

Pedro Tiago Duarte Serôdio de Matos Rito

**Contribuição para o estudo das parasitoses gastrointestinais em
ovinos**

Orientador: Professora Doutora Ana Maria Duque de Araújo Munhoz

Coorientador: Dr. João Guilherme dos Santos Pedroso Paisana

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa
2020

Pedro Tiago Duarte Serôdio de Matos Rito

**Contribuição para o estudo das parasitoses gastrointestinais em
ovinos**

Dissertação apresentada para a obtenção de Grau de Mestre em Medicina Veterinária no curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, no dia 5 de Novembro de 2020, perante o júri, nomeado pelo Despacho Reitoral nº245/2020, de 26 de Outubro de 2020 com a seguinte composição:

Membros do Júri:

Presidente: Prof^ª. Doutora Laurentina Pedroso

Arguente: Prof^ª. Doutora Helga Waap

Orientadora: Prof^ª. Doutora Ana Araújo Munhoz

Coorientador: Dr. João Paisana

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias
Faculdade de Medicina Veterinária**

Lisboa
2020

*O valor das coisas não está no tempo que elas
duram, mas na intensidade com que
acontecem.*

Fernando Pessoa

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias de Lisboa, em especial aos Dr. Rui Pedro Faísca, Dr. José Girão e Dra. Ângela Martins, pela amizade com que me honraram e pelo que tanto aprendi com eles durante este trajeto.

À Dra. Ana Maria Araújo, minha orientadora, e ao meu coorientador, Dr. João Paisana, pois sem os seus ensinamentos, a sua paciência e o seu desprendido acompanhamento, este trabalho porventura não teria sido terminado;

Ao Dr. José Pedro Lima, por me ter aceite a seu lado para a realização do estágio curricular, por todas as experiências proporcionadas e pelos conhecimentos transmitidos;

À Dra. Carolina Ruivo, também ela médica veterinária formada nesta instituição, que me fez “abrir” os olhos numa altura da minha vida em que a motivação para retomar os estudos andava muito arredada: por me incutir a coragem de recomeçar, pelos “banhos de humildade” que me deu na altura certa, que me fizeram reencontrar o meu caminho;

A todos os colaboradores que trabalham na exploração onde fiz parte do estágio e onde retirei as minhas amostras para o estudo desta dissertação, pelo companheirismo e espírito de entreajuda e troca de conhecimentos;

Aos meus companheiros deste percurso académico, com quem partilhei tantos momentos, pois que, mesmo sendo eu de um escalão etário mais avançado relativamente a eles, me receberam de braços abertos e tanto me ajudaram. Nomeio em especial Bruno Henriques, mas também, “Zé” Cardoso, Bruno Mateus, Gonçalo Camacho, João Dias Lopes, António Pacheco, Carlos Costa, Francisco Peres, José Castanho, Joana Rosa Monteiro, Mafalda Claro, Margarida Melo, Inês Pereira e Beatriz Taborda;

Aos meus amigos especiais, Pedro “Vaquita” e João Paulo Esteves, aos quais tenho como se fossem meus segundos “pais”; ao Diogo José “Senassa” e Diogo Nunes, que considero como “irmãos”, por sempre me apoiarem e acreditarem e por fazerem prevalecer esta segura amizade de tantos anos; e também aqui, à Joana Bernardo, pessoa especial, pela ajuda, apoio incondicional e acima de tudo por acreditar sempre que sou capaz;

À minha madrinha “São” Rito e ao “velho” amigo Zé “Toneca”, o qual considero como se fosse meu padrinho, ambos sempre incondicionalmente a meu lado;

Ao grande amigo de família, José Manuel Martins, pelas horas gastas comigo, por toda a ajuda, ensinamentos e firmeza aquando a revisão geral da tese, assim como toda a ajuda informática. Na mesma linha, também à minha prima Joana Fonseca, pela ajuda informática, no decorrer deste trabalho e de outros tantos.

E, de uma forma destacada e especial, ao meu filho Francisco Maria, nascido na altura em que decorria o meu estágio curricular, que me dá superlativa vontade e força de vencer, assim como à sua mãe, Helena Cotrim, que sempre acreditou de que eu seria capaz, e que me apoiou em alturas mais difíceis. Aos meus pais, José e Isabel Maria, bem como à minha

irmã Ana Sofia, por terem constituído sempre o meu “porto de abrigo” e o meu sustento, o meu alento e o meu financiamento, o meu acompanhamento físico e controlo emocional, e que, aceitando as minhas dúvidas e compreendendo os meus hesitantes percursos, depositaram total crença em mim e me deram renovada oportunidade de arrepiar caminho e de voltar a agarrar o que realmente me completa.

RESUMO

O papel preponderante que a indústria agropecuária desempenha na economia nacional e mundial é inegável. Exemplo disso é o comércio de ovinos, cujo crescente valor associado à carne e ao leite está nos dias de hoje aliado a uma crescente demanda por produtos de alta qualidade, o que implica que todas as etapas de produção sejam regidas pelo rigor na monitorização de um elevado número de parâmetros.

A ocorrência de infecções por parasitas gastrointestinais constitui um fator comprometedor dessa qualidade, estando frequentemente associado a perdas nos índices produtivos.

Este estudo exploratório realizado em quatro grupos de borregos teve como objetivo a determinação da prevalência de parasitas gastrointestinais em animais num estado prévio à sua exportação através de técnicas coprológicas, a técnica de flutuação, a técnica de sedimentação e a técnica de McMaster.

Os resultados revelaram a presença de ovos strongilídeos, oocistos de *Eimeria* spp. e ovos de *Moniezia* spp. no total dos oitocentos e oitenta e três animais que fizeram parte deste estudo. Por outro lado, embora se tenha registado a ocorrência de infecções moderadas por *Moniezia* spp. em algumas amostras, apenas a infecção por *Eimeria* spp., demonstrou níveis de parasitismo considerados graves.

Com base nas observações, e embora não tenha sido encontrada relação significativa entre a carga parasitária e a proveniência dos animais, recomendou-se a realização de diagnósticos parasitológicos à chegada dos animais à exploração como forma de separação dos indivíduos parasitados.

Outros fatores como, o maior controlo de condições higiénicas, diminuição do stress e reforços nutricionais constituem medidas com potencial profilático principalmente na transmissão de protozoários como as coccídias. Para além disso, a introdução de fármacos coccidiostáticos ou coccidicidas no plano profilático dos animais pode constituir uma vantagem quando as coccidioses representam uma ameaça e os antihelmínticos não têm nenhuma eficácia e estão restritos ao controlo dos nematodes.

PALAVRAS-CHAVE: exploração pecuária; ovinos; parasitose gastrointestinal; análise coprológica

ABSTRACT

The predominant role the farming industry plays in the national and world economy is undeniable. An example of that is sheep trade, whose growing value associated with meat and milk is nowadays coupled with an increasing demand for high quality products, which implies that all stages of production are conducted with accuracy, by monitoring a high number of parameters.

The occurrence of infections by gastrointestinal parasites is a compromising factor of quality, being frequently associated with losses in the production indexes. This exploratory study carried out in four groups of lambs aimed at determining the prevalence of gastrointestinal parasites in animals, prior to their export through coprological techniques, the flotation technique, the sedimentation technique and the McMaster technique.

The results revealed the presence of strongylid and *Moniezia* spp. eggs as well as *Eimeria* spp. oocysts in total eight hundred and eighty-three animals that were part of this study. On the other hand, although moderate infections by *Moniezia* spp. were observed in some samples, only the infection by *Eimeria* spp. demonstrated severe levels of parasitism.

Based on this, and although no significant relation was found between the parasitic load and the provenance of the animals, it was recommended to carry out parasitological diagnoses upon the arrival of the animals to the farm as a way of separating the parasitized individuals.

Other facts with greater control of hygienic conditions, reduction of stress and nutritional reinforcements are measures with a prophylactic potential, mainly in the transmission of parasites such as coccidias. In addition, the introduction of coccidiostatic or coccidicidal drugs in the animals prophylactic plan may constitute an additional advantage when coccidiosis are a threat and the use of anthelmintics has no efficacy and is restricted to the control of nematodes.

KEYWORDS:

Livestock farming; sheep; gastrointestinal parasitosis; coprological analysis

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

A.C- Antes de Cristo

AINE`s -Anti-inflamatórios não esteroides

ANOVA - Análise de variância

BTV14 - Bluetongue vírus 1 and 4

DGAV -Direção-Geral de Alimentação e Veterinária

EGI - Estrongilídeos Gastrointestinais

ELISA - Enzyme Linked Immunosorbent Assay

G1 - Grupo 1

G2 - Grupo 2

G3 - Grupo 3

G4 - Grupo 4

Hab/Km² – Habitante por quilómetro quadrado

INE – Instituto Nacional de Estatística

L1 - Estádio larvar 1

L2 - Estádio larvar 2

L3 - Estádio larvar 3

L4 - Estádio larvar 4

L5 - Estádio larvar 5

OIE - Organização Mundial da Saúde Animal

OPG - Ovos por grama de fezes

OOPG - Oócistos por grama de fezes

OPP – Organização de Produtores Pecuários

SD - standard deviation

µm – Micrograma

° C – Grau Celsius

% - Percentagem

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE TABELAS.....	12
ÍNDICE DE FIGURAS.....	12
ÍNDICE DE GRÁFICOS	12
1. Descrição das atividades do estágio	13
2. Introdução.....	16
2.1 Revisão bibliográfica.....	17
2.1.1 Principais parasitoses gastrointestinais que acometem os ovinos	17
2.1.2 Nematodoses	17
2.1.2.1 Ciclo de vida.....	23
2.1.2.2 Métodos de diagnóstico.....	24
2.1.2.3 Epidemiologia.....	24
2.1.2.4 Tratamento e controlo.....	25
2.1.3 Cestodoses	26
2.1.3.1 Ciclo de vida.....	27
2.1.3.2 Métodos de diagnóstico.....	28
2.1.3.3 Tratamento e Controlo.....	28
2.1.4 Coccidioses	29
2.1.4.1 Ciclo de Vida	31
2.1.4.2 Métodos de Diagnóstico	32
2.1.4.3 Tratamento e Controlo.....	32
2.2 Objetivos.....	33
3. MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1 Situação geográfica e climática.....	34
3.2 Descrição da Exploração	34
3.3 Animais do estudo	35
3.3.1 Diretrizes da origem	35
3.3.2 Condições na exploração	36
3.3.3 Protocolo de Exportação	37
3.3.4 Amostra.....	37
3.3.5 Técnicas coprológicas	38
3.3.5.1 Técnica de McMaster	38
3.3.5.2 Técnica de flutuação de Willis	39
3.3.5.3 Técnica de Sedimentação Simples.....	39
3.4 Estudo estatístico utilizado.....	40
4. RESULTADOS	41

5.	DISCUSSÃO E CONCLUSÃO	46
5.1	Discussão dos resultados obtidos	46
5.2	Conclusões do trabalho	49
5.3	Sugestões para experiências adicionais	50
	BIBLIOGRAFIA	51

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Divisão dos grupos de borregos que fizeram parte do mesmo estudo	38
Tabela 2: Resultados qualitativos da presença de ovos nas fezes, observados através da técnica de flutuação de Willis.....	41
Tabela 3: Graus de parasitismo de acordo com a quantidade de OPG dos animais.....	42
Tabela 4: Resultados quantitativos da presença de OPG de strongilídeos nas fezes, observados através da técnica de McMaster.	42
Tabela 5: Resultados quantitativos da presença de OOPG de <i>Eimeria</i> spp nas fezes, observados através da técnica de McMaster.	43
Tabela 6: Resultados de OPG de <i>Moniezia</i> spp nas fezes, observados através da técnica de McMaster.....	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Fotografia de ovos de strongilídeos gastrointestinais:	19
Figura 2: Esquema representativo do ciclo de vida de nematodes intestinais de ovinos, ...	23
Figura 3: Relação entre o hospedeiro, parasitas e ambiente e os factores que têm efeito no controlo parasitário.....	25
Figura 4: Esquema representativo do ciclo de vida de <i>Moniezia</i> spp. em ovinos.....	28
Figura 5: Oocistos esporulados das principais espécies de <i>Eimeria</i> que parasitam ovinos ..	30
Figura 6: Esquema representativo do ciclo de vida de <i>Eimeria</i> spp. em ovinos.....	31

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Distribuição das horas de trabalho.....	13
Gráfico 2: Frequência de patologias.....	14
Gráfico 3: Número de ovos strongilídeos encontrados por grupo de ovinos, através da técnica de McMaster..	43
Gráfico 4: Número de oocistos de <i>Eimeria</i> spp encontrados por grupo de ovinos, através da técnica de McMaster..	44
Gráfico 5: Número de ovos de <i>Moniezia</i> spp encontrados por grupo de ovinos, através da técnica de McMaster..	45

1. Descrição das atividades do estágio

Como parte do plano curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, foi realizado o estágio curricular que decorreu entre 15 de Novembro de 2018 e 15 de Março de 2019. O estágio foi orientado pelo médico veterinário Dr. José Pedro do Rosário Ribeiro Lima no âmbito das suas atividades clínicas.

Esta prestação de serviços era direcionada ao setor pecuário, que compreendia apoio de projetos e rendimento, acompanhamento técnico às explorações de bovinos relacionadas à qualidade do leite, acompanhamento e controlo reprodutivo, cirurgias, inseminação artificial, saneamento, podologia e consultas.

As espécies observadas nas atividades clínicas foram, maioritariamente, a bovina e a ovina e, menos frequentemente, a caprina.

A agenda do trabalho compreendia os dias úteis da semana, em regime diurno, embora, se necessário, também em dias não úteis (sábados, domingos e feriados) ou em horário noturno, em casos urgentes. O horário do estágio era incerto, pois neste tipo de prestação de serviços não há previsibilidade casuística, prévio estabelecimento da distância a percorrer, fatores que tornam aleatório qualquer horário. A itinerância permanente a que obrigava este tipo de prestação de transportes obrigava ao uso de um meio de transporte próprio e versátil. Foi, por isso, utilizado uma viatura automóvel ligeira, equipado com todo o material necessário à prática subjacente, nomeadamente medicamentos, equipamento de obstetrícia, podologia e cirurgia, ecógrafo e material necessário ao saneamento.

A distribuição do trabalho das horas de estágio pelas diferentes áreas de intervenção está representada no Gráfico 1:

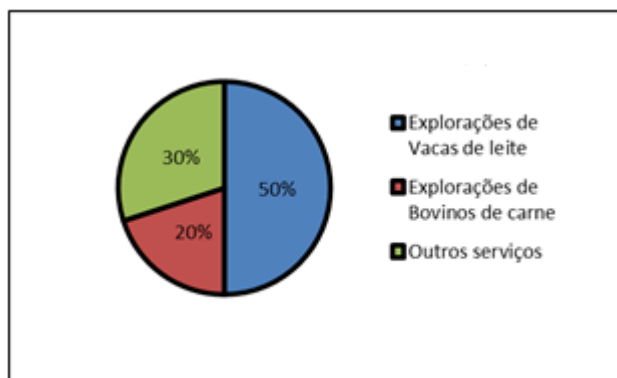


Gráfico 1: Distribuição das horas de trabalho

Mais de 50% das horas, que cuja, intervenção incidiu em explorações de vacas de leite, foram intervenções na área de reprodução, tal como o controlo reprodutivo, que eram os primeiros serviços do dia. Estes tinham como objetivos, confirmação de gestação por ecografia ou palpação; deteção de cios; inseminações artificiais; acompanhamento pré-parto e controlo pós-parto.

Outras atividades do estágio foram outros serviços, tais como, consultas, cirurgias, saneamento e consultadorias.

As consultas acompanhadas iniciavam-se sempre pelo exame físico do animal já que é muito importante para chegar ao diagnóstico, sendo até mesmo, por vezes, o único recurso disponível no campo para diagnosticar as diversas patologias e estabelecer o tratamento mais apropriado. Ocorreram situações em que os diagnósticos foram apenas presuntivos e não definitivos, devido à impossibilidade da realização de outros exames complementares.

Na casuística, foram observados diferentes casos clínicos nas diversas áreas de intervenção. As patologias do foro reprodutivo foram as mais frequentes (cerca de 50%), seguidas das patologias metabólicas do pós-parto e do úbere, do aparelho gastrointestinal, respiratório e locomotor. No Gráfico está representada a informação distributiva relativa à frequência das diferentes patologias encontradas.

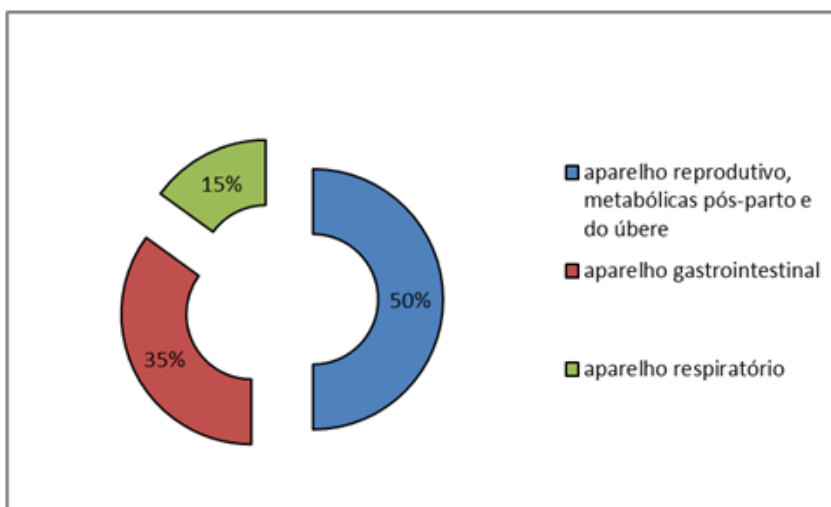


Gráfico 2: Frequência de patologias

Outras atividades desenvolvidas durante o estágio foram na área da neonatologia e direcionadas também a animais jovens (com menos de 12 meses de idade), incluindo as necropsias e eutanásias.

Assume particular relevância referir que, inserido no tempo destinado a outros serviços, foi feito o acompanhamento de uma exploração intensiva de borregos, sediada na zona de Salvaterra de Magos, que tem como objetivo a compra de borregos no território português a fim de os enviar para Israel, para efeitos de distribuição ao consumidor da carne.

Neste trabalho específico foi feito o acompanhamento de todo o processo, desde a compra, ao controlo do transporte e da viagem, passando pela exploração propriamente dita, onde eram separados por raça, peso e sexo. As raças mais predominantes eram Assaf, Lacone, Merino e Ille France (consideradas as de maior valor para o consumo israelita); o peso médio à chegada, era de 17Kg; e eram predominantemente machos.

Durante o processo eram desparasitados e vacinados contra a língua azul, seguindo-se uma quarentena de 60 dias, período mínimo, após o qual eram embarcados para o país de destino, Israel, com um peso médio de 35 Kg.

No acompanhamento médico-veterinário, enquanto decorria o período de quarentena, os animais com sinais de patologia eram reencaminhados para o hospital da exploração, onde havia um local devidamente separado e destinado apenas aos animais com patologia, onde eram submetidos a tratamento. Os animais que não apresentava bom prognóstico e que possivelmente não responderiam ao tratamento e que o seu bem-estar se encontrava comprometido eram então eutanasiados.

Trinta dias antes do embarque para Israel, aos animais que estariam destinados ao próximo carregamento eram recolhidas amostras de sangue a todos, e enviadas para laboratório a fim de pesquisar eventual positividade para a Brucelose, Maedi-Visna, Salmonelose, Clamidia e Febre Q. Os animais que estivessem positivos a alguma destas patologias já não seguiriam para Israel e seriam abatidos.

Frise-se que todo este acompanhamento incluía a realização da carga dos borregos à saída da exploração com rumo ao porto de Sines, assim como a descarga e todo o processo de embarque para o navio que os iria transportar para Israel. Este cuidado permitia assegurar que todos os animais embarcados se encontravam nas perfeitas condições de saúde e bem-estar.

2. Introdução

A domesticação da espécie ovina terá ocorrido 9000 anos A.C., nas encostas ocidentais das Montanhas Zagros, na fronteira entre o Irão e o Iraque (Zygyiannis, 2006). Atualmente, a produção ovina de carne e de leite representa uma indústria de grande importância em diversos países. A nível mundial, as principais áreas de produção de ovinos estão localizadas entre as latitudes de 35-55° norte na Europa e Ásia e entre as latitudes de 30-45° sul na Austrália, Nova Zelândia e América do Sul. Estas áreas fazem parte das zonas temperadas e apresentam as condições climáticas e de pastoreio ideais para a produção desta espécie (Ferguson *et al.*, 2017).

A produção ovina em Portugal, apesar de não assumir uma dimensão económica elevada, tem uma grande importância principalmente em algumas regiões do interior, constituindo uma importante fonte de rendimento para as populações locais, contribuindo para a ocupação do território e defendendo a biodiversidade e a paisagem rural (Teixeira, 2009).

Por outro lado, atualmente, a indústria de produção animal tem como objetivo produzir grandes quantidades de produto com um elevado grau de qualidade, em condições economicamente viáveis que, ao mesmo tempo, proporcionem o bem-estar animal (Montossi *et al.*, 2013). Assim sendo, há cada vez mais exigências para que uma exploração apresente uma boa produtividade com o mínimo de gastos possível, utilizando práticas agropecuárias sustentáveis. Para que o negócio possa permanecer competitivo e de acordo com as regras existentes, há uma crescente necessidade de lidar com os obstáculos que surgem na produção da forma mais adequada e precisa.

A ocorrência de parasitoses nos animais representa na indústria pecuária uma das maiores causas de perdas económicas associadas à produção a nível mundial, estando estas maioritariamente associadas à repercussão nos índices produtivos e nas rejeições *post-mortem* (Khan *et al.*, 2010). A maior parte das doenças parasitárias estão associadas a parasitoses intestinais, que, no caso dos ovinos, podem ser causadas principalmente por helmintos (nematodes, cestodes e trematodes) e protozoários. Estas doenças, não só têm um grande impacto na saúde dos animais, como também no seu bem-estar, sendo que o seu controlo é de elevada importância nas explorações.

Apesar da grande maioria dos animais adultos parasitados não manifestar sinais clínicos da doença, o parasitismo gastrointestinal pode ter consequências graves na produtividade. No caso de animais jovens, a presença de parasitas pode afetar o seu desenvolvimento e ganho de peso, sendo que em animais adultos pode levar à perda da condição corporal e perda da produtividade. Observa-se também uma influência significativa no estado imunitário dos animais, na sua performance reprodutiva e na qualidade da carcaça a nível do matadouro. E situações mais graves, pode levar à morte dos animais infetados (Bowman *et al.*, 2003).

Tendo em conta todos estes fatores, é essencial que o Médico Veterinário faça o diagnóstico e informe devidamente os produtores relativamente à importância de manter um bom manejo sanitário na exploração, o que inclui a avaliação e aconselhamento de práticas de higiene e o estabelecimento de planos de profilaxia (vacinação e desparasitação) apropriados à exploração, de modo a manter as cargas parasitárias dentro de níveis baixos.

Para que o controlo parasitário seja eficiente e que minimize a resistência aos antiparasitários, é importante o correto diagnóstico através de técnicas parasitológicas específicas e que se tenha conhecimento sobre as condições epidemiológicas presentes na região onde se localiza a exploração, de forma a efetuar uma escolha terapêutica direcionada e eficaz. Com o objetivo de se atingirem elevados padrões de produtividade e bem-estar animal, é necessário que haja um acompanhamento dos índices produtivos e relacioná-los com os resultados de exames coprológicos regulares, que permitem uma compreensão do estado sanitário no que diz respeito a estas doenças. Isto traz uma grande vantagem às explorações, uma vez que irá permitir o ajuste dos planos de profilaxia, contribuindo não só para o melhoramento da produção e para o bem-estar animal, como também para minimizar o risco de desenvolvimento de resistência aos antiparasitários.

2.1 Revisão bibliográfica

2.1.1 Principais parasitoses gastrointestinais que acometem os ovinos

2.1.2 Nematodoses

As parasitoses causadas por nematodes intestinais constituem um dos principais problemas sanitários dos rebanhos ovinos, sendo imprescindível a implementação de programas de controlo adequados. Caso contrário, a produção de ovinos pode tornar-se economicamente inviável, uma vez que estas parasitoses afetam a produtividade e o desenvolvimento dos animais, resultando muitas vezes num aumento da mortalidade (Bresciani *et al.*, 2017).

Os nematodes são parasitas que possuem forma cilíndrica e locomovem-se através de movimentos ondulatórios rápidos por contração e relaxamento das massas musculares dorsais e ventrais (Wallace, 1968). Estes parasitas apresentam um sistema digestivo tubular constituído por boca ou cápsula bucal, esófago, intestino e um sistema excretor, e a sua alimentação é feita à base de líquido das mucosas, produtos da digestão e fragmentos celulares do hospedeiro. A boca é normalmente um simples orifício, mas que pode abrir-se numa cápsula bucal, que pode apresentar dentes. Por sua vez, o esófago pode apresentar diferentes formas – rãbitiforme, filariforme, bulbiforme simples e duplo, muscular-glandular e tricuróide – sendo que se recorre a esta característica para identificação da espécie de nematode. O intestino possui microvilosidades para aumento da área de absorção, e o sistema excretor difere entre sexos – no caso das fêmeas, este é constituído pelo ânus, enquanto que no caso dos machos consiste numa cloaca na qual também se abre o ducto

ejaculador e é aí onde se encontra o órgão copulador, espículas e gubernáculo (Urquhart *et al.*, 1996). O órgão reprodutor feminino é constituído pelo ovário, oviduto, útero e vagina que comunica com o exterior através da vulva. O órgão reprodutor masculino é constituído por um único testículo e pelo canal deferente, que termina no ducto ejaculador, que, como referido anteriormente, tem abertura na cloaca (Bowman *et al.*, 2003).

Os ovos dos nematodes apresentam forma ovoide, têm um invólucro fino e são incolores. O seu tamanho oscila entre 70-90 µm de comprimento por 40-60 µm de largura, com exceção dos ovos pertencentes ao género *Nematodirus*, que podem ultrapassar os 130 µm de comprimento. Os ovos são eliminados na fase de blástula, com um número variável de blastómeros (4 a 32) dependendo da espécie. Com exceção dos ovos de *Nematodirus* spp., a identificação morfológica dos restantes ovos é muito difícil, pois são bastante semelhantes, sendo necessária a elaboração de coproculturas para se proceder à identificação das L3.

As L3 representam a forma larvar infetante dos nematodes intestinais. São vermiformes e o seu tamanho varia entre 600 a 1500 µm de comprimento e 20 a 30 µm de largura. Estas possuem um esófago do tipo filariforme e caracterizam-se por estarem rodeadas por uma bainha, exceto nos nematodes de vida livre. A identificação das L3 de diferentes espécies de nematodes pode ser feita utilizando vários critérios como: tipo de cauda, tamanho da larva e o número de células intestinais (Sancho, 2009).

Geralmente, a maioria dos ovinos encontra-se infetada por um ou mais nematodes, sendo que a intensidade da infeção e os sintomas associados à doença podem variar consideravelmente (Donald *et al.*, 1978). A severidade da doença é influenciada por diversos fatores que incluem o número de larvas presentes no trato gastrointestinal, as espécies que se encontram a infetar o hospedeiro, o estado de saúde e o estado imunológico do hospedeiro, a idade e espécie do hospedeiro, assim como factores ambientais como o clima, o tipo de pastagem, stress, dieta. Normalmente, os grupos de animais mais suscetíveis a virem a desenvolver infeções mais graves são: animais jovens, com um sistema imunitário subdesenvolvido; animais adultos com um sistema imunitário comprometido e animais expostos a ambientes altamente contaminados por L3 (Zajac, 2006). No entanto, as populações de nematodes em ovinos são geralmente dispersas, resultando num reduzido número de animais a apresentar infeções graves, sendo que a maioria dos ovinos são hospedeiros de um reduzido número de parasitas (Barger, 1985).

Existem diversas espécies de nematodes gastrointestinais que representam uma ameaça aos ovinos. De entre os helmintes que infetam os pequenos ruminantes, são os denominados estrongilídeos gastrointestinais os mais frequentes e também os responsáveis pelas maiores perdas de produtividade (Amarante, 2014).

Os estrongilídeos pertencem à Ordem Strongylida na qual se encontram as Superfamílias Trichostrongyloidea, Strongyloidea e Rhabditoidea. Na Superfamília

Trichostrongyloidea encontram-se os gêneros *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Teladorsagia*, *Haemonchus*, *Cooperia* e *Nematodirus*, na Superfamília Strongyloidea os gêneros *Chabertia* e *Oesophagostomum*, e, na Superfamília Rhabditoidea o gênero *Strongyloides*.

Os gêneros *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Nematodirus* e *Cooperia* são os mais importantes e prevalentes (Zajac, 2006).

A diversidade de espécies de nematodes que ocorrem nos ovinos é maior quando estes compartilham pastagens com bovinos (Giudici *et al.*, 1999). Quando os animais são tratados frequentemente com anti-helmínticos, algumas espécies desses parasitas tendem a desaparecer e apenas aquelas com maior potencial biótico permanecem parasitando o rebanho (Ramos *et al.*, 2004).

A importância das diferentes espécies varia em função da interação entre vários fatores, em especial, a intensidade da infecção, prevalência e patogenicidade do parasita.

A nematodose que afeta os ruminantes é denominada Estrongilidose por albergar a maioria dos nematodes pertencentes à Superfamília Strongyloidea, cujas fêmeas são ovíparas e fazem a postura de ovos blastomerados, genericamente denominados de ovos “tipo estrongilídeo” pois assemelham-se aos ovos da Superfamília Trichostrongyloidea, Estes ovos são pouco distinguíveis por apresentarem tamanhos e formas semelhantes (Christie *et al.*, 1982).

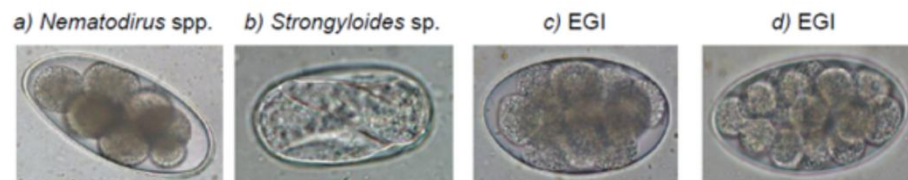


Figura 1: Fotos de ovos de estrongilídeos gastrointestinais (adaptado de Anastácio, 2011):

Estrongiloidose

A espécie *Strongyloides papillosus* é normalmente encontrada na mucosa do intestino delgado de animais muito jovens. Geralmente não apresentam grande importância clínica, sendo as infecções moderadas e assintomáticas, podendo, em circunstâncias raras, dar origem a enterites graves, normalmente em recém-nascidos e lactantes infectados por via transmamária (Bowman *et al.*, 2003). Os sinais clínicos incluem diarreia (frequentemente acompanhada de sangue e muco), desidratação, anorexia, apatia e anemia ligeira a moderada, o que leva a perda de peso e baixos índices de crescimento (Campilho & Rojo Vazquez, 2002).

Nematodirose

A espécie mais comum é *Nematodirus spathiger* que parasita ruminantes. *N. filicollis* parasita pequenos ruminantes e *N. battus* é encontrada principalmente nos ovinos e é

responsável pela estrangilose específica dos ovinos caracterizada por uma incidência sazonal muito restrita e por uma diarreia profusa e debilitante, principalmente em animais jovens. As espécies de *Nematodirus* têm especial importância em ovinos pois representam uma das parasitoses mais graves (Sancho, 2009). A nematodirose é uma doença em que os efeitos patogênicos se devem principalmente aos estados larvares. Em casos mais graves, observa-se lesão extensa e atrofia das microvilosidades com erosão da mucosa, coincidindo o aparecimento destas lesões com o desenvolvimento das L4 em L5. Isto resulta numa redução da capacidade de absorção do intestino, originando diarreia aquosa, desidratação extrema, dor abdominal e perda de peso, podendo a mortalidade de animais jovens infectados atingir os 30% (Bowman *et al.*, 2003).

Ostertagiose

A ostertagiose é causada pelas espécies *Ostertagia circumcincta* e *O. Trifurcata*, sendo estas as mais frequentes nos pequenos ruminantes e a principal causa de gastroenterite parasitária. Os nematodes dos ovinos anteriormente referidos como *Ostertagia* spp foram reclassificados como *Teladorsagia* spp, mas ainda são amplamente conhecidos pelo nome anterior e pela doença que causam, a ostertagiose.

A ostertagiose é caracterizada por anorexia, diarreia, desidratação, perda de peso e morte. Com o consumo reduzido de ração e desidratação, as ovelhas parecem "ocas", com muito pouco preenchimento ruminal. Quando ocorrem menores cargas parasitárias o ganho de peso é insuficiente, não havendo porém, outros sinais clínicos evidentes. Os baixos ganhos de peso são uma consequência da redução do apetite, redução do consumo de ração e perda de proteína plasmática para o trato gastrointestinal. A doença resulta em danos à mucosa do abomaso causada pelas larvas à medida que emergem das glândulas gástricas, onde se desenvolvem, e pela presença de parasitas adultos na superfície da mucosa.

A ostertagiose é tipicamente observada em borregos durante a primeira temporada na pastagem e geralmente ocorre a partir do meio do verão, associada à ingestão de um número relativamente grande de larvas infetantes durante um curto período (ostertagiose tipo I). Em animais de um ano durante os meses de inverno, a ostertagiose tipo II pode ocorrer como resultado da retomada síncrona do desenvolvimento de um grande número de larvas hipobióticas que foram adquiridas durante o pastoreio no outono anterior (Abbott *et al.*, 2012).

Hemoncose

As espécies pertencentes ao género *Haemonchus* são hematófagas e parasitam o abomaso. A hemoncose nos ovinos causada por *H. contortus* caracteriza-se por uma anemia aguda, muito característica, provocada pelos hábitos hematófagos do parasita (Urquhart *et al.*, 1996). O principal sinal clínico desta doença é a palidez da pele e mucosas,

havendo também uma coloração escura das fezes. Normalmente não há perdas de apetite nem perdas de peso, nem a ocorrência de diarreias. No geral, os animais mais jovens são os mais afetados, no entanto, situações de stress em animais adultos podem levar a anemias fatais (Campilho & Rojo Vazquez, 2002).

As infecções por *H. contortus* são caracterizadas por uma anemia regenerativa devido à hematofagia dos parasitas. As formas larvares e adultas alimentam-se de sangue e cada parasita adulto é capaz de ingerir cerca de 0,05 ml de sangue por dia. Um ovino com 5.000 *H. contortus* pode perder cerca de 250 ml de sangue diariamente.

Em infecções agudas, resultantes da ingestão de muitas larvas infetantes durante um curto período de tempo, os animais apresentam-se fracos e podem rapidamente entrar em colapso. A palidez das membranas mucosas pode ser evidente e deve ser avaliada através da inspeção da conjuntiva. A hiperventilação e taquicardia também podem estar presentes. O aparecimento dos sinais clínicos podem ser tão repentinos que os animais afetados podem inicialmente apresentar boas condições corporais, embora a hemoncose aguda possa ser uma causa de morte súbita.

Em infecções subagudas, o edema submandibular pode ser observado e é resultante da hipoproteïnemia. Clinicamente, a condição pode assemelhar-se à fasciolose. Os animais com Infecções crônicas, são caracterizados por uma deficiência no crescimento, com perda de peso, má condição corporal, edema submandibular, letargia e fraqueza. A natureza crónica da perda de sangue leva a um exaustão das reservas de ferro e desenvolvimento de anemia microcítica. A hemoncose pode ocorrer tanto em adultos como em animais jovens. Quando as ovelhas em lactação são afetadas, pode ocorrer uma diminuição acentuada da produção de leite levando à morte ou ao deficiente desenvolvimento dos borregos que dependem do pasto para sobreviver e então se tornam, eles próprios, fortemente parasitados. (Abbott *et al.*, 2012).

Trichostrongilose

Trichostrongylus spp. é um dos parasitas envolvidos na chamada gastroenterite parasitária ovina, encontrando-se no intestino delgado ou no abomaso. Existem duas espécies do género *Trichostrongylus* que parasitam ovinos, a mais importante delas é *Trichostrongylus colubriformis* que tem como microbiótomo o intestino delgado, além de muito comum, também apresenta com frequência resistência aos anti-helmínticos (Amarante *et al.*, 2004; Almeida *et al.*, 2010). A outra espécie, *Trichostrongylus axei*, parasita o abomaso.

A doença causa rápida perda de peso e diarreia em infecções mais graves, e baixos índices de crescimento em infecções mais leves, podendo até ser assintomática (Urquhart *et al.*, 1996).

Coperiose

As espécies pertencentes ao género *Cooperia* parasitam maioritariamente o intestino delgado de ovinos. Estes nematodes são considerados moderadamente patogénicos pois normalmente desempenham um papel secundário nas gastroenterites parasitárias. Causam perda de apetite e baixos ganhos médios diários de peso (Urquhart *et al.*, 1996). Quando ovinos são criados isolados de outras espécies de ruminantes, normalmente apenas a espécie *Cooperia curticei* é detetada (Amarante *et al.*, 2004; 2009). Porém quando estes animais compartilham pastagens com bovinos, outras espécies frequentes em bovinos, tais como *Cooperia punctata*, *Cooperia pectinata* e *Cooperia spatulata*, podem ser encontradas em ovinos (Rocha *et al.*, 2008).

Esofagostomose

Os parasitas *Oesophagostomum* spp. são conhecidos por formarem nódulos no intestino, principalmente no ceco e cólon. Os sinais clínicos em infeções agudas são diarreia aquosa e verde-escura, perda de peso acentuado, anemia e, por vezes, edema submandibular. O quadro clínico está associado às reações nodulares devido à presença de larvas e não à presença de formas adultas no lúmen do cólon e ceco. A doença está mais associada à animais com infeção subclínica e estes não apresentam a excreção de ovos nas fezes. Por este motivo o diagnóstico depende de uma boa interpretação dos sinais clínicos ou de achados patognomónicos à necrópsia (Urquhart *et al.*, 1996; Anderson, 2000).

Chabertiose

Os parasitas *Chabertia* spp., tal como os nematodes dos géneros *Ostertagia*, *Trichostrongylus*, *Cooperia* e *Haemonchus*, estão envolvidos na gastroenterite parasitária ovina. No entanto, a sua presença ocorre em baixas quantidades, sendo raramente por si só a causa de doença, localizando-se as suas formas adultas a nível do cólon. Na chabertiose ocorre diarreia grave e descargas muco-sanguinolentas, que levam a anemia com hipoalbuminémia, podendo causar também perdas de peso graves (Urquhart *et al.*, 1996).

Tricurose

Os nematodes pertencentes ao género *Trichuris* são de muito fácil identificação pois na sua forma adulta possuem um corpo em forma de chicote e encontram-se no ceco e cólon do hospedeiro. Os sinais clínicos da doença incluem dor abdominal, fezes estriadas com sangue, anemia e algumas vezes febre moderada. A tricurose tem pouca relevância uma vez que embora tenham elevada prevalência, as infeções geralmente são leves e assintomáticas e os surtos isolados são raros. (Urquhart *et al.*, 1996; Singh *et al.*, 2011).

2.1.2.1 Ciclo de vida

O ciclo de vida dos nematodes gastrointestinais é muito semelhante entre as várias espécies, existindo sempre dimorfismo sexual. O ciclo de vida pode ser direto ou indireto, consoante o género do parasita em questão, sendo que no caso dos nematodes gastrointestinais dos ovinos, estes normalmente apresentam apenas o ciclo de vida direto, que engloba uma fase endógena, que ocorre no interior do hospedeiro, e uma fase exógena, que acontece no meio ambiente (Sargison, 2009)

A fase exógena tem início quando os ovos, produzidos por fêmeas adultas, são eliminados por animais parasitados através das fezes, contaminando os pastos. Quando chega ao exterior, e as condições edafo-climáticas são adequadas, o ovo liberta uma larva de primeiro estágio (L1), que se alimenta de matéria orgânica constituinte das fezes até atingir o terceiro estágio (L3), que constitui a larva infetante. Esta possui um revestimento de bainha dupla que lhe confere uma grande resistência às condições adversas do meio exterior (Sargison, 2009). A fase endógena começa quando a L3 é ingerida pelo hospedeiro (com exceção de *Nematodirus* spp., em que L3 se desenvolve no interior do ovo). Nesta fase, as larvas perdem a cápsula e penetram a parede do estômago ou intestino, desenvolvendo-se aí para larva de quarto estágio (L4), evoluindo posteriormente para adultos imaturos. A maturação sexual é atingida ao fim de 2 a 4 semanas, e este período compreendido entre o momento da infeção do hospedeiro até à presença de parasitas adultos capazes de produzir ovos é denominado período pré-patente, sendo que este difere entre parasitas. Depois de atingirem a maturação sexual, os adultos copulam e as fêmeas libertam ovos, dando-se, assim, início a um novo ciclo. (Demeler, 2005).

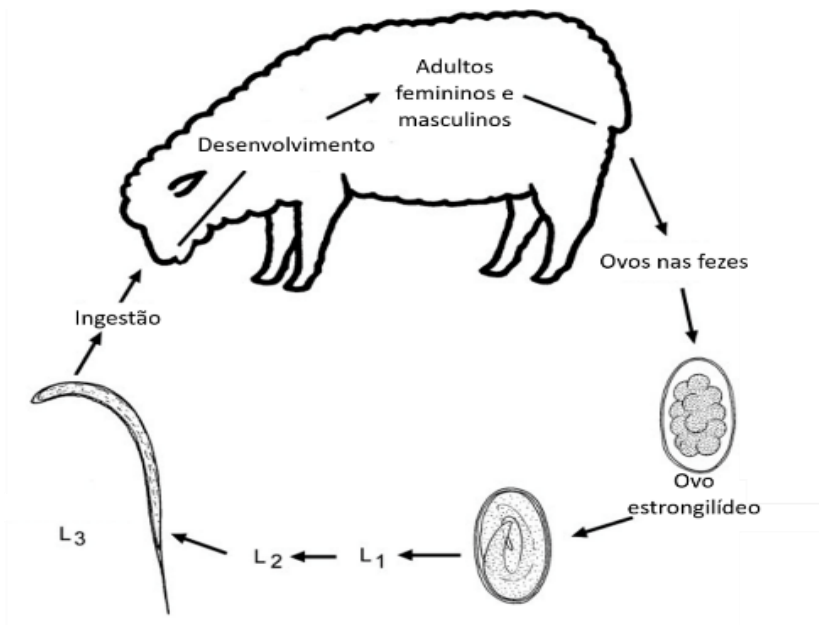


Figura 2: Esquema representativo do ciclo de vida de nematodes intestinais de ovinos, as larvas de primeiro, segundo e terceiro estágio (L1, L2 e L3) são larvas de vida livre no meio ambiente. A larva de quarto estágio (L4) e as fases adultas são parasíticas e encontram-se no interior do trato intestinal do hospedeiro. (Demeler, 2005)

2.1.2.2 Métodos de diagnóstico

O diagnóstico das infecções por helmintes nos ovinos é baseado na detecção ou contabilização de ovos ou larvas nas fezes através de exame microscópico. Nos métodos onde se realiza somente a detecção de ovos – métodos qualitativos, utiliza-se uma solução saturada com alta densidade para que os ovos flutuem, ou métodos de sedimentação simples onde os ovos se depositam no fundo do tubo. Nos métodos quantitativos também se utiliza uma solução saturada que permite que os ovos flutuem e por meio de equipamentos pode-se contabilizar os ovos (por exemplo, câmara McMaster, FLOTAC ou Mini FLOTAC). e / ou cultura de larvas.

Para a diferenciação dos estrongilídeos relativamente às coproculturas, estas permitem a eclosão dos ovos e o desenvolvimento das formas larvares infetantes L3, tornando possível a identificação das espécies de nematodes presentes nas fezes dos animais. Para além destas técnicas, é também de elevada importância haver uma boa interpretação dos sinais clínicos e ter em atenção a história pregressa e a sazonalidade. A realização de exames *pos-mortem* também constituiu uma ferramenta importante para o diagnóstico destas parasitoses no caso de óbito do animal (Urquhart *et al.*, 1996).

2.1.2.3 Epidemiologia

A contaminação das pastagens é determinada pela presença de ovos e larvas e estas se tornem "infetantes" (L3). As condições climáticas são determinantes para que as larvas infetantes se movam para a erva, onde poderão ser ingeridos. Tanto a chuva quanto a temperatura influencia a infetividade das pastagens. A taxa de desenvolvimento até o estágio infetante (L3) depende da temperatura. A chuva tende a aumentar a capacidade de contaminação das pastagens, auxiliando no movimento de L3 para fora das massas fecais e fornecendo a película de umidade necessária para que as L3 migrem para a erva. Os registos de precipitação têm sido usados para prever o pico de disponibilidade de larvas de nematodes na pastagem, e registos de temperatura são usados para prever o risco de nematodirose em borregos (Abbott *et al.*, 2012).

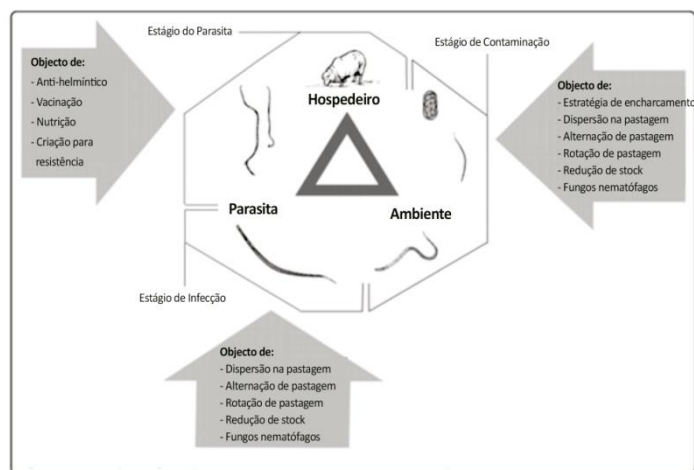


Figura 3: Relação entre o hospedeiro, parasitas e ambiente e os factores que têm efeito no controlo parasitário (adaptado de Roeber, Aaraon & Gasser, 2013)

2.1.2.4 Tratamento e controlo

Desde o desenvolvimento das estratégias de desparasitação a partir das décadas de 1970 e 80, onde se utilizava os benzimidazóis e o levamisol, surgiram as lactonas macrocíclicas (ivermectina, doramectina e abamectina) e as milbemicinas (moxidectina). Este novo grupo foi adicionado à gama de anti-helmínticos disponíveis para criadores de ovinos. O grupo das lactonas macrocíclicas foi o primeiro grupo de produtos de amplo espectro (endo e ectoparasiticidas) com persistência contra algumas das principais espécies de helmintes que ocorrem nos ovinos. Em 2010, foi lançado um primeiro composto da classe de anti-helmínticos denominados derivados do Amino-Acetonitrilo (Monepantel) eficaz contra cepas de nematodes resistentes às lactonas macrocíclicas e aos benzimidazóis. Em 2012 um novo composto, o Derquantel, foi aprovado como um produto anti-helmíntico em combinação com a abamectina (Abbott *et al.*, 2012). Ao adicionar abamectina ao derquantel, o espectro de atividade desta combinação exibiu eficácia $\geq 95\%$ sendo significativamente aumentado. O derquantel demonstrou excelente atividade anti-helmíntica contra os estágios adultos e L4 de *Trichostrongylus* spp e *Nematodirus* spp e o estágio adulto de *Haemonchus* spp, e demonstrou eficácia variável contra *Teladorsagia circumcincta* e estágios L4 de *H. contortus*.

No caso de infeções causadas por *Strongyloides* spp., o tratamento raramente é necessário, pois como referido anteriormente, as infeções são normalmente moderadas e assintomáticas. No entanto, caso seja necessário recorrer a tratamento, os benzimidazóis, as avermectinas ou moxidectina (milbemicinas) são altamente eficazes na sua eliminação (Urquhart *et al.*, 1996).

O tratamento de ostertagiose, hemoncose, tricostrongilose, cooperiose e cabertiose, normalmente recorre-se a benzimidazóis ou probenzimidazóis, compostos imidazólicos e tetrahidopirimidinas e ainda avermectinas ou milbemicinas. A rotatividade anual das

pastagens entre ovinos e bovinos também é indicada, permitindo a morte das L3 específicas para cada espécie.

No caso de parasitoses por *Trichuris* spp., os pró-benzimidazóis, benzimidazóis e avermectinas ou milbemicinas são altamente eficazes contra as formas adultas, mas não tão eficazes contra as formas larvares (Urquhart *et al.*, 1996).

De forma a controlar a ocorrência de nematodiroses, é necessário evitar o pastoreio de sucessivas gerações de animais na mesma pastagem. O tratamento anti-helmíntico profilático deve ser efetuado na altura de maior quantidade de L3 nas pastagens (entre maio e junho), utilizando benzimidazóis ou pró-probenzimidazóis, com avermectinas ou milbemicinas.

2.1.3 Cestodoses

Cestoda é uma classe de helmintes pertencente ao filo Platyhelminthes. Todos os organismos desta classe são considerados parasitas e caracterizam-se por terem um corpo longo, achatado dorso-ventralmente e sem pigmentos. O seu tamanho varia consideravelmente, podendo ir de poucos milímetros até vários metros de comprimento (Urquhart *et al.*)

O corpo destes parasitas é constituído por um escólex, que possui órgãos de fixação como ganchos ou ventosas, de forma a afixar no intestino delgado do hospedeiro, um pescoço, que corresponde à zona de crescimento, e um estróbilo. Este último é composto por segmentos que se designam proglótides, que se formam a partir do pescoço e maturam à medida que se afastam do escólex. Cada proglótide contém órgãos reprodutores que podem ser de três tipos: imaturos (sem órgãos sexuais desenvolvidos), maduros (com órgãos sexuais diferenciados, masculinos ou femininos) ou grávidos (útero com ovos) (Urquhart *et al.*, 1996; Sancho, 2009).

O ciclo de vida dos cestodes é indireto, ou seja, têm mais do que um hospedeiro. Assim, as formas imaturas do parasita – metacéstodes – encontram-se num ou mais hospedeiros intermediários, enquanto que a forma adulta ou sexualmente ativa se encontra no hospedeiro definitivo (Mehlhorn, 2008). No caso dos ruminantes, estes tanto podem funcionar como hospedeiro intermediário ou definitivo, sendo que neste último caso os cestodes podem alojar-se no trato gastrointestinal ou no fígado.

As cestodoses apresentam uma prevalência elevada na Península Ibérica, ocorrendo predominantemente parasitoses causadas pelo género *Moniezia*. (Campilho & Rojo Vazquez, 2002).

Moniezia spp.

A espécie da classe Cestoda que mais afeta o intestino delgado de pequenos ruminantes como caprinos e ovinos é *M. expansa*, e embora *M. benedeni* seja mais comum em bovinos, também pode ocorrer em ovinos. Ambas as espécies pertencem à família

Anoplocephalidae e podem atingir mais de 2 metros de comprimento. Semelhantemente aos outros parasitas que fazem parte da classe Cestoda, as formas adultas são constituídas pelo estróbilo, pescoço e escólex (Urquhart *et al.*, 1996; Denegri *et al.*, 1998).

A diferenciação destas duas espécies pode ser feita recorrendo a um microscópio, de forma a observar o bordo posterior de cada proglótide, onde se localizam as glândulas interproglotídeas dispostas em fila contínua. Em *M. expansa*, os proglótides têm uma largura que pode atingir os 1.5 cm, e estas glândulas encontram-se presentes ao longo de toda a margem do segmento, enquanto que em *M. benedeni* podem chegar aos 2.5 cm e apresentam glândulas interproglotídeas apenas na zona central (Urquhart *et al.*, 1996).

Os ovos de *M. expansa* possuem uma forma triangular e um diâmetro entre 50 a 60 μm . Por sua vez, os ovos de *M. benedeni* têm uma forma quadrangular e são ligeiramente maiores (80 a 90 μm). Ambos apresentam uma cápsula espessa e um embrião no seu interior (embrião hexacanto) rodeado por um aparelho piriforme (Sancho, 2009).

2.1.3.1 Ciclo de vida

O ciclo de vida de *Moniezia* spp. divide-se em duas fases, uma fase endógena e outra exógena, conforme se pode ver na Figura 4. O ciclo começa na fase endógena quando os ovinos ingerem ácaros oribatídeos (hospedeiros intermediários) durante o pastoreio, infetados com uma larva cisticercoide (larva de segunda geração). A larva cisticercoide liberta-se quando o ácaro é digerido, o que pode demorar um a dois meses. A larva fixa-se à parede intestinal através do protoescoléx, começando assim a sua transformação para a forma adulta. A forma adulta, depois de totalmente desenvolvida, produz ovos por autofecundação, que, como anteriormente referido, se desenvolvem no interior da proglótide. As proglótides localizadas na extremidade do parasita possuem ovos maduros e são libertadas e excretadas nas fezes do hospedeiro (Sancho, 2009; Sargison, 2009).

Já no exterior, as proglótides desintegram-se, libertando os ovos, que no seu interior possuem uma oncosfera (larva de primeira geração). O ciclo entra, então, na fase exógena, com a ingestão dos ovos pelo hospedeiro intermediário. Depois de serem ingeridos, os ovos eclodem e libertam a oncosfera, que por sua vez migra para a cavidade abdominal do ácaro. A partir deste momento, durante um período de 2 a 6 meses, a oncosfera vai desenvolver-se até dar origem à larva cisticercoide (larva de segunda geração) (Sancho, 2009; Sargison, 2009).

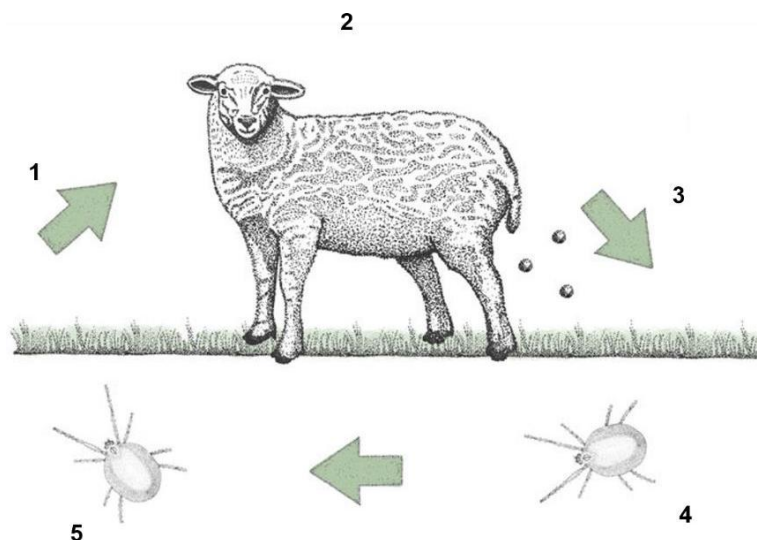


Figura 4: Esquema representativo do ciclo de vida de *Moniezia* spp. em ovinos, ingestão de ácaro oribatídeo infectado (1); larva desenvolve-se para adulto no trato intestinal do ovino (2); excreção de ovos nas fezes (3); ácaros oribatídeos ingerem ovos (4); ácaro oribatídeo infectado com larva cisticercoide (5). (Farm Health First, 2020)

Diversos autores referem que as infecções causadas por *Moniezia* spp. não apresentam elevada patogenicidade e não apresentam sintomas, uma vez que os adultos deste parasita se alimentam do conteúdo intestinal do hospedeiro. Embora animais com infecções extensas possam apresentar redução de ganhos médios diários, diarreia, obstrução intestinal e até depressão, não foi possível demonstrar experimentalmente efeitos clínicos substanciais em animais com cargas parasitárias elevadas (Suarez & Buseti, 1995; Urquhart *et al.*, 1996; Tsoetsi & Mbat, 2003). De uma forma geral, a ocorrência deste tipo de parasitoses é mais frequente em ovinos jovens, durante o seu primeiro ano de vida. Para além disso, é importante também considerar que a sua ocorrência está relacionada com os períodos de maior atividade dos ácaros, que correspondem aos meses de verão em regiões temperadas (Urquhart *et al.*, 1996).

2.1.3.2 Métodos de diagnóstico

O diagnóstico de infecções causadas por *Moniezia* spp. é geralmente simples, uma vez que é fácil detetar proglótides nas fezes (Rinaldi *et al.*, 2011). Adicionalmente, pode-se também recorrer às técnicas coprológicas como a técnica de contagem de ovos - técnica McMaster, para determinação do número de ovos presentes num grama de fezes, ou a técnica de flutuação, para identificação dos ovos do parasita (Hansen & Perry, 1994).

2.1.3.3 Tratamento e Controlo

Considerando que as parasitoses causadas pelas espécies de *Moniezia* são pouco patogénicas, o tratamento específico contra estes parasitas não é normalmente realizado. Adicionalmente, animais jovens que não recebem qualquer tipo de tratamento acabam por

desenvolver imunidade, tornando-os resistentes a uma futura reinfeção. Por sua vez, a utilização de tratamentos regulares põe em causa o desenvolvimento desta imunidade, podendo resultar em reinfeções (Amarante *et al.*, 2014).

De facto, o controlo deste tipo de parasitoses foca-se principalmente na eliminação dos hospedeiros intermediários de *Moniezia* spp, os ácaros oribatídeos. Estudos indicam que a mobilização de solos nas pastagens é um processo de extrema importância pois destrói as camadas de húmus, que correspondem ao habitat deste tipo de ácaros. Desta forma, é possível eliminar os hospedeiros intermediários dos pastos, ficando livres de cestodes por vários anos (Bowman *et al.*, 2003).

No entanto, em casos de infeções severas é necessário recorrer a diferentes estratégias de controlo e tratamento. Normalmente recorre-se a fármacos do grupo dos benzimidazóis, sendo que em Portugal se encontram disponíveis o albendazol, o febendazol e o oxfendazol (Apifarma, 2016). Também se podem utilizar derivados das quinolonas, como a niclosamida e praziquantel (Bauer, 1990; Gill *et al.*, 1990).

2.1.4 Coccidioses

A coccidiose nos ovinos é uma infeção causada por protozoários do género *Eimeria*. A importância económica da coccidiose nos rebanhos ovinos é devida principalmente à diminuição do ganho de peso, que normalmente está relacionado à doença clínica e às infeções subclínicas, especialmente em criações intensivas e com alta densidade animal.

Estes protozoários causam a doença chamada coccidiose, que é caracterizada por diarreia, frequentemente aquosa, perda de peso, fraqueza, depressão, redução da absorção e pela excreção de uma quantidade elevada de oocistos nas fezes (Chartier & Paraud, 2012).

Eimeria spp.

O género *Eimeria* é o mais importante agente etiológico das coccidioses gastrointestinais, sendo responsável por infetar várias espécies de animais, incluindo ovinos e caprinos. Existem onze espécies de *Eimeria* que podem infetar simultaneamente os ovinos

– *E. pallida*, *E. parva*, *E. marsica*, *E. ovinoidalis*, *E. weybridgensis*, *E. crandallis*, *E. faurei*, *E. granulosa*, *E. bakuensis*, *E. ahsata*, *E. intricata* (Figura 5) – no entanto, apenas duas são consideradas altamente patogénicas – *E. crandallis* e *E. ovinodalis* (Braun *et al.*, 1995, Sancho, 2009).

Os oocistos das diferentes espécies de *Eimeria* distinguem-se avaliando o seu tamanho (de 10 a 56 por 8 a 41 μm), forma (esférica, sub-esférica, ovoide, elipsoide), presença ou não de micrópilo (poro numa das extremidades), presença ou ausência de cápsula polar (cápsula que cobre o micrópilo) e de corpos residuais. A sua identificação é ainda auxiliada pelo tempo de esporulação (Wang *et al.*, 2010).

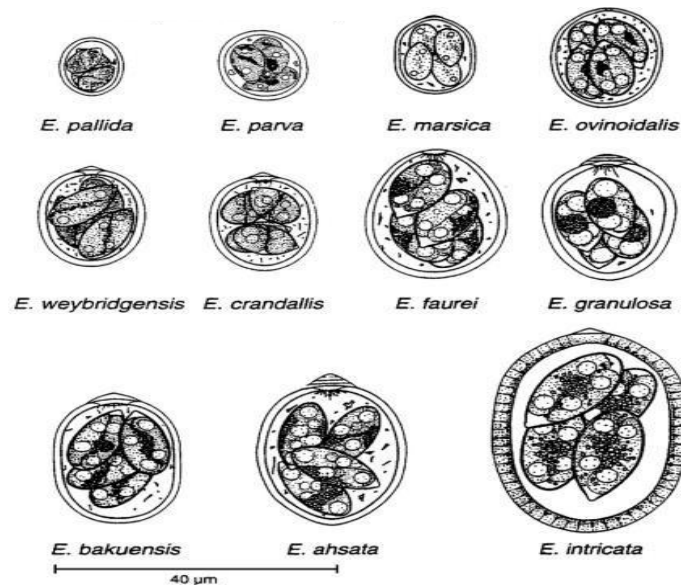


Figura 5: Oocistos esporulados das principais espécies de *Eimeria* que parasitam ovinos. (Braun *et al.*, 1995)

A doença causada pelo protozoário do género *Eimeria* pode ser denominada a coccidiose ou eimeriose. A doença ocorre através da ingestão de uma grande quantidade de oocistos esporulados, que normalmente se desenvolvem e reproduzem no epitélio do intestino delgado, causando danos nos tecidos e desencadeando alterações clínicas. A presença de oocistos pode ser observada em ovinos de todas as idades, mas é mais prevalente em borregos, sendo que os sinais clínicos da doença são verificados mais frequentemente nesta faixa etária. Por sua vez, é muito comum os adultos não manifestarem sintomas mesmo apresentando oocistos nas fezes (Chartier & Paraud, 2012).

Os sinais clínicos da coccidiose são diarreia crónica, normalmente aquosa e às vezes sanguinolenta, acompanhada de tenesmo. É importante notar que as fezes sanguinolentas e o tenesmo não se observam em adultos doentes. Esta doença também pode levar ao aparecimento de anemia, a absorção comprometida, desidratação e anorexia (Wang *et al.*, 2010). Existe uma relação estreita entre a gravidade das lesões com a densidade de parasitas e a sua localização na mucosa. Após a rutura dos esquizontes ou

gamontes, o tecido epitelial do intestino recupera a sua morfologia, no entanto, no caso de uma infeção grave em que os esquizontes se localizam num local profundo da mucosa ou sub-mucosa, as lesões são extensas ao ponto de ocorrer hemorragia, o que leva a diarreia hemorrágica. Em infeções mais leves, as vilosidades do tecido tornam-se

atrofiadas e observa-se tipicamente edema localizado, sendo que estas alterações levam a uma má absorção intestinal e quebras na produção, resultando em perdas económicas elevadas (Urquhart *et al.*, 1996; Chartier & Paraud, 2012).

A ocorrência de coccidiose está muito associada a situações de stress como a época de transição entre o inverno e a primavera, épocas de chuva, em explorações com más condições de higiene, em situações de alteração de dieta, em sistemas intensivos e quando os animais se encontram imunodeprimidos por doença concomitante (Bowman *et al.*, 2003). É importante notar também que os oocistos têm uma longevidade e resistência bastante considerável, podendo persistir durante vários anos em locais onde tenha ocorrido contaminação, como por exemplo, pastagens contaminadas, pastos muito irrigados ou em *feedlots* (Urquhart *et al.*, 1996).

2.1.4.1 Ciclo de Vida

O ciclo de vida das espécies pertencentes ao género *Eimeria* é monoxeno, isto é, estes parasitas necessitam apenas de um hospedeiro. É um ciclo constituído por três fases – a esporulação, infecção e esquizogonia e, finalmente, gametogonia e formação de oocistos, (Figura 6), (Jones *et al.*, 1996)

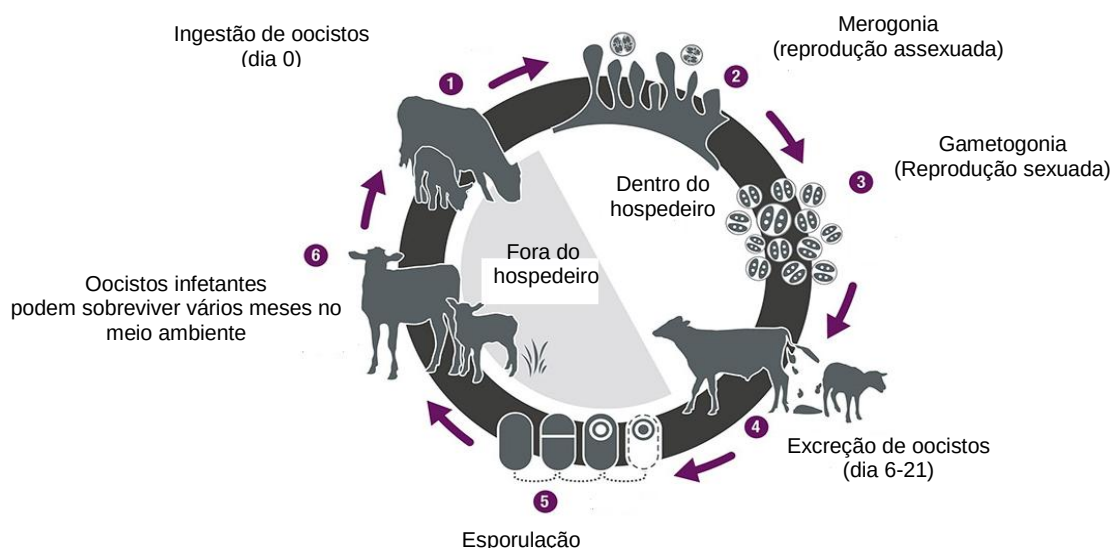


Figura 6: Esquema representativo do ciclo de vida de *Eimeria* spp. em ovinos. (adaptado de Elanco Animal Health "What is coccidiosis")

Os oocistos não esporulados são constituídos por uma massa protoplasmática nucleada, envolta por uma parede resistente. A esporulação ocorre quando estes são eliminados nas fezes, em condições ideais de temperatura (27°C) e humidade (75%). Em cada oocisto ocorre a formação de 4 esporocistos, cada um com 2 esporozoítos, passando a designar-se de oocisto esporulado, que constitui a forma infetante. Estes têm uma forma ovoide e medem entre 15 e 50 µm de diâmetro (Urquhart *et al.*, 1996; Bowman *et al.*, 2003).

Após ingestão do oocisto esporulado, o hospedeiro torna-se infetado. Os oocistos esporulados libertam do seu interior os esporocistos que, por sua vez, libertam os

esporozoítos. Estes normalmente penetram as células do epitélio intestinal, passando à fase de trofozoíto, que mais tarde dão origem a merozoítos no seu interior. Depois de completar essa divisão, ocorre a rotura da célula parasitada e os merozoítos são libertados e invadem as células adjacentes (Urquhart *et al.*, 1996; Bowman *et al.*, 2003).

Dentro das novas células, os merozoítos desenvolvem-se originando gametócitos femininos e masculinos. O gametócito feminino cresce e induz a hipertrofia do núcleo e citoplasma da célula em que se encontra, que quando atingir a maturação toma o nome de macrogametócito. Por sua vez, o gametócito masculino sofre múltiplas divisões nucleares, tornando-se multinucleado, chamando-se então microgametócito. Cada um dos núcleos formados vai dar origem aos microgâmetas, que são organismos uninucleados flagelados, e alguns destes vão encontrar e fecundar os macrogametócitos, dando origem ao zigoto. Após a fertilização forma-se uma parede em redor do zigoto, passando a designar-se oocisto, e este é libertado pela rutura da célula hospedeira. Assim, o oocisto é excretado nas fezes do hospedeiro, ocorrendo de seguida a esporulação, quando as condições se encontram apropriadas, e completando-se o ciclo (Urquhart *et al.*, 1996; Bowman *et al.*, 2003).

2.1.4.2 Métodos de Diagnóstico

Para o diagnóstico de coccidiose é necessária a observação microscópica de oocistos do género *Eimeria* nas fezes do animal, recorrendo à técnica de flutuação e também à técnica de McMaster para a quantificação dos mesmos, o que muitas vezes é difícil devido ao número extremamente elevado de oocistos. É também necessário prestar atenção aos sinais clínicos que os animais apresentam, assim como às condições de higiene em que são mantidos e ao historial clínico da exploração. No caso de óbito do animal, é importante efetuar um exame detalhado dos tecidos gastrointestinais durante a necrópsia, de forma a identificar lesões causadas pela coccidiose (Urquhart *et al.*, 1996; Bowman *et al.*, 2003; Chartier & Paraud, 2012).

2.1.4.3 Tratamento e Controlo

Relativamente ao controlo da coccidiose, uma vez que esta doença tem uma prevalência muito ampla e o parasita possui uma grande capacidade reprodutiva e resistência dos oocistos no meio ambiente, a melhor estratégia passa pela implementação de um bom manejo sanitário e pelo uso profilático de fármacos anticoccidianos ou coccidiostáticos, antes da ocorrência de um surto. De facto, os principais fatores que levam ao aparecimento de coccidiose são a contaminação do solo, a presença de águas estagnadas e a sobrelotação das explorações. Assim, é extremamente importante manter uma boa higienização dos comedouros e bebedouros, bem como das camas, que devem ser mantidas limpas e secas (Wescott & Foreyt, 1986). É também imprescindível armazenar os alimentos em boas condições higiénicas e reduzir a exposição dos animais ao stress. Outra medida que deve ser implementada é o isolamento dos animais doentes, prevenindo

desta forma a propagação através das fezes, água e alimentos (Urquhart *et al.*, 1996).

Para além destas medidas relacionadas com o manejo sanitário, a administração de coccidiostáticos antes do aparecimento de surtos é também de elevada importância, pois pode reduzir drasticamente ou mesmo erradicar a coccidiose clínica (Wescott & Foreyt, 1986).

No caso da ocorrência de coccidiose, é recomendada a administração de um tratamento sintomático que suprima os sinais clínicos, como a diarreia, juntamente com um tratamento específico contra o parasita, geralmente designado por coccidicida ou anti-coccidia. Por sua vez, estes fármacos atacam e eliminam coccídias em qualquer fase evolutiva. Os mais utilizados são a monensina, a aureomicina, a associação de monensina com aureomicina, lasalocida, decoquinato e, mais recentemente, os derivados tiazídicos (diclazuril e toltrazuril) (Afonso *et al.*, 2000; Chartier & Paraud, 2012).

2.2 Objetivos

O presente estudo sobre parasitoses gastrointestinais foi realizado entre janeiro e março de 2019 numa exploração de concentração/engorda de borregos destinados a exportação para Israel, e teve como principais objetivos:

- 1) Determinar a ocorrência das principais parasitoses gastrointestinais presentes na exploração, através de técnicas coprológicas;
- 2) Sugerir medidas preventivas e tratamentos direcionados para as parasitoses identificadas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Situação geográfica e climática

A exploração em estudo situa-se em Várzea Fresca, um pequeno lugar rústico da freguesia de Foros de Salvaterra, concelho de Salvaterra de Magos e distrito de Santarém.

O concelho de Salvaterra de Magos, situado na margem esquerda do rio Tejo, pertence à zona denominada “Lezíria do Tejo”, é limitado a norte pelo concelho de Almeirim, a leste e sul, pelo de Coruche; a sudoeste, pelo de Benavente; e a noroeste, pelos da Azambuja e Cartaxo. Tem uma área total de 243,93 Km², composta de quatro freguesias (Salvaterra de Magos e Foros de Salvaterra; Muge; Glória do Ribatejo; e Marinhais) e contava, de acordo com os Censos de 2011 (Instituto Nacional de Estatística, INE, 2014) com 22.159 habitantes (90,8 hab/Km²), sendo que a classe etária acima dos 25 anos representa, sensivelmente, 50% da população total.

Já a freguesia de Foros de Salvaterra, tem cerca de cinco mil habitantes, dos quais, cerca de oitenta por cento têm como principal, ou único, meio de subsistência económica a actividade agropecuária, em regime de mini-exploração.

Deve referir-se que o concelho conta com 720 empresas, nas mais diversas áreas, (Portal Nacional, 2020) das quais:

- 118 dedicam-se ao setor da agropecuária, o que equivale a 16,6% da atividade económica do concelho. Destas empresas, 7, dedicam-se exclusivamente à exportação pecuária (aves, bovinos, suínos e ovinos) e 18, à agricultura e exploração animal combinadas.
- 63 dedicam-se à exploração agrícola, especificamente à horticultura.

No que concerne ao clima, é característico das zonas da Lezíria do Tejo e Médio Tejo, com verões quentes e secos e céu geralmente limpo. Os invernos são frescos, céu geralmente encoberto e com precipitação. Ao longo do ano, a temperatura varia entre os 6 e os 33 graus Celcius, raramente inferior a 1 grau Celciu e superior a 40 graus Celcius. A pluviosidade anual varia entre os 500 e os 800 mm, sendo o pico, no mês de Janeiro, em que varia entre os 60 e os 250 mm. (Fino, 2018)

3.2 Descrição da Exploração

A exploração tem como principal atividade a concentração/engorda de borregos, destinados a exportação para Israel. Principais características:

- Tem capacidade para 8.000 (oito mil) borregos durante o inverno e para 12.000 (doze mil) durante as estações quentes, devido ao facto de, em regime de feedlot, poderem estar a céu aberto;
- Encontra-se dividida por parques, cada um deles concentrando um determinado contingente de animais; um destes parques funciona como um hospital, para onde

são encaminhados os animais que necessitam de tratamento ou acompanhamento médico-veterinário;

- Equipado com mangas automáticas, onde se faz a separação por peso, sexo e raça, e respetivo manejo sanitário;
- Encontra-se equipada com comedouros e bebedouros automáticos, sistemas de ventilação, proteções laterais para chuva ou vento e também equipada com sistema de vigilância por câmara durante 24 horas.

Esta empresa conta com uma equipa médicosanitária, constituída por médicos veterinários, auxiliares e tratadores, que estão disponíveis para qualquer eventualidade, o que significa um alerta permanente de 24 horas.

Diariamente faz-se a limpeza de bebedouros e comedouros, bem como as camas dos animais, tarefas que podem ocorrer mais que uma vez por dia. Observa-se constantemente o efetivo, não só para verificar o estado sanitário dos animais, como também para detetar se ocorreu algum óbito, para ser retirado e “dar baixa” do mesmo, ou seja, providenciar o seu abate administrativo ao efetivo.

Para além dos trabalhos diários de rotina, existem outros mais específicos, por exemplo, o saneamento, pelos médicos veterinários da exploração, ou as tosquiadas, que são feitas por profissionais contratados para tal propósito.

3.3 Animais do estudo

Os animais que foram objeto do presente estudo eram maioritariamente da raça Merino e em menor número das raças Lacone e Assaf. Estes animais encontravam-se na fase de desmame, com uma média de idade de 2 meses e com alimentação à base de pastagem e com suplemento de concentrado na ração.

3.3.1 Diretrizes da origem

Os animais eram provenientes de explorações em regime extensivo, que cumpriam as condições exigidas pelas diretivas estabelecidas pela Direção Geral de Alimentação e Veterinária, (DGAV, 2018) tais como:

- Submetidas a avaliações sanitárias regulares por um médico veterinário licenciado do Estado pelo menos nos últimos 5 anos;
- Não sujeitas a quaisquer restrições veterinárias nos últimos 6 meses;
- Nenhum caso de agalaxia contagiosa, adenomatose pulmonar, tuberculose nem adenocarcinoma nasal sido reportado durante os últimos 10 anos, nem de tremor epizootico nos últimos 5 anos;
- Tanto quanto foi possível verificar e após devido inquérito junto do proprietário e do veterinário da exploração, nenhuma evidência clínica ou outra da doença de Aujeszky (pseudorraiva), língua azul, artrite/encefalite caprina, Maedi-Visna, aborto

enzoótico, febre Q, micoplasmose, paratuberculose, raiva, salmonelose, doença da fronteira e também linfadenite caseosa não foram detetadas durante os últimos 3 anos;

- Oficialmente indemnes de brucelose (*B. abortus*, *B. melitensis*, *B. ovis*) durante os últimos 3 anos.

3.3.2 Condições na exploração

Na exploração, a ração fornecida apresentava um elevado teor de fibra e estava disponível 24 horas por dia, em linha de alimentação automática.

Para além das condições de manejo já referidas em 3.2, também era feita a renovação da palha das camas diariamente, recorrendo a maquinaria. Antes de serem exportados para Israel, os borregos eram tosquiados e após cada saída, os parques eram totalmente limpos.

Quanto ao plano profilático estabelecido, foi o seguinte:

- 1) À chegada da exploração, os borregos eram separados e registados por peso, raça e sexo. Eram também vacinados com BTV14 (língua azul 1 e 4) e é aplicado um brinco eletrónico, caso ainda não o possuíssem. O registo desta vacinação era oficial e comunicado ao OPP.
- 2) Os borregos recebiam duas injeções de Heptavac® com 3 semanas de intervalo, com o objetivo de controlar clostridioses e pneumonias por *Pasteurella* e *Mannheimia* com o objetivo de reduzir a taxa de mortalidade.
- 3) No que diz respeito ao plano de tratamento antiparasitário adotado na exploração, era utilizada a ivermectina, (Ivomec®) cujo protocolo para a exportação exigia duas administrações com um intervalo de tempo entre si. Este foi substituído pela eprinomectina, (Eprecis®), que apresentava a vantagem de poder ser administrada numa única dose.
- 4) Duas vezes por dia era feita uma ronda por todos os parques para observação do estado dos borregos. Em caso de se manifestarem sinais clínicos leves eram tratados e marcados, para que fosse possível fazer um acompanhamento diário mais cuidado. Caso fossem observados sinais:
 - de diarreia, eram tratados com Baycox;
 - de doença respiratória, era administrado antibiótico de largo espectro;
 - de claudicação com sinais de inflamação, era-lhes administrado AINE`s. (somente em casos justificados, eram apenas aparados os cascos);
 - de algum animal mais fraco ou prostrado, poderia haver necessidade de ser separado do restante grupo e eventualmente ser-lhe administrado AINE`s;
 - na presença de doença severa, os animais eram levados para o hospital para exame clínico mais aprofundado e posteriormente tratados de acordo com diagnóstico definitivo.

3.3.3 Protocolo de Exportação

O protocolo para exportação de borregos estava de acordo com as diretivas estabelecidas pela entidade competente (DGAV, 2018). Assim, quanto aos animais para exportação:

- 1) Eram nascidos e criados em Portugal;
- 2) Era possível fazer o seu rastreio até à exploração de origem e/ou qualquer exploração onde o animal possa ter estado;
- 3) Não eram identificados como descendentes de pai ou mãe com diagnóstico de tremor epizoótico;
- 4) Nos últimos 30 dias antes da expedição eram testados com resultados negativos para as seguintes doenças:
 - Brucelose (*B. melitensis*, *B. ovis*);
 - Maedi-Visna utilizando-se um teste serológico;
 - Salmonelose devido a *S. abortus ovis* utilizando-se um teste serológico;
 - Aborto enzoótico, utilizando-se o teste ELISA (específico para *Chlamydia abortus*) ou o teste de fixação do complemento;
 - Febre Q, utilizando-se um teste serológico;
- 5) Estavam em conformidade com o Manual Terrestre da Organização Mundial da Saúde Animal, eram vacinados há pelo menos 60 dias antes da expedição (OIE, 2019);
- 6) Estavam há pelo menos 8 dias anteriores à exportação, isolados em instalações aprovadas;
- 7) Nos 14 dias antes da exportação eram tratados contra ecto e endoparasitas com um produto de amplo espectro, aprovado para o efeito;
- 8) Durante as 48 horas antes do embarque eram examinados e não apresentaram qualquer sinal clínico de doença contagiosa;
- 9) Não estiveram em contacto nem foram transportados com outros animais de estatuto sanitário inferior, e eram expedidos utilizando-se meios de transporte que foram cuidadosamente limpos e desinfetados antes do carregamento, em total conformidade com as normas internacionais em matéria de transporte de animais.

3.3.4 Amostra

Foram recolhidas amostras fecais aleatórias em quatro grupos de animais provenientes de Castelo Branco (Grupo 1 e Grupo 3) e Évora (Grupo 2 e Grupo 4) que totalizava 883 animais, predominantemente da raça Merino e em menor número das raças Lacone e Assaf. O G1 e G2 chegaram à exploração durante o Inverno (Janeiro e Fevereiro respetivamente) e o G3 e o G4 chegaram durante a Primavera (Março).

Em cada grupo recolheu-se o correspondente a 10% do número de animais e estas amostras foram reunidas em *pool* formando 3-4 amostras por grupo de animais (Tabela 1).

As amostras foram recolhidas diretamente da ampola retal para sacos de plástico, identificadas e acondicionadas em caixas isotérmicas e mantidas sob refrigeração até o momento da análise no Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona.

Tabela 1: Divisão dos grupos de borregos que fizeram parte do mesmo estudo

Borregos	Proveniência	Animais	Peso médio (kg)	Nº de amostras por Pool	Nº de amostras
Grupo 1	Castelo Branco	243	19.0	6	4
Grupo 2	Évora	220	17.6	3X6/1x4	4
Grupo 3	Castelo Branco	360	17.0	9	4
Grupo 4	Évora	60	18.0	2	3

Cada amostra fecal continha cerca de 5 g de fezes, tendo sido devidamente identificadas e mantidas sob refrigeração a uma temperatura de 4°C até ao momento da análise laboratorial.

3.3.5 Técnicas coprológicas

As amostras foram submetidas a análises coprológicas qualitativas e quantitativas. Foram realizadas as técnicas de Willis, McMaster e sedimentação, segundo a forma “três em um”, o que quer dizer que desta forma a subamostra é a mesma, realizando-se as três técnicas numa execução única e contínua, havendo uma redução da quantidade de amostra necessária e do período de análise (Ramos, 2013).

Os métodos de flutuação de Willis e sedimentação natural permitiam a pesquisa de ovos de nematodes, trematodes e cestodes e oocistos de coccídeas, somente para a sua identificação. O método de McMaster foi utilizado para cálculo de OPG e OOPG.

3.3.5.1 Técnica de McMaster

A técnica de McMaster tem como objetivo quantificar os ovos de helmintes ou oocistos de coccidia presentes em 1 grama de fezes, permitindo a classificação da infeção. Este método utiliza uma câmara de contagem (câmara de McMaster) que permite observar microscopicamente um volume conhecido (2 x 0,15 ml) de suspensão fecal, permitindo calcular o OPG (Hansen & Perry, 1994).

O procedimento foi realizado da seguinte forma:

- 1) Homogeneizou-se cada amostra;
- 2) Retirou-se uma alíquota e pesou-se 2 g de fezes;
- 3) Diluíram-se as 2 g de fezes com 28 ml de solução saturada de sacarose;
- 4) Homogeneizou-se um bastão de vidro;

- 5) Filtrou-se a solução, utilizando-se um coador de malha fina;
- 6) Preencheu-se cuidadosamente os dois compartimentos da câmara de McMaster com o auxílio de uma pipeta de Pasteur;
- 7) Deixou-se a repousar cerca de 10 minutos;
- 8) Observou-se a câmara ao microscópio ótico e efetuou-se a contagem de ovos e oocistos;
- 9) Calculou-se o OPG, multiplicando a soma dos ovos ou oocistos encontrados nos dois compartimentos por 50.

3.3.5.2 Técnica de flutuação de Willis

A técnica de flutuação de Willis permite evidenciar a presença de ovos de nematodes, cestodes e oocistos de protozoários presentes nas fezes dos ovinos. Este método baseia-se na densidade dos ovos, que, sendo estes de menor densidade que a solução de açúcar utilizada, tendem a flutuar no tubo de ensaio e a ficar colados na lamela colocada no topo, podendo posteriormente ser observados ao microscópio ótico (Hansen & Perry, 1994).

Esta técnica foi realizada da seguinte forma:

- 1) Tubo de ensaio preenchido com solução de fezes diluídas e filtradas até formar um menisco convexo;
- 2) Na superfície do menisco convexo, foi colocada uma lamela, aguardando-se 15 minutos;
- 3) Retirada a lamela, colocou-se sobre uma lâmina para observação ao microscópio ótico.

3.3.5.3 Técnica de Sedimentação Simples

Também foi utilizada a técnica de sedimentação simples para a detecção de ovos de cestodes e/ou trematodes, pois estes ovos são maiores e mais pesados, podendo ser observados no sedimento (Hansen & Perry, 1994).

Esta técnica foi realizada da seguinte forma:

- 1) Em cada tubo de ensaio que foi preenchido com uma solução de fezes diluídas, rejeitou-se o sobrenadante, deixando apenas o sedimento;
- 2) Adicionou-se uma gota de azul de metileno ao sedimento;
- 3) Retirou-se duas alíquotas, utilizando-se uma pipeta de Pasteur, pondo-se duas gotas sobre uma lâmina;
- 4) Cobriu-se com uma lamela e observou-se ao microscópio ótico.

3.4 Estudo estatístico utilizado

Atenta a teoria respeitante à matéria estatística interessante para o estudo em presença (Salvatore, 1982), a análise e tratamento estatístico dos resultados obtidos foram realizados recorrendo ao software Graph Pad Prism 6.01 (GraphPad® software). Foi utilizado um intervalo de confiança de 95% e $p < 0.05$ foi definido como diferença estatisticamente significativa em todos os grupos. Recorreu-se ao teste estatístico one-way ANOVA seguido de Tukey's multiple comparisons test de forma a avaliar diferenças entre os diversos grupos.

4. RESULTADOS

Análise coprológica qualitativa – Técnica de flutuação ou técnica de Willis

A primeira técnica que foi utilizada teve a finalidade de analisar a presença de ovos e/ou oocistos de parasitas gastrointestinais frequentemente encontrados em ovinos – ovos de nematodes estrongilídeos, oocistos de *Eimeria* spp. e ovos de *Moniezia* spp.

Os resultados obtidos encontram-se descritos na Tabela 2 onde é possível observar que a prevalência de ovos de nematodes estrongilídeos e oocistos de *Eimeria* spp. é transversal a todas as amostras dos 4 grupos de animais. No entanto, observou-se a ocorrência de ovos de *Moniezia* spp. nos 4 grupos, porém não tendo sido detetada na totalidade das amostras, como é o caso das amostras 1 e 4 do G1, amostra 1 do G2, amostras 1 e 2 do G3 e 1 e 2 do G4 da tabela referida.

Tabela 2: Resultados qualitativos da presença de ovos nas fezes, observados através da técnica de flutuação de Willis

	G1				G2				G3				G4		
Amostra	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3
EGI	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
EIM	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
MON		•	•			•	•	•			•	•			•

O seguinte passo foi a utilização da técnica de sedimentação para avaliar a possível existência de ovos de tamanho e peso superior como por exemplo ovos de trematodes. Como resultado desta técnica não foram observados quaisquer outros ovos.

Confirmada a existência dos ovos/oocistos nas fezes, através das técnicas qualitativas anteriormente descritas, passou-se ao passo seguinte que foi a realização do estudo quantitativo – técnica de McMaster para se estabelecer o grau de parasitismo.

Classificação do nível de infecção parasitária – Técnica de McMaster

Depois de ter sido confirmada a presença de ovos de estrongilídeos (EGI), de cestodes do género *Moniezia* e oocistos de coccídeas, procedeu-se à sua contagem com o objetivo de obter uma classificação do nível de infecção parasitária.

Foi utilizada a técnica de contagem através da câmara de McMaster, tendo sido efetuada a contagem dos ovos e/ou oocistos nas 4 amostras de cada um dos grupos.

A classificação do nível de infecção foi efetuada com base em Hansen & Perry (1994) na qual se atribui um grau de parasitismo (leve, moderado ou grave) de acordo com o número de ovos encontrados por grama de fezes (OPG) (Tabela 3).

Tabela 3: Graus de parasitismo de acordo com a quantidade de OPG dos animais.

Grau de parasitismo	OPG
Leve	50 - 800
Moderado	800 - 1200
Grave	> 1200

O número de ovos de cada uma das espécies de parasitas foi comparado entre os 4 grupos de animais para se avaliar as diferenças de grau de parasitismo face à proveniência dos animais.

Estrongilídeos (EGI)

A contagem de OPG de estrongilídeos nos 4 grupos de animais revelou-se inferior a 800 em todas as amostras do G1. Na amostra 1 deste mesmo grupo contaram-se 150 OPG, na amostra 2, 450 OPG, na amostra 3, 350 OPG e na amostra 4, 500 OPG.

No G2, a amostra 1 apresentou com 400 OPG, a amostra 2 com 300 OPG, e nas amostras 3 e 4 contaram-se 450 e 400 OPG, respetivamente.

Relativamente à contagem de OPG de cada amostra do G3, observou-se que a amostra 1 apresentava 300 OPG, a amostra 2, 150 OPG; na amostra 3 nenhum ovo foi contabilizado. Quanto à amostra 4 contabilizou-se 250 OPG.

Em relação ao G4, na amostra 1 nenhum OPG foi contabilizado; o mesmo não aconteceu com as amostras 2 e 3 que tinham 100 e 150 OPG, respetivamente.

Os resultados observados indicam que todos os animais apresentavam um grau de parasitismo leve, que podem ser verificados na Tabela 4.

Tabela 4: Resultados quantitativos da presença de OPG de estrongilídeos nas fezes, observados através da técnica de McMaster.

	G1	G2	G3	G4
Amostra 1	150	400	300	0
Amostra 2	450	300	150	100
Amostra 3	350	450	0	150
Amostra 4	500	400	250	----

Nas amostras analisadas apesar de demonstrarem um grau de parasitismo ligeiro, a contagem de OPG de estrongilídeos foi comparada entre os 4 grupos de animais provenientes de Castelo Branco (G1 e G3) e Évora (G2 e G4). No Gráfico 3 pode-se observar que os dois primeiros grupos a chegar à exploração (G1 e G2) apresentaram um OPG médio superior aos últimos a chegar (G3 e G4). Verificou-se que os grupos G1 e G2

Ao efetuar uma comparação entre os 4 grupos, é possível verificar que as amostras relativas ao G2 apresentaram um número de oocistos significativamente superior a todos os outros grupos. Os resultados são indicadores da elevada prevalência deste tipo de parasitas neste grupo face aos restantes que podem ser observados no Gráfico 4.

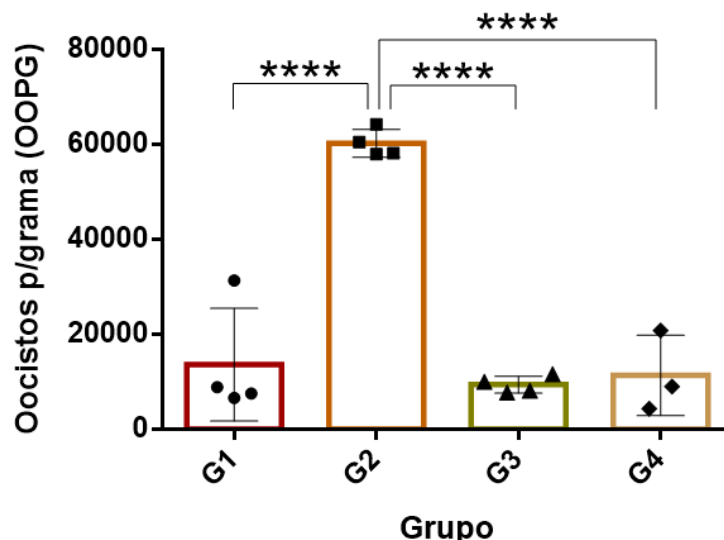


Gráfico 4: Número de oocistos de *Eimeria* spp encontrados por grupo de ovinos, através da técnica de McMaster.

OPG de *Moniezia* spp. (Cestode) – MON

Relativamente à contagem de ovos de *Moniezia* spp., os resultados revelaram maior heterogeneidade entre os grupos.

Nenhum ovo foi contabilizado na amostra 1 dos grupos G1, G3 e G4, apenas foi contado 50 OPG no G2. Na amostra 2 do G1 contabilizou-se 600 OPG, na amostra 3, 200OPG e a amostra 4 mostrou-se negativa. No G2 contou-se, como já foi referido, 50 OPG na amostra 1, mas não foi só nesta amostra que foram contados OPG de *Moniezia* spp., já que na amostra 2 e 4 foram encontrados 350 e 14200 OPG, respetivamente, sendo que a amostra 3 apresentou-se negativa. No G3 apenas foi contabilizado OPG *Moniezia* spp na amostra 4, com 250 OPG. No G4 apenas uma amostra (amostra 3) foi positiva, tendo sido contabilizados 1400 OPG.

Embora o G3 se tivesse apresentado positivo, foi contabilizada uma contagem baixa de OPG, tendo sido observados apenas 250 OPG. Nos grupos G1 e G4 duas amostras revelaram OPG de entre 600 OPG a 1400 OPG. No que concerne ao G2, uma das amostras apresentava um elevado número de ovos face aos restantes, podendo ser indicativo de um grau de parasitismo grave (14200 OPG).

De acordo com os resultados obtidos em relação à contagem de OPG de *Moniezia* spp. pode-se observar que em todos os grupos houve amostras que se apresentaram negativas, sugerindo uma grande variabilidade dentro dos próprios grupos de animais, tal como se pode observar na Tabela 6.

Tabela 6: Resultados de OPG de *Moniezia* spp nas fezes, observados através da técnica de McMaster.

	G1	G2	G3	G4
Amostra 1	0	50	0	0
Amostra 2	600	350	0	0
Amostra 3	200	0	0	1400
Amostra 4	0	14200	250	-----

A comparação efetuada entre os 4 grupos não revelou diferenças estatisticamente significativas entre eles, conforme mostra o Gráfico 5.

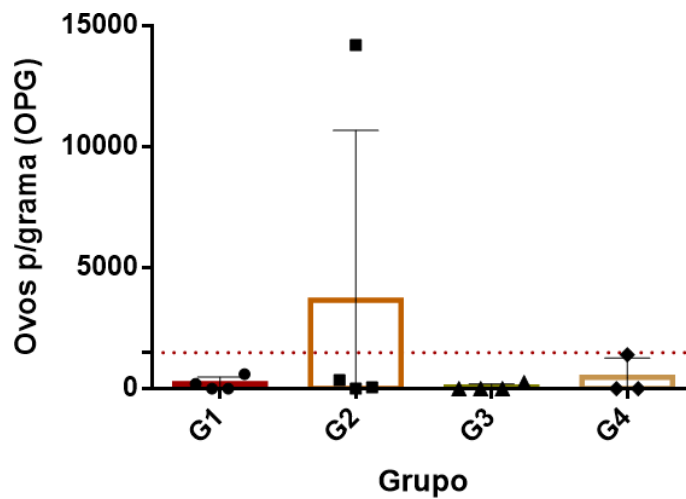


Gráfico 5: Número de ovos de *Moniezia* spp encontrados por grupo de ovinos, através da técnica de McMaster.

5. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

5.1 Discussão dos resultados obtidos

O comércio de ovinos, cujo valor associado à carne e ao leite está nos dias de hoje aliado a uma crescente procura de produtos de alta qualidade, implica que todas as etapas de produção sejam regidas pelo rigor na monitorização de um elevado número de parâmetros.

De entre os mais frequentes fatores condicionantes da qualidade e produtividade há a destacar a ocorrência de parasitoses gastrointestinais. Estas constituem não só um fator de perdas económicas por comprometimento dos índices produtivos (atrasos de crescimento, diminuição do ganho de peso vivo ou perda de peso e redução das taxas reprodutivas) mas também devido a um exigente investimento em tratamentos veterinários.

Tendo estes fatores em consideração, a realização de estudos exploratórios com o objetivo de avaliar a prevalência de parasitoses gastrointestinais nos animais, constitui o primeiro passo para a tomada de medidas preventivas, evitando perdas subsequentes. O presente trabalho insere-se nesse âmbito, funcionando como um estudo de prospeção voltado para a identificação e avaliação do grau de parasitismo de ovinos provenientes de um regime de exploração extensivo. Aqui recorreu-se ao rastreio coprológico como método primário de investigação da prevalência de parasitoses gastrointestinais.

De um universo animal constituído por quatro grupos de borregos que chegaram à exploração entre Janeiro e Março (dois dos grupos provenientes do distrito de Castelo Branco e os outros dois do distrito de Évora), foi considerada uma amostra correspondente a 10% da população de cada grupo, a qual foi sujeita a recolha e análise de fezes.

Numa primeira abordagem, com o objetivo de avaliar os tipos de parasitas presentes nos diferentes grupos de animais, foi realizada a técnica de flutuação de Willis, na qual foram encontrados ovos de nematodes estrangilídeos, oocistos de *Eimeria* spp. e ovos de *Moniezia* spp. nas fezes de animais de todos os grupos.

No que diz respeito ao género *Moniezia* observou-se uma prevalência menos expressiva deste género de cestode dentro de cada grupo. Com a finalidade de classificar o grau de parasitismo presente procedeu-se à realização de análise quantitativa dos ovos/oocistos presentes nas fezes, através da execução da técnica de McMaster.

Relativamente à presença de ovos estrangilídeos nos diferentes grupos, os resultados demonstraram que estes apenas não estavam presentes em duas das amostras. No entanto, uma vez que os números eram inferiores a 500 OPG, o grau de parasitismo foi classificado como leve para os 4 grupos.

No que diz respeito à contagem de oocistos de coccídeos (OOPG) do género *Eimeria* o número encontrado foi elevado em todos os grupos. Os resultados indicaram valores elevados em todas as amostras, tendo sido o grau de parasitismo classificado como grave, apesar de que, os valores referentes à contagem de OOPG de *Eimeria* spp. sugerem que

podem ter maior impacto patogénico quando é feita a identificação da espécie. Em relação à contagem de ovos de *Moniezia* spp., os resultados apontaram diferenças entre os grupos, que de forma geral apresentavam parasitismo de grau leve a moderado.

Quanto ao peso médio dos animais de cada grupo de animais, este revelou-se muito próximo, não tendo sido observada uma associação significativa entre a carga parasitária (OPG/OOPG) média e o peso médio destes quatro grupos de animais.

Foi constatada uma grande variabilidade entre amostras do mesmo grupo, que pode advir do facto de os animais terem sido comprados de intermediários e apresentarem diferentes origens. Para além disso, muitos dos borregos comprados do mesmo produtor/criador poderiam ser provenientes de pastagens diferentes, o que constitui um forte fator indutor da variabilidade entre indivíduos que observamos neste trabalho.

A infeção de borregos por nematodes estrongilídeos não parece apresentar um fator de risco para os animais, dado que esta se encontrava dentro de limites considerados aceitáveis, em que era improvável causar sinais clínicos ou consequências condicionantes da viabilidade. Por outro lado, se mesmo assim tivessem sido reveladas diferenças entre grupos, os primeiros a chegar à exploração (no inverno) pareciam apresentar uma maior incidência destes parasitas face aos dois grupos que chegaram já na primavera, ou seja, aqueles que também nasceram no inverno, porém, em datas mais próximas à entrada da primavera. Embora se apresente contraditório com diversos estudos que afirmam que aquando da aproximação da primavera é que se observam condições favoráveis ao desenvolvimento de larvas e ao aumento da sua capacidade migratória na vegetação, resultando no aumento da prevalência destes parasitas nas populações de ovinos (Brunsdon, 1970; Roeber *et al.*, 2013). Face a esta aparente contradição entre os resultados obtidos e a literatura existente, não é de excluir a existência de outros fatores que influenciem a incidência parasitária, tais como as condições em que foram mantidos/transportados, o stress ou dieta, que poderia influenciar a infeção dos borregos por nematodes.

Acresce dizer que a maior prevalência de infeções, ao que pareciam, mais severas por *Eimeria* spp. em todos os grupos, pelo elevado número de OOPG que foi contabilizado, serve de alerta para a potencial existência do parasita no ambiente em que os animais estão localizados. Devido à elevada resistência dos oocistos, seria importante proceder à limpeza e desinfecção mais eficazes das zonas comuns, bem como de bebedouros e comedouros dos animais.

Segundo Taylor *et al.* (2009) o stress nutricional também pode constituir um fator crítico no desenvolvimento da parasitose. Dessa forma, deve ser garantida uma nutrição adequada a todos os animais, prestando especial atenção a casos gemelares em que situações de subnutrição são mais frequentes. Nestes casos seria também aconselhada a realização de testes coprológicos mais frequentes e isolar os animais que apresentem

maiores cargas parasitárias como forma de evitar a transmissão.

Neste estudo, os níveis elevados que se observaram servem também como alerta para a potencial ocorrência de casos de coccidiose, pelo que medidas terapêuticas preventivas da doença poderão apresentar efeitos benéficos a longo prazo. Estes coccidiostáticos são tipicamente administrados na água, em pedras de sal ou no alimento durante períodos longos em alturas suscetíveis ao aparecimento de surtos tais como: situações de stress; transição dos borregos para *feedlots*; ou quando os animais se encontram em pastagens com muita água. Em 2003 foram desenvolvidas duas novas moléculas – toltrazuril e diclazuril – com capacidade de atuar em todo o ciclo de vida dos coccidia, fornecendo assim um efeito curativo e preventivo que pode constituir uma vantagem em casos como este (Taylor *et al.*, 2003).

Finalmente, no que tem a ver com os resultados obtidos na contagem de ovos de *Moniezia* spp. algumas das amostras revelaram um grau de parasitismo elevado, onde os resultados sugerem uma grande heterogeneidade dentro dos grupos de animais, com alguns indivíduos totalmente livres dos parasitas e outros com níveis graves de infeção. Embora em grande parte dos casos, devido à baixa patogenicidade do parasita, a administração de tratamentos farmacológicos seja desaconselhada, borregos com casos extremos de infeção (como era provavelmente o caso de alguns no Grupo 2) podem beneficiar com a administração sistémica de oxfendazol (Apifarma, 2016). O facto de a análise comparativa de grupos não ter revelado diferenças significativas entre os mesmos demonstra uma vez mais que a proveniência dos animais (Castelo Branco e Évora) não foi, por si só, um fator preponderante na infeção por parasitas gastrointestinais.

Considerando a estrutura e constituição do plano profilático antiparasitário gastrointestinal levado a cabo nos animais do estudo, nos quais foi administrado o antiparasitário comercial IVOMEC®, o tipo de parasitoses encontradas está de acordo com as especificidades do fármaco (Chaisanabunthid *et al.*, 2003). Tal deve-se ao facto de este apenas apresentar eficácia no tratamento e controlo de nematodes, para os quais todos os grupos estudados apresentavam grau de parasitismo leve. Embora este antiparasitário se tenha revelado ser eficaz, após a realização do estudo foi substituído pelo novo fármaco EPRECIS®, que para além da sua atividade anti-helmíntica, alegadamente produz efeitos vantajosos ao nível do controlo de parasitas externos como *Sarcoptes scabiei* (sarna) (Termatzidou *et al.*, 2019).

Posto isto, e tal como já referido, as principais medidas a serem tomadas deverão passar pela prevenção e tratamento de casos de coccidiose através de medidas complementares. A incidência moderada de parasitose provocada por *Moniezia* spp. sugere também que pode ser aconselhável fazer uma monitorização recorrente da carga parasitária dos animais, com especial foco no momento da chegada à exploração. Desta forma será possível fazer a segregação dos mesmos, limitando a transmissão e facilitando a aplicação

de tratamentos específicos a grupos de animais infetados.

5.2 Conclusões do trabalho

O presente trabalho, foi baseado em um estudo exploratório de parasitas gastrointestinais em borregos, desenvolvido no âmbito do curso de mestrado integrado em Medicina Veterinária na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia de Lisboa.

Na exploração pecuária onde o estudo foi realizado, os animais eram mantidos durante um curto espaço de tempo antes de serem exportados, sendo de grande importância garantir a qualidade do produto fornecido, correspondendo assim aos elevados padrões exigidos atualmente. Considerando a ocorrência de parasitas gastrointestinais como um dos principais fatores comprometedores dessa qualidade, e também da produtividade inerente, a sua monitorização permite que medidas preventivas e/ou tratamentos sejam realizados atempadamente, impedindo o aumento do número de animais infetados. Este trabalho teve como objetivo avaliar a prevalência de parasitas gastrointestinais em borregos, recorrendo a técnicas coprológicas, cujos resultados sugerem a adoção de medidas para lhes dar resposta.

A população deste estudo foi constituída por amostragem a quatro grupos de animais (G1, G2, G3 e G4) chegados à exploração entre Janeiro e Março, provenientes de Évora e Castelo Branco. Da análise coprológica realizada foi possível concluir que: a presença de ovos estrongilídeos de nematodes, oocistos de *Eimeria* spp. e ovos de *Moniezia* spp. foi transversal a todos os grupos de animais. A infeção por *Eimeria* spp. revelou-se impactante em todos os grupos, ao passo que a prevalência de estrongilídeos e *Moniezia* spp. foi indicativa de graus de parasitismo leve e moderado, respetivamente. Porém a observação da alta carga parasitária de coccídeas levou à adoção de novos critérios no controlo profilático com a utilização de coccidiostáticos. Não foi observada a associação entre o número de ovos/oocistos presentes e a proveniência dos animais, o que pode ser justificado pela compra de animais do mesmo grupo a intermediários diferentes, ou pelo facto do mesmo criador poder ter animais em diferentes pastagens e/ou em localizações geográficas diferentes. Os animais dos grupos G3 e G4 não apresentavam maior prevalência de parasitas gastrointestinais quando comparados aos dos grupos G1 e G2, sendo que o G3 e o G4 eram animais nascidos próximos da chegada da primavera. O que, não só aparenta ser contraditório com o referido na literatura, como sugere que fatores como o transporte, stress e origens diferentes dentro do mesmo espaço geográfico da proveniência possam desempenhar um papel relevante.

5.3 Sugestões para experiências adicionais

Um trabalho desta natureza suscita grande interesse e curiosidade em torno deste assunto. De tal forma que o conhecimento granjeado com as horas de estudo, a experiência adquirida no contacto direto com as realidades e a aquisição de novas competências inerentes a todo este percurso, permitem afirmar que é possível desenvolver alguns campos de ação e implementar outras disposições que possam, eventualmente conduzir a um permanente incremento de qualidade neste tipo de explorações.

Assim, com esta postura de liberdade académica conquanto inteira honestidade intelectual, como é exigível, e com base nas conclusões apresentadas, elenca-se um conjunto de 4 medidas preventivas e tratamentos que podem ser adotados: maior controlo de condições higiénicas, resolução de fatores de stress e reforço no fornecimento de nutrição adequada; realização de diagnósticos parasitológicos regulares à chegada dos animais à exploração seguida de segregação de animais infetados e adoção de medidas profiláticas de forma a incluir princípios ativos com ação sobre as coccídeas como o toltrazuril.

Este estudo poderia ser estendido de modo a serem realizadas análises frequentes e fazer o prolongamento deste mesmo estudo parasitológico a outra população sazonal.

BIBLIOGRAFIA

- ABBOTT, K., *et al.* (2012). *Sustainable worm control strategies for sheep*. A Technical Manual for Veterinary Surgeons and Advisors. SCOPS.
- AFONSO, J., *et al.* (2000). Características e indicações clínicas dos ionóforos para ruminantes. *Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária*, 6, 29-36.
- ALMEIDA, F., *et al.* (2010). Multiple Resistance to Anthelmintics by *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in Sheep in Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 59, p. 622-625.
- AMARANTE, A. (2004). Controle integrado de helmintos de bovinos e ovinos. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 13, Supl. 1, p. 68-71.
- AMARANTE, A., RAGOZO, A. & SILVA, B. (2014). Os parasitas de ovinos. S. Paulo. UNESP.
- ANASTÁCIO, P. (2011). *Parasitoses gastrointestinais em ovinos em regime extensivo e intensivo em explorações do Ribatejo – Portugal*. Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa
- ANDERSON, R. (2000). *Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission*. Wallingford, Oxon: Cabi Publishing.
- APIFARMA (2016). *Simposium Veterinário Apifarma*. Disponível em <https://www.apifarma.pt/simposiumvet/Paginas/default.aspx>. Acedido em 23Abr2020.
- BARGER, I. (1985). The statistical distribution of trichostrongylid nematodes in grazing lambs. *International Journal for Parasitology*, 15, 645-649.
- BAUER, C. (1990). Comparative efficacy of praziquantel, albendazole, febantel and oxfendazole against *Moniezia expansa*. *Veterinary Record*, 127, 353-354.
- BOWMAN, D., LYNN, R. & EBERHARD, M. (2003). *Georgy's Parasitology for Veterinarians*. St. Louis, Missouri: Elsevier Science, Saunders.
- BRAUN, R., *et al.* (1995). *Biotechnology: guidelines on techniques in coccidiosis research*. ECSC-EC-EAEC, Brussels.
- BRESCIANI, K., *et al.* (2017). Aspects of epidemiology and control of gastrointestinal nematodes in sheep and cattle—Approaches for its sustainability. *Revista de Ciências Agrárias*, 40, 664-669.
- BRUNSDON, R. (1970). Seasonal changes in the level and composition of nematode worm burdens in young sheep. *New Zealand journal of agricultural research*, 13, 126-148.
- CAMPILHO, C. & ROJO, F. (2002). *Parasitologia Veterinária*, McGrawHill- Interamericana.
- CHAI SANABUNTHID, V., *et al.* (2003). The efficacy of ivermectin (IVOMEC®) against

- gastrointestinal nematodes of sheep in Thailand. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, 33, 59-64.
- CHARTIER, C. & PARAUD, C. (2012). Coccidiosis due to *Eimeria* in sheep and goats, a review. *Small Ruminant Research*, 103, 84-92.
- CHRISTIE, M. & JACKSON, F. (1982). Specific Identification of strongyle eggs in small samples of sheep faeces. *Veterinary Science*, 32 (1), 113-117
- DEMELEER, J. (2005). *The physiological site of action and the site of resistance to the macrocyclic lactone anthelmintics in sheep parasitic trichostrongyloid nematodes*. Tese de Doutorado apresentada ao Instituto de Parasitologia da Universidade de Medicina Veterinária de Hannover. Disponível em:
https://elib.tiho-hannover.de/servlets/MCRFileNodeServlet/etd_derivate_00002240/demelerj_ws05.pdf. Acedido em vinte e três de Março de dois mil e vinte.
- DENEGRI, G., BERNADINA, W. & PEREZ-SERRANO, J. (1998). Anoplocephalid cestodes of veterinary and medical significance: a review. *Folia Parasitol (Praha)*, 45, 1-8.
- DIREÇÃO GERAL DE ALIMENTAÇÃO E VETERINÁRIA (2018). Certificação sanitária de ovinos e caprinos. Disponível em:
<http://srvbamid.dgv.minagricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?generico=30783855&cboui=30783855>. Acedido em 24Mar2020
- DONALD, A., SOUTHCOTT, W. & DINEEN, J. (1978). *The epidemiology and control of gastro-intestinal parasites of sheep in Australia*. Melbourne, Australia. Division of Animal Health, CSIRO.
- ELANCO ANIMAL HEALTH. (2020). *Information on coccidiosis as a disease in sheep & cattle*. Disponível em <https://www.farmanimalhealth.co.uk/uk-fah-coccidiosis#>. Acedido em 16NOV2020.
- FARM HEALTH FIRST. (2020). *Tapeworm lifecycle*. Disponível em:
<https://www.farmhealthfirst.com/disease-solution/tapeworm>.
Acedido em 30MAR2020
- FAYER, R. (1980). Epidemiology of protozoan infections: the coccidia. *Veterinary Parasitology*, 6, 75-103.
- FERGUSON, D., LEE, C. & FISHER, A. (2017). *Advances in sheep welfare*, Woodhead Publishing.
- FINO, A. (2018). *Avaliação de alguns elementos climáticos na região do Ribatejo*. Dissertação de Mestrado apresentada à Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Santarém. Disponível em:
<https://repositorio.ipsantarem.pt/bitstream/10400.15/2436/1/Tese%20-%20Avalia%C3%A7%C3%A3o%20de%20alguns%20elementos%20clim%C3%A1ticos%20vfinal.pdf>. Acedido em 10Jul2020.

- GILL, J., BALI, H. & MIGLANI, A. (1990). Comparative efficacy of anthelmintics against moniezia in sheep. *Indian journal of parasitology*, 14, 137-139.
- GIUDICI, C. *et al.* (1999). Changes in Gastro-Intestinal Helminth Species Diversity in Lambs under Mixed Grazing on Irrigated Pastures in the Tropics (French West Indies). *Vet. Res.*, v. 30, p. 573-581.
- HANSEN, J. & PERRY, B. (1994). *The epidemiology, diagnosis and control of helminth parasites of ruminants*. A handbook. ILRAD.
- INSTITUTO NACIONAL DE ESTATÍSTICA (2014). *Recenseamento Geral da População (censos 2011)*. Disponível em: https://censos.ine.pt/xportal/xmain?xpid=CENSOS&xpgid=ine_censos_publicacao_det&contexto=pu&PUBLICACOESpub_boui=73212469&PUBLICACOESmodo=2&seTab=tab1&pcensos=61969554. Acedido em 10Jul2020.
- JONES T., HUNT. R., KING N. (1996). *Veterinary pathology*, Maryland, Lippincott Williams and Wilkins.
- KHAN, M., *et al.* (2010). Gastrointestinal helminthiasis: prevalence and associated determinants in domestic ruminants of district Toba Tek Singh, Punjab, Pakistan. *Parasitology research*, 107, 787-794.
- MEHLHORN, H. (2008). *Encyclopedia of parasitology*: Volume 1, AM.
- MONTOSI, F., *et al.* (2013). Sustainable sheep production and consumer preference trends: Compatibilities, contradictions, and unresolved dilemmas. *Meat science*, 95, 772-789.
- PORTAL NACIONAL (2020). *Empresas em Salvaterra de Magos*. Disponível em: <https://portalnacional.com.pt/santarem/salvaterra-de-magos/empresas/>. Acedido em 10JUL2020.
- RAMOS, C. *et al.* (2004). Epidemiologia das helmintoses gastrintestinais de ovinos no Planalto Catarinense. *Ciênc. Rural*, v. 34, p. 1889-1895.
- RINALDI, L., *et al.* (2011). Calibration and diagnostic accuracy of simple flotation, McMaster and FLOTAC for parasite egg counts in sheep. *Veterinary Parasitology*, 177, 345-352.
- ROCHA, R. *et al.* (2008). Sheep and Cattle Grazing Alternately: Nematode Parasitism and Pasture Decontamination. *Small Rumin. Res.*, v. 75, p. 135-143.
- ROEBER, F., JEX, A. & GASSER, R. (2013). Impact of gastrointestinal parasitic nematodes of sheep, and the role of advanced molecular tools for exploring epidemiology and drug resistance - an Australian perspective. *Parasit Vectors*, 6, 153.
- SALVATORE, D. (1982). *Estatística e Econometria*. New York. Schaum McGraw-Hill.
- SANCHO, F. (2009). *Atlas de parasitologia ovina*, Zaragoza, Grupo Asís Biomedica, S.L.,

Servet editorial.

- SARGISON, N. (2009). *Sheep flock health: a planned approach*, Oxford (UK). Blackwell Publishing.
- SINGH, T., LAL, S.. (2011) A study on in vitro culture of *Trichuris ovis* in different physiological solutions at constant temperature, 37° C. *J. Parasit Dis*, 35, 57-60.
- SMITH, B. P. (2009). *Large Animal Internal Medicine*. St. Louis. Missouri: Mosby Elsevier, 160.
- SUAREZ, V. & BUSETTI, M. (1995). The epidemiology of helminth infections of growing sheep in Argentina's western pampas. *International journal for parasitology*, 25, 489-494.
- TAYLOR, M. (2009). Changing patterns of parasitism in sheep. *In Practice*, 31, 474.
- TAYLOR, M., *et al* (2003). Histopathological observations on the activity of diclazuril (Vecoxan) against the endogenous stages of *Eimeria crandallis* in sheep. *Vet Parasitol*, 116, 305-14.
- TEIXEIRA, A. (2009). Produção e comercialização integrada de produtos caprinos e ovinos com denominação de origem: uma experiência de Portugal. *4º Simpósio Internacional Sobre Caprinos e Ovinos de Corte. Feira Nacional do Agronegócio da Caprino-Ovinocultura de Corte*. João Pessoa, Brasil.
- Disponível em:
<https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/5203/1/SINCORTE%202009.pdf>.
Acedido em 2ABR2020.
- TERMATZIDOU, S-A., *et al* (2019). Anthelmintic activity of injectable eprinomectin (eprecis® 20 mg/mL) in naturally infected dairy sheep. *Veterinary Parasitology*, 266, 7-11.
- TSOTETSI, A. & MBATI, P. (2003). Parasitic helminths of veterinary importance in cattle, sheep and goats on communal farms in the northeastern Free State, South Africa. *Journal of the South African Veterinary Association*, 74, 45-48.
- URQUHART, G., *et al* (1996). *Veterinary Parasitology*. Oxford (UK) Editor Blackwell Science Ltd..
- WALLACE, H. (1968). The dynamics of nematode movement. *Annual Review of Phytopathology*, 6, 91-114.
- WANG, C., *et al*. (2010). Prevalence of coccidial infection in sheep and goats in northeastern China. *Veterinary Parasitology*, 174, 213-217.
- WESCOTT, R. & FOREYT, W. (1986). Epidemiology and control of trematodes in small ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 2, 373-381.
- WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH (OIE) (2019). *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Disponível em:
<https://www.oie.int/standard-setting/terrestrial-manual/access-online/>. Acedido em

16Mar2020

- ZAJAC, A. (2006). Gastrointestinal nematodes of small ruminants: life cycle, anthelmintics, and diagnosis. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 22, 529-541.
- ZYGOYIANNIS, D. (2006). Sheep production in the world and in Greece. *Small ruminant research*, 62, 143-147.