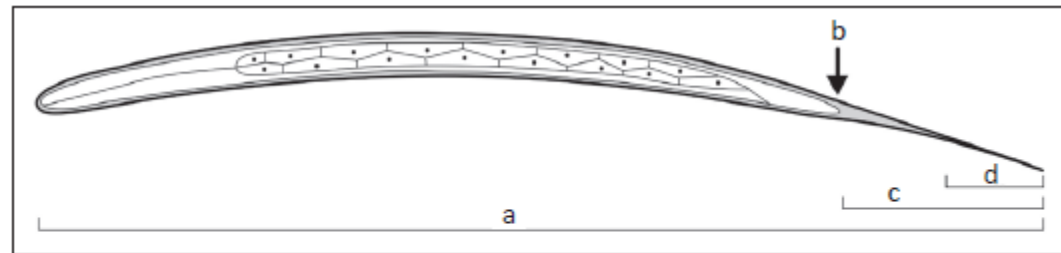
Anexo IV: Análise estatística da Categoria B

Grupo			1	2	3	4	5	6	7	8
OPG EGI	Média		2,50	6,67	2,38	27,78	0	6,67	0	14, 58
	I.C 95%	Mín	-2,73	-7,63	-2,59	-11,19	0	-7,63	0	1,41
		Máx	7,73	20,97	7,35	66,74	0	20,97	0	27,76
	Mediana		0	0	0	0	0	0	0	0
	Desvio Padrão		11,180	25,82	10,911	50,69	0	25,82	0	31,205
	Mínimo		0	0	0	0	0	0	0	0
	Máximo		50	100	50	150	0	100	0	100
OPG Eimeria spp.	Média		92,50	2143,3	400	1216,6	491,67	80	1575,6	2781,25
	I.C 95%	Mín	43,72	1278,3	171,15	726,73	135,14	39,74	966,99	2292,06
		Máx	141,28	3008,3	628,85	1706,6	848,19	120,26	2184,2	3270,44
	Mediana		50	1700	250	1100	475	50	950	2525
	Desvio Padrão		104,22	1562	502,74	637,37	339,73	72,703	1142,2	1158,5
	Mínimo		0	0	50	450	150	0	400	950
	Máximo		350	5250	2400	2100	1100	200	3054	4750
OPG Moniezia benedeni	Média		5	0	0	0	0	0	0	12,50
	I.C 95%	Mín	-2,2	0	0	0	0	0	0	-6,44
		Máx	12,2	0	0	0	0	0	0	31,44
	Mediana		0	0	0	0	0	0	0	0
	Desvio Padrão		15,390	0	0	0	0	0	0	44,843
	Mínimo		0	0	0	0	0	0	0	0
	Máximo		50	0	0	0	0	0	0	200

Anexo V: Representação morfológica de L3

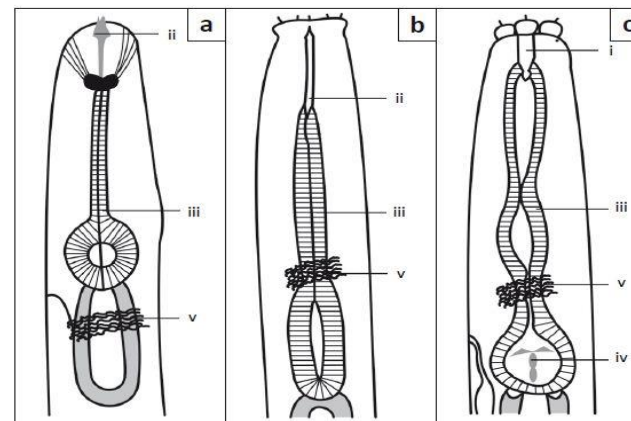


Morfologia esquemática L3 infectante



Source: Drawn from Borgsteede, F.H.M. & Hendriks, J., 1974, 'Identification of infective larvae of gastrointestinal nematodes in cattle', *Tijdschrift Diergeneeskunde* 99, 103–113.

FIGURE 1: Diagram of a nematode infective larva, depicting (a) total length, (b) tip of larva tail, (c) sheath tail extension and (d) filament.



Source: Drawn from Van Wyk, J.A., Cabaret, J. & Michael, L.M., 2004, 'Morphological identification of nematodes of small ruminants and cattle simplified', *Veterinary Parasitology* 119, 277–306. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2003.11.012>, PMID:15154594

FIGURE 13: Morphology of the cranial extremities (heads) of free-living nematodes: (a) Tylenchida, (b) Dorylaimida and (c) Rhabditida, depicting, (i) stoma, (ii) stylet, (iii) oesophagus, (iv) valve and (v) nerve ring.

Larvas de vida livre

Anexo VI: Diagrama de identificação de L3 de estrongilídeos

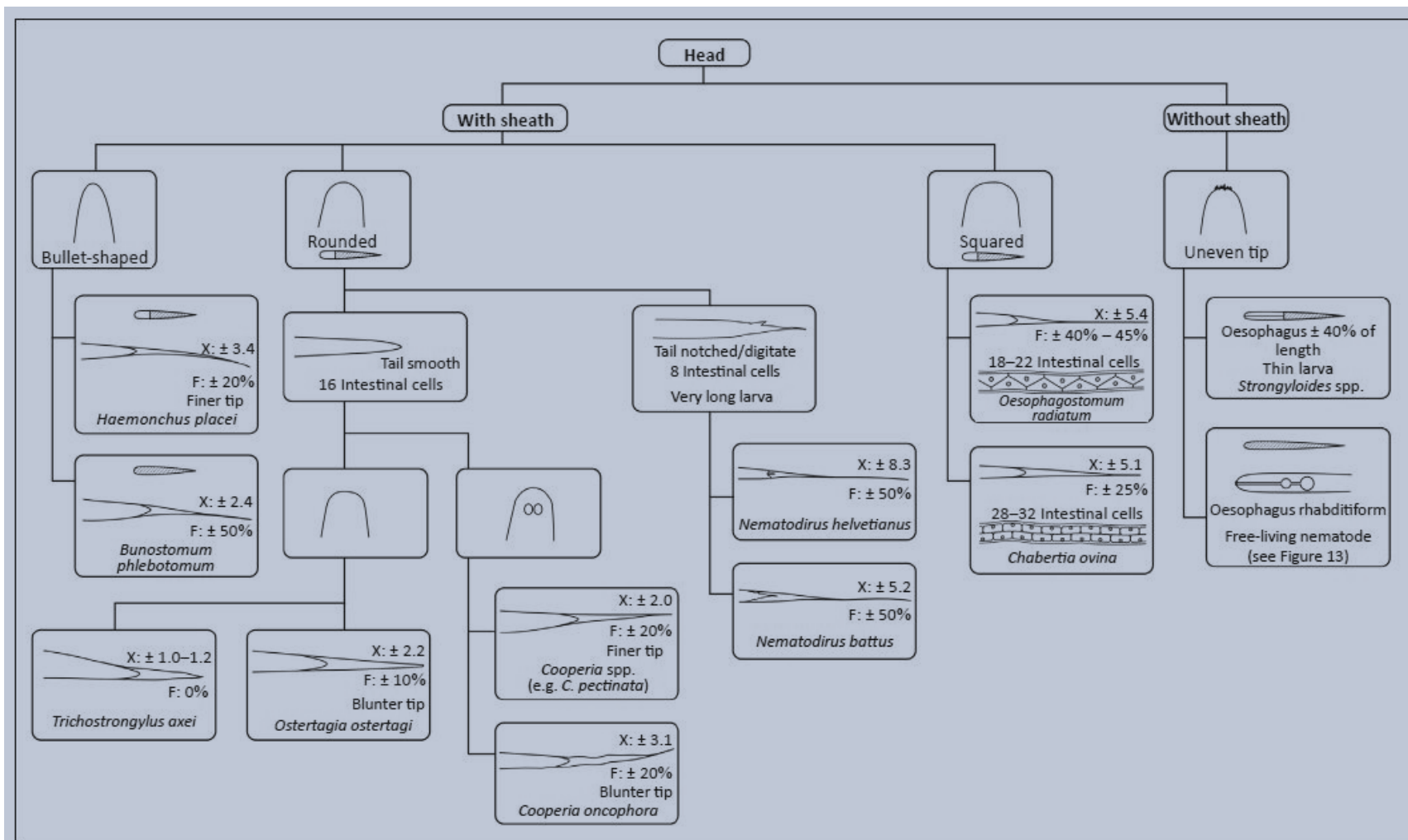
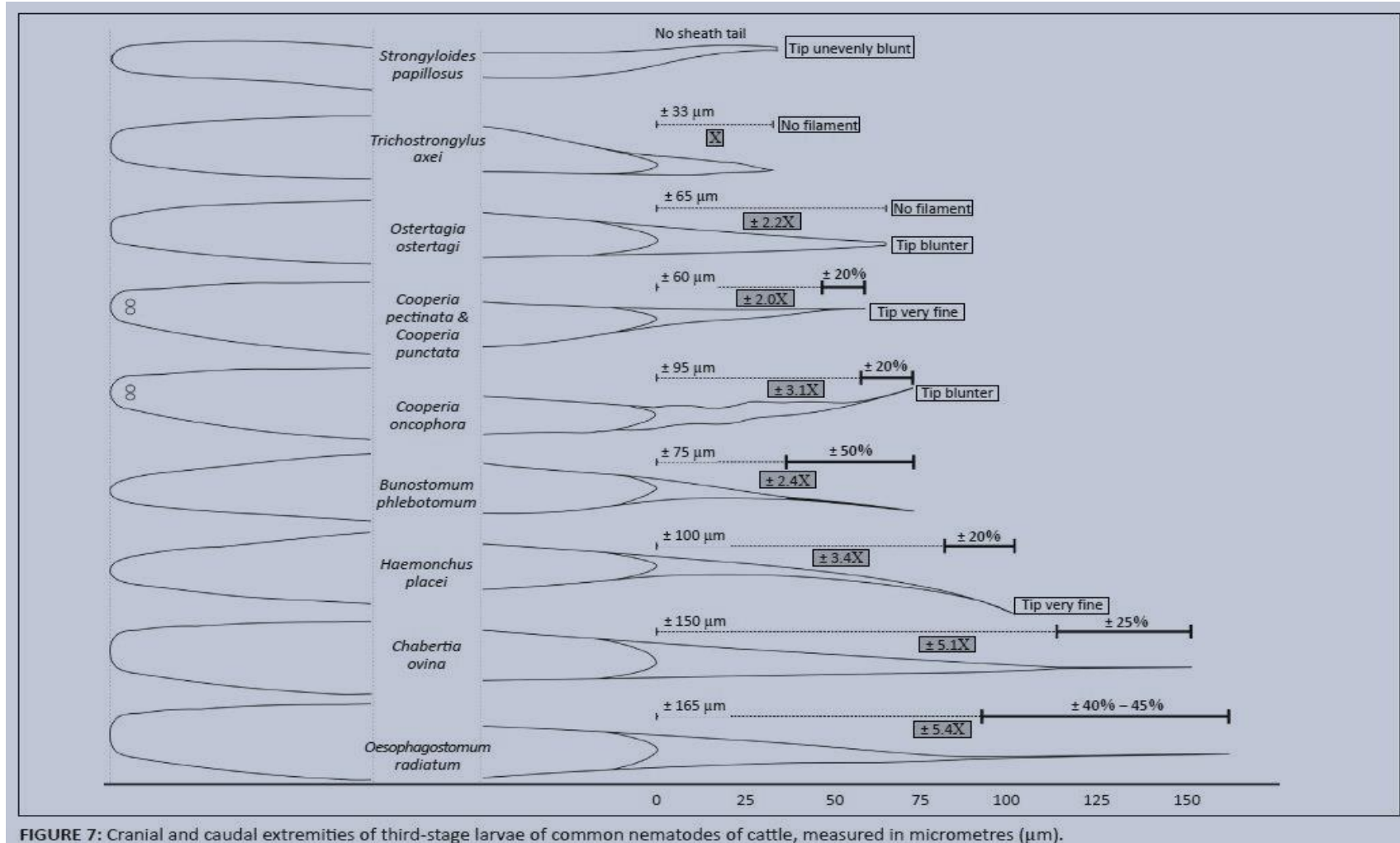


FIGURE 15: Organogram for identifying gastrointestinal nematode and lungworm larvae of cattle.

Anexo VII: Morfologia das extremidades de L3 de estrongilídeos



Anexo VIII: Medidas de L3 de estrongilídeos mais comuns em ruminantes e diferenciação *Trichostrongylus* spp. e *Ostertagia* spp.

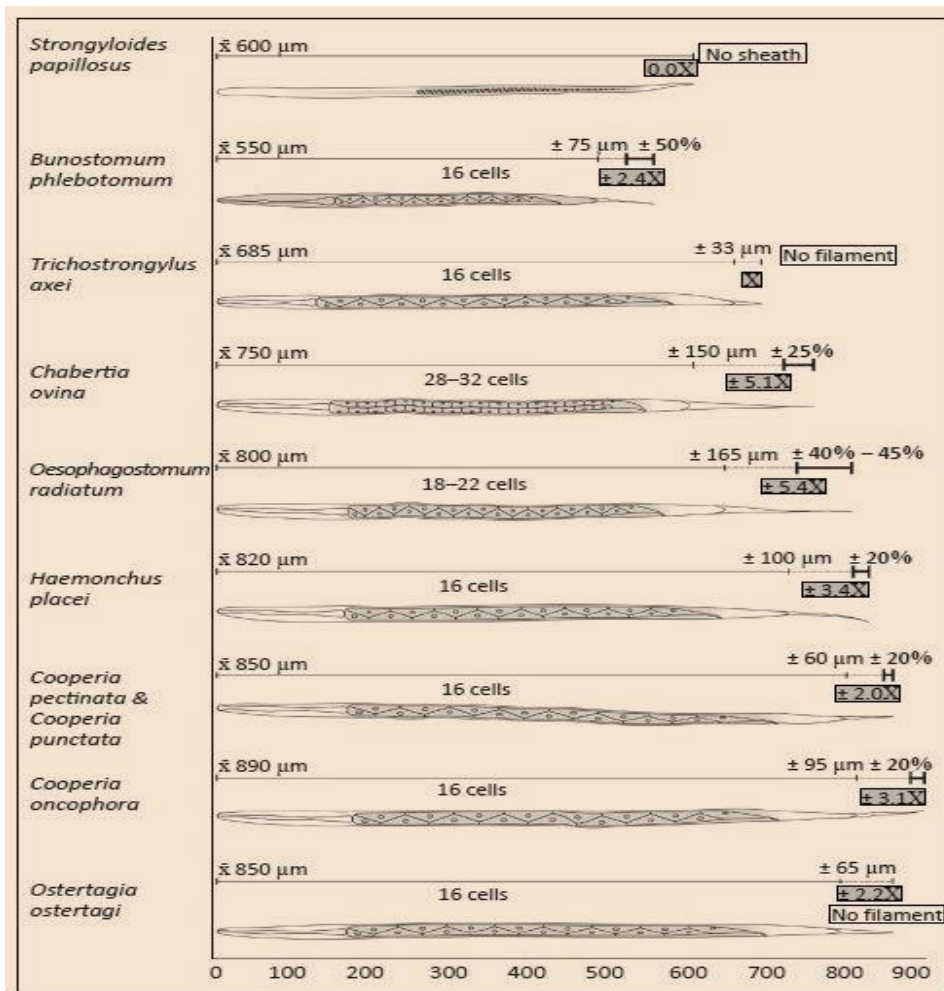
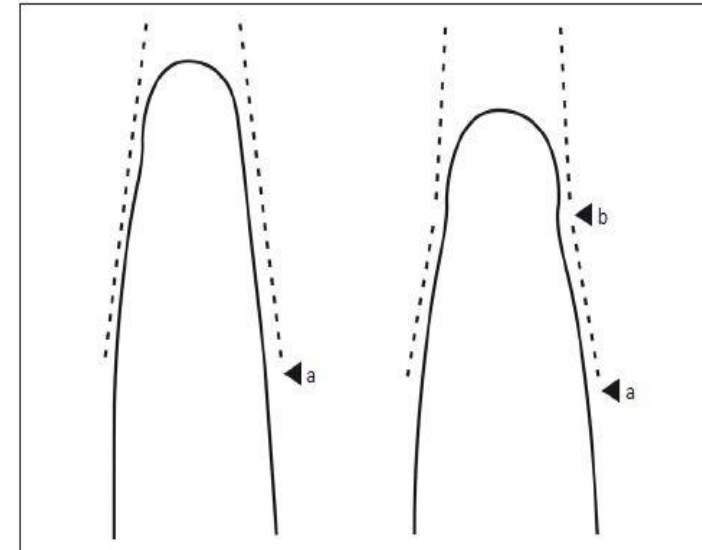


FIGURE 6: Third-stage larvae of common nematodes of cattle, measured in micrometres (µm).

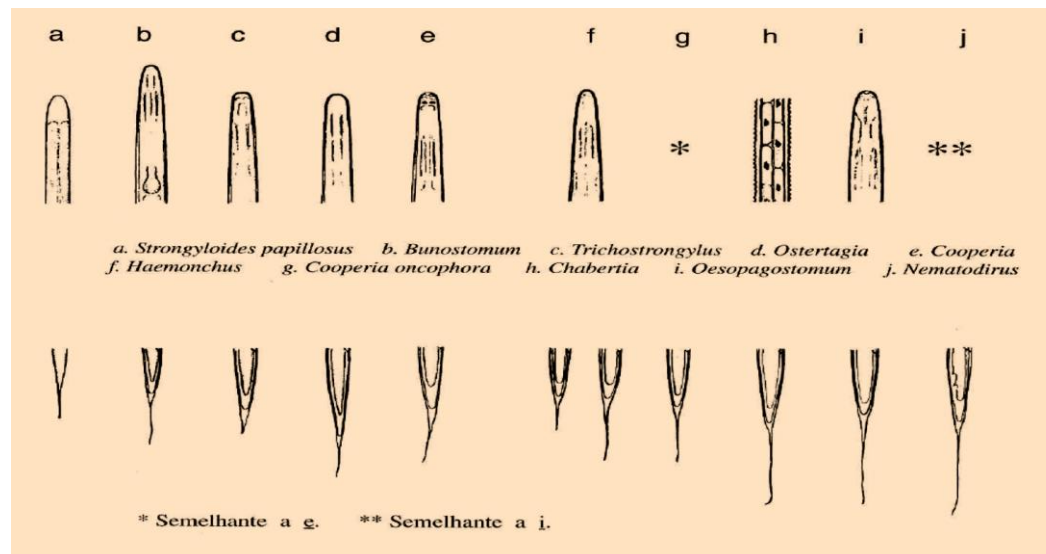


Source: Drawn from Lancaster, M.B. & Hong, C., 1987, 'Differentiation of third stage larvae of "ovine *Ostertagia*" type and *Trichostrongylus* species', *The Veterinary Record* 120, 503. <http://dx.doi.org/10.1136/vr.120.21.503>, PMID:3604011

FIGURE 9: Differentiation of third-stage larvae of *Trichostrongylus* spp. (left) and *Ostertagia* spp. (right), depicting (a) initial point of inflexion craniad and (b) 'shoulder' of *Ostertagia* spp.

Anexo IX: Identificação de L3 de estrongilídeos em ruminantes

Comprimento Total	Distância entre a cauda da larva e a cauda de bainha	Gênero, espécie e comprimento total	Desenhos e fotografias correspondentes		
			Figura 14	Figura 15	Figura 16
Curta 500-700 μ m	Sem bainha	<i>Strongyloides</i> 570 - 700 μ m	a	a	a
	Longa 85 - 115 μ m	<i>Bunostomum</i> 510 - 570 μ m	b	b	b
	Curta 20-40 μ m	<i>Trichostrongylus</i> 620 - 910 μ m	c	c	c
Média 700 - 900 μ m	Curta 20 - 40 μ m	<i>Ostertagia</i> 650 - 750 μ m	d	d	d
	Média 30 - 60 μ m	<i>Haemonchus</i> 650 - 750 μ m	e	e	e
		<i>Cooperia curticei</i> 710 - 850 μ m	f	f	-
		<i>Cooperia oncophora</i> 800 - 920 μ m	g	-	f
Longa 900 - 1.200 μ m	Longa 60 - 80 μ m	<i>Chabertia</i> 710 - 790 μ m	h	-	-
	Muito comprida	<i>Oesophagostomum</i> 770 - 920 μ m	i	g	g
	250 - 290 μ m	<i>Nematodirus</i> 922 - 1.180 μ m	j	-	-



Anexo X: Chave para identificação de L3 de estrongilídeos de bovinos

Chave para identificação de larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de bovinos.

1. Larvas sem bainha, esôfago ocupa mais que 1/3 do tamanho da larva. *Strongyloides papillosus*
 Larvas com bainha longa e esôfago curto 2
2. Larva, incluindo bainha menor que 600 μm *Bunostomum phlebotomum*
 Larvas incluindo bainha, maiores que 600 μm 3
3. Cauda da bainha menor que 200 μm 4
 Cauda da bainha maior que 200 μm 5
4. Larvas com dois corpos ovais refringentes na parte anterior do esôfago. Facilmente observáveis 6
 Larvas não apresentam os dois corpos na posição anterior do esôfago 7
5. Tamanho da larva, incluindo a bainha, maior que 1.000 μm *Nematodirus spp.*
 Tamanho da larva, incluindo a bainha, menor que 1.000 μm e cauda terminando em ponto simples *Oesophagostomum radiatum*
6. Tamanho da larva, incluindo a bainha, menor que 850 μm e cauda da bainha com mais de 150 μm , com cauda de bainha longa, afinando gradativamente e terminando em ponto *Cooperia oncophora*
 Tamanho da larva, incluindo a bainha, menor que 850 μm e cauda da bainha terminando bruscamente em ponto ou num curto filamento com menos de 150 μm *Cooperia punctata*, *C. pectinata*
7. Cauda da bainha curta e cônica, menor que 110 μm *Trichostrongylus axei*
 Cauda da bainha longa, com no mínimo 126 μm 8
8. Cauda da bainha terminando bruscamente *Ostertagia ostertagi*
 Cauda da bainha terminando em forma de chicote (filamento muito fino) *Haemonchus*