



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

IMPLEMENTAÇÃO DO PROJETO RASTREIO STOP  
(SIMPLES TESTE DE OVOS PARASITÁRIOS) EM EQUÍDEOS  
EM PORTUGAL CONTINENTAL

ANA SOFIA DE PINHO LOPES

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

Doutora Berta Maria Fernandes Ferreira São Braz

Doutora Paula Alexandra Botelho Garcia  
de Andrade Pimenta Tilley

ORIENTADOR

Doutora Berta Maria Fernandes  
Ferreira São Braz

COORIENTADOR

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

2013

LISBOA

---



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

IMPLEMENTAÇÃO DO PROJETO RASTREIO STOP  
(SIMPLES TESTE DE OVOS PARASITÁRIOS) EM EQUÍDEOS  
EM PORTUGAL CONTINENTAL

ANA SOFIA DE PINHO LOPES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles

Doutor Luís Manuerl Madeira de Carvalho

Doutora Berta Maria Fernandes Ferreira São Braz

Doutora Paula Alexandra Botelho Garcia  
de Andrade Pimenta Tilley

ORIENTADOR

Doutora Berta Maria Fernandes  
Ferreira São Braz

COORIENTADOR

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

2013

LISBOA

---



Aos meus pais e irmãs pelo apoio e amor incondicional

## **Agradecimentos**

Ao Professor Doutor Luís Madeira de Carvalho, meu coorientador, pela partilha de conhecimentos que inspiram a esta paixão pela área da Parasitologia, pela disponibilidade, amizade e pela cativante boa disposição.

À Professora Doutora Berta de São Braz, minha orientadora, pela orientação, pelos sensatos e sábios conselhos, apoio e amizade.

Ao Dr. Pedro Fabrica da Merial Saúde Animal pela oportunidade de participar no projeto STOP, pelo conhecimento transmitido, pela amizade mas principalmente pelas palavras de incentivo e valorização do trabalho realizado.

À Dr.<sup>a</sup> Lídia Gomes pela sua excelente receção no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias (LPDP) Da FMV-UTL, pela compreensão, disponibilidade, amizade e por compartilharmos conhecimentos e experiências valiosas.

Aos colegas do LPDP pelo bom ambiente criado e indispensável para o sucesso de qualquer trabalho como também pela disponibilidade prestada durante o decorrer do estágio.

Ao colega Bernardo Cabaço pelo auxílio na execução da parte prática deste projeto mas também pelas suas palavras reconfortantes e indispensáveis para o meu desempenho neste projeto.

Ao Dr. Telmo Nunes pela sua ajuda na realização da análise estatística dos dados incluídos no presente trabalho.

A todos os colegas da turma D sem exceção, pela partilha de conhecimento, companheirismo e acima de tudo por tornarem esta etapa ainda mais especial e inesquecível: para vocês aquele sorriso.

À Bianca Costa, a companheira de sempre no meu percurso académico, pela partilha de experiências únicas e enriquecedoras e pelas inúmeras vezes que me “abrigou” durante os anos curriculares.

Ao Maurício Wilmsen, porque sem ele a minha experiência pessoal e profissional no Brasil não seria tão especial. Mais que um amigo, um irmão. Eternamente grata pelas experiências de vida e conhecimentos partilhados.

Aos meus amigos de longa data por serem um suporte indispensável na minha vida pessoal e profissional, pela amizade e pelo carinho e apoio constante.

À minha família, pelo amor, apoio e dedicação ao longo de todo o meu percurso académico.

A todos os animais, em especial os meus queridos Bobi, Neco, Sol e Shrek porque são eles o principal motivo da presente dissertação.

Aos citados anteriormente e com maior ênfase às pessoas que não mencionei, a todos um Bem Haja!

## **Resumo- Implementação do Projeto Rastreio STOP (Simples Teste de Ovos Parasitários) em equídeos em Portugal Continental**

Os parasitas são reconhecidos como importante causa de doença em equídeos. Ainda hoje, existem graves lacunas no que diz respeito ao controlo das principais parasitoses, quer pelo desconhecimento por parte dos proprietários do fenómeno parasitário e da necessidade do seu controlo, quer pela necessidade de um papel mais ativo dos médicos veterinários no tratamento e controlo das parasitoses. Com base nesta situação, a Merial Saúde Animal, Grupo Sanofi em colaboração com o Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa (CIISA/FMV/UTL), desenvolveram o projeto, “Rastreio STOP” (Simples Teste de Ovos Parasitários), que permitiu a realização desta dissertação de mestrado. O principal objetivo deste projeto foi estudar o parasitismo gastrointestinal dos equídeos pré-tratamento e avaliar a eficácia terapêutica decorrente da implementação de um programa de desparasitação de equídeos, com contagem de OPG e culturas fecais antes e pós tratamento. Assim, na aquisição de uma embalagem de medicamento contendo Ivermectina e/ou Ivermectina + Praziquantel, foi fornecido ao proprietário um Kit contendo dois sacos para colheita de fezes no dia 0 e dia 21 após desparasitação. As amostras foram enviadas ao Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da FMV-UTL e submetidas a análise pelas técnicas de McMaster, Willis, Sedimentação e Coprocultura. Os resultados obtidos foram enviados posteriormente quer ao MV assistente, quer ao proprietário do(s) animal(ais).

Os resultados apresentados referem-se à análise de amostras de um total de 85 animais. Pela técnica de McMaster observou-se que 32.9% das amostras eram positivas e que 67.1% negativas indicando que em Portugal Continental os animais são desparasitados sem avaliação prévia que indique a necessidade de desparasitação. Já nas coproculturas 39% eram positivas e 61% negativas. Tal como acontece nos restantes países do Mundo, observou-se um predomínio de *Cyathostomum* spp., cuja abundância nas amostras analisadas foi superior a 80% do total de larvas encontradas. As diferenças observadas no valor de OPG entre os animais estabulados e os animais ao ar livre, assim como no valor de OPG e o intervalo de tempo entre as desparasitações, foram consideradas estatisticamente significativas. Para determinar a eficácia terapêutica da Ivermectina e da associação da Ivermectina + Praziquantel, foi realizado o Teste de Redução de Contagem de Ovos Fecais (TRCOF), verificando-se 100% de eficácia destas substâncias ativas nos animais incluídos neste projeto, com exceção de um caso de eventual eficácia duvidosa (93,7%). De salientar, que em 13 animais só foi colhida a 1ª amostra e, portanto, para estes não foi possível avaliar a eficácia do anti-helmíntico utilizado.

O Projeto STOP permitiu verificar que: a) a análise prévia dos animais antes da desparasitação deverá continuar a fazer parte integrante dos programas de controlo anti-parasitário; b) a ivermectina continua a ser um princípio ativo altamente eficaz; c) os programas de controlo e os princípios ativos utilizados nos mesmos devem ser monitorizados regularmente para confirmação da sua eficácia.

**Palavras-chave:** Equídeos, Parasitas gastrointestinais, Diagnóstico coprológico, Desparasitação, Anti-helmínticos, Portugal Continental, Programa STOP.

## **Abstract- Implementation of the project Rastreio STOP (Simple Tests of Parasitic Eggs) in equids in Portugal mainland**

Parasites are recognized as a major cause of disease in horses. Even today, there are serious gaps regarding the control of their major parasitic diseases, either by owners ignorance of the parasitic phenomenon and the need for its control, or by the lack of a more active role by the veterinarian in the treatment and control of parasitic diseases. Based on this issue, Merial Animal Health, Sanofi Group and the Interdisciplinary Research Centre in Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, Technical University of Lisbon (CIISA/FMV/UTL), developed the project "RASTREIO STOP" (Simple Test Of Parasitic Eggs), which allowed this master thesis. The main objective of this project was to study the gastrointestinal parasitism before treatment in horses and evaluate the effectiveness of the implementation of a deworming program for horses, accompanied by pre and post EPG counts and faecal cultures. For this, the acquisition of a medicine package containing Ivermectin and / or Ivermectin + Praziquantel, the owner receives a kit containing bags for collection of feces on day 0 and day 21 of deworming. Later, they sent the samples to the Laboratory of Parasitology and Parasitic Diseases of the FMV-UTL, where parasitological techniques were performed, namely McMaster counts, Willis flotation test, Sedimentation test and fecal cultures. Finally, a report was sent with the results of analysis to the veterinary practitioner and the owner. The results represent the samples from 85 animals. In McMaster technique it was found that 32.9% of samples were positive and 67.1% were negative, which shows that in Portugal mainland, animals continue to be dewormed without prior evaluation indicating the need for deworming. From fecal cultures performed to date, 39% were positive and 61% were negative. As reported elsewhere in the world, there was a predominance of *Cyathostomum* spp., with an abundance in the positive samples greater than 80% of larvae found. The differences observed in the amount of EPG between stabled and outdoor animals, as well as the amount of EPG and the time gap between deworming were considered statistically significant. Concerning the Faecal Egg Reduction Test (FECRT), 100% efficacy was observed for ivermectin in the analyzed samples, with the exception of one case of doubtful efficacy (93,7%). A remark should be made, since in 13 animals only the 1st sample was collected and therefore it was not possible for these animals to evaluate the efficacy of the used anthelmintic.

Project STOP has shown that: a) the previous analysis of animals before deworming should continue to be an integral part of control programs antiparasitic b) ivermectin remains a highly effective active ingredient c) control programs and active ingredients used in them should be monitored regularly to confirm their effectiveness.

**Keywords:** Equids, Gastrointestinal parasites, Coprological diagnosis, Deworming, Anthelmintics, Portugal mainland, STOP Program

## Índice geral

Capítulo 1 .....	1
1. Atividades desenvolvidas durante o estágio .....	1
2. Revisão bibliográfica .....	2
2.1. Evolução da Produção Equina em Portugal .....	2
2.2. Principais parasitoses em Equídeos .....	3
2.2.1. <i>Anoplocephala</i> spp e <i>Paranoplocephala</i> sp.....	4
2.2.1.1. Epidemiologia .....	4
2.2.1.2. Ciclo biológico.....	4
2.2.1.3. Patogenia.....	5
2.2.1.4. Sinais clínicos .....	6
2.2.1.5. Diagnóstico .....	7
2.2.2. <i>Gasterophilus</i> sp. ....	7
2.2.2.1. Epidemiologia .....	7
2.2.2.2. Ciclo biológico.....	8
2.2.2.3. Patogenia.....	9
2.2.2.4. Sinais clínicos .....	9
2.2.2.5. Diagnóstico .....	9
2.2.3. <i>Parascaris equorum</i> .....	10
2.2.3.1. Epidemiologia .....	10
2.2.3.2. Ciclo Biológico .....	11
2.2.3.3. Patogenia.....	12
2.2.3.4. Sinais clínicos .....	13
2.2.3.5. Diagnóstico .....	13
2.2.4. <i>Oxyuris equi</i> .....	13
2.2.4.1. Epidemiologia .....	14
2.2.4.2. Ciclo biológico.....	14
2.2.4.3. Patogenia.....	15
2.2.4.4. Sinais clínicos .....	15
2.2.4.5. Diagnóstico .....	15



2.2.5. <i>Strongyloides westeri</i> .....	16
2.2.5.1. Epidemiologia .....	16
2.2.5.2. Ciclo Biológico .....	17
2.2.5.3. Patogenia.....	18
2.2.5.4. Sinais clínicos .....	18
2.2.5.5. Diagnóstico .....	18
2.2.6. Estrongilidose.....	18
2.2.6.1. Epidemiologia .....	19
2.2.6.2. Ciclo biológico.....	21
2.2.6.2.1. Subfamília Strongylinae (Grandes Estrongilídeos).....	22
2.2.6.2.1.1. Género <i>Strongylus</i> .....	23
2.2.6.2.1.1.1. <i>Strongylus vulgaris</i> .....	23
2.2.6.2.1.1.2. <i>Strongylus edentatus</i> .....	24
2.2.6.2.1.1.3. <i>Strongylus equinus</i> .....	24
2.2.6.2.1.2. Género <i>Triodontophorus</i> .....	24
2.2.6.2.2. Subfamília Cyathostominae (Pequenos Estrongilídeos) .....	25
2.2.6.3. Patogenia.....	27
2.2.6.3.1. Subfamília Strongylinae .....	27
2.2.6.3.1.1. Género <i>Strongylus</i> .....	27
2.2.6.3.1.2. Género <i>Triodontophorus</i> .....	28
2.2.6.3.2. Subfamília Cyathostominae .....	28
2.2.6.4. Sinais clínicos .....	29
2.2.6.4.1. Subfamília Strongylinae .....	29
2.2.6.4.1.1. Género <i>Strongylus</i> .....	29
2.2.6.4.1.2. Género <i>Triodontophorus</i> .....	29
2.2.6.4.2. Subfamília Cyathostominae .....	29
2.2.6.5. Diagnóstico de Estrongilidose .....	30
2.3. Tratamento e Controlo das principais parasitoses em Equídeos .....	33
2.4. Administração de fármacos antihelmínticos .....	34
2.5. Resistência aos antihelmínticos .....	37

2.6. Medidas importantes no controlo integrado das parasitoses equinas.....	39
2.6.1. Tratamento seletivo.....	39
2.6.2. Tratamento estratégico.....	39
2.6.3. Desparasitação fundamentada no conhecimento pormenorizado dos fármacos AH.....	39
2.6.4. Rotação lenta e anual dos grupos de fármacos de AH.....	39
2.6.5. Avaliação da eficácia terapêutica do anti-helmíntico.....	40
2.6.6. Manutenção da população refúgio.....	40
2.6.7. Rotação de pastagens.....	40
2.6.8. Manutenção da higiene nas pastagens.....	41
2.6.9. Pastagens mistas com Ruminantes.....	41
2.6.10. Evitar o excesso de encabeçamento animal.....	41
2.6.11. Controlo biológico da estrogilidose equina com o uso de fungos nematófagos.....	41
2.7. Evolução dos serviços de Controlo e Diagnóstico no Mercado Mundial.....	42
Capítulo 2 – Parte experimental.....	43
1. Introdução.....	43
1.1 Objetivos.....	43
2. Material e Métodos.....	44
2.1. Estratégia de marketing na preparação do projeto.....	44
2.2. Área de estudo.....	45
2.3. Animais e manejo.....	45
2.4. Períodos de colheita, amostragem, tipo e conservação de material.....	46
2.4.1. Análises coprológicas.....	46
2.4.1.1. Técnicas coprológicas quantitativas.....	46
2.4.1.2 Técnicas coprológicas qualitativas.....	47
2.4.1.3. Coprocultura.....	49
2.5. Avaliação da eficácia dos fármacos antihelmínticos.....	51
2.6. Cronograma do projeto.....	52
2.7. Análise Estatística.....	52
3. Resultados.....	53

3.1. Considerações gerais .....	53
3.2. Caracterização da área geográfica .....	53
3.3. Caracterização dos animais .....	54
3.4. Caracterização do OPG .....	56
3.4.1. OPG e idade dos animais .....	57
3.4.2. OPG e sexo do animal.....	58
3.4.3. OPG e manejo.....	59
3.4.4. OPG e coabitantes .....	59
3.4.5. OPG e tempo decorrido desde a última desparasitação .....	60
3.4.6. OPG e presença de doenças anteriores .....	61
3.4.7. OPG e mês da colheita das fezes .....	62
3.5. Coproculturas.....	62
3.6. Relação do OPG com o número de larvas L3 em cada amostra .....	64
3.7. Fármacos anti-helmínticos utilizados na última desparasitação .....	65
3.8. Avaliação da eficácia do Antihelmíntico (TRCOF).....	65
4. Discussão.....	66
4.1. Aspetos processuais limitantes do estudo.....	70
5. Conclusão .....	71
Bibliografia .....	72
Anexo 1- Atividades desenvolvidas durante o estágio curricular .....	84
Anexo 2- Medicamentos antiparasitários cuja utilização em equinos é feita extra-indicações (off-label) .....	85
Anexo 3- Fluxograma de decisão baseado nos princípios do tratamento seletivo.....	86
Anexo 4- Informações (dados) pedidos do animal participante do projeto STOP .....	87
Anexo 5- Exemplar do relatório dos resultados obtidos das técnicas parasitológicas realizadas .....	88
Anexo 6 – Método de MacMaster .....	89
Anexo 7 – Método de flutuação de Willis .....	90
Anexo 8 – Método de sedimentação natural .....	91
Anexo 9 – Coproculturas.....	92
Anexo 10- Chave de identificação de larvas L3 nas coproculturas.....	93

## Índice de gráficos

<b>Gráfico 1-</b> Distribuição dos animais por classe de idades.....	54
<b>Gráfico 2-</b> Sexo dos animais do estudo.....	54
<b>Gráfico 3-</b> Raça dos equídeos do estudo.....	55
<b>Gráfico 4-</b> Prevalência de OPG nos 85 animais analisados.....	57
<b>Gráfico 5-</b> Relação OPG com a idade dos animais.....	58
<b>Gráfico 6-</b> Relação do log (OPG+1) com o sexo dos animais.....	58
<b>Gráfico 7-</b> Relação do OPG com o tipo de manejo.....	59
<b>Gráfico 8-</b> Relação do OPG com a presença de coabitantes.....	60
<b>Gráfico 9-</b> Relação do log (OPG+1) com o tempo decorrido desde a última desparasitação.....	61
<b>Gráfico 10-</b> Relação do log (OPG+1) com a presença de doenças anteriores.....	61
<b>Gráfico 11-</b> Relação do log (OPG+1) com o mês da colheita da primeira amostra (ANOVA).....	62
<b>Gráfico 12-</b> Prevalência de L3 observada na análise das culturas fecais.....	62
<b>Gráfico 13-</b> Distribuição da prevalência dos géneros/espécies de larvas L3 encontradas na análise das coproculturas.....	63
<b>Gráfico 14-</b> Distribuição da prevalência do género <i>Cyathostomum senso latum</i> de larvas L3 encontrado na análise das coproculturas.....	64
<b>Gráfico 15-</b> Relação do OPG com o N° de L3 total de cada amostra.....	64

## Índice de tabelas

<b>Tabela 1-</b> Categoria de OPG- Níveis de infeção e número de OPG.....	32
<b>Tabela 2-</b> Antihelmínticos mais utilizados em Portugal.....	35
<b>Tabela 3-</b> Presença ou não de coabitantes.....	55
<b>Tabela 4-</b> Quais os coabitantes encontrados no estudo.....	56
<b>Tabela 5-</b> Presença de doenças anteriores.....	56
<b>Tabela 6-</b> Frequência observada nos animais de acordo com a categoria de OPG.....	57
<b>Tabela 7-</b> Tempo decorrido desde a última desparasitação (dias).....	60
<b>Tabela 8-</b> Antihelmínticos utilizados na última desparasitação.....	65

## Índice de figuras

<b>Figura 1-</b> Representação de equídeo do Paleolítico Superior nas grutas do Escoural.....	2
<b>Figura 2-</b> Ciclo biológico de <i>Anoplocephala</i> sp.....	5
<b>Figura 3-</b> Enterite hemorrágica causada por <i>A. magna</i> .....	6
<b>Figuras 4 e 5-</b> Vista lateral do escoléx de <i>A.perfoliata</i> e de <i>A. magna</i> .....	6
<b>Figura 6-</b> Posição típica de cavalo com cólica.....	7
<b>Figura 7-</b> Ciclo biológico de <i>Gasterophilus</i> sp.....	8
<b>Figura 8-</b> Larvas de <i>Gasterophilus intestinalis</i> na mucosa estomacal de um equino.....	9
<b>Figura 9-</b> Fêmea (em cima) e macho (em baixo) de <i>Parascaris equorum</i> .....	10
<b>Figura 10-</b> Ciclo biológico de <i>Parascaris equorum</i> .....	11
<b>Figura 11-</b> Perfuração intestinal por infecção maciça de adultos de <i>P.equorum</i> .....	12
<b>Figura 12-</b> Fêmeas de <i>Oxyuris equi</i> .....	13
<b>Figura 13-</b> “Cauda de rato” provocada por <i>O.equi</i> .....	14
<b>Figura 14-</b> Ciclo biológico de <i>O.equi</i> .....	15
<b>Figura 15-</b> Fêmea de <i>Strongyloide westeri</i> .....	16
<b>Figura 16-</b> Ovo de <i>Strongyloide westeri</i> com larva no seu interior.....	16
<b>Figura 17-</b> Ciclo biológico do género <i>Strongyloides</i> .....	17
<b>Figura 18-</b> Ovos de EGI (Estrongilídeos GastrIntestinais).....	21
<b>Figura 19-</b> Ciclo biológico geral dos estrongilídeos.....	21
<b>Figura 20-</b> Cápsula bucal das principais espécies do género <i>Strongylus</i> .....	23
<b>Figuras 21 e 22-</b> Larvas L3 de ciatostomíneos .....	26
<b>Figura 23-</b> Ciclo biológico de <i>Cyathostominae</i> .....	27
<b>Figura 24 e 25-</b> Sinais clínicos associados à ciatostominose.....	30
<b>Figura 26 e 27-</b> Componentes do Kit e a sua receção no Laboratório de Doenças Parasitárias da FMV- UTL.....	45
<b>Figuras 28 e 29-</b> Preparação da Técnica de McMaster e preenchimento da respetiva câmara.....	47
<b>Figuras 30 e 31-</b> Preparações das Técnicas de Willis e de Sedimentação.....	48
<b>Figura 32-</b> Preparações da três técnicas realizadas: McMaster, Willis e Sedimentação....	48
<b>Figuras 33, 34 e 35-</b> Preparação dos copos da coprocultura antes da sua colocação na estufa; “Repouso” das amostras durante 24h e, Passagem para tubos para posterior observação microscópica das amostras.....	50
<b>Figura 36-</b> Mapa com a localização geográfica dos animais das amostras recebidas.....	53
<b>Figuras 37, 38 e 39-</b> Larvas L3 encontradas nas coproculturas realizadas- <i>Triodontophorus serratus</i> , <i>Strongylus vulgaris</i> e Ciatostomíneo tipo A. ....	63

## Índice de anexos

<b>Anexo 1-</b> Atividades desenvolvidas durante o estágio curricular.....	84
<b>Anexo 2-</b> Medicamentos antiparasitários cuja utilização em equinos é feita extra-indicações (off-label).....	85
<b>Anexo 3-</b> Fluxograma de decisão baseado nos princípios do tratamento seletivo.....	86
<b>Anexo 4-</b> Informações (dados) pedidos do animal participante do projeto STOP.....	87
<b>Anexo 5-</b> Exemplar do relatório dos resultados obtidos das técnicas parasitológicas realizadas.....	88
<b>Anexo 6-</b> Método de MacMaster.....	89
<b>Anexo 7-</b> Método de flutuação de Willis.....	90
<b>Anexo 8-</b> Método de sedimentação natural.....	91
<b>Anexo 9-</b> Coproculturas.....	92
<b>Anexo 10-</b> Chave de identificação de larvas L3 nas coproculturas.....	93

## Índice de abreviaturas

% - percentagem

°C - graus centígrados

d - dias

g - grama

qg - quilograma

h - horas

mm - milímetro

µm - micrómetro

ml - mililitros

*ANOVA - Analysis of Variance*

AAD - amino-acetonitrilo

AEPGA - Associação para o Estudo e Protecção do Gado Asinino

AH – Antihelmínticos

a.C. antes de Cristo

CIISA - Centro de Investigação Interdisciplinar em Saúde Animal

*Cyathostomum s.l. - Cyathostomum sensu latum*

*DNA - DeoxyriboNucleic Acid*

*EPG - Eggs Per Gram*

*ELISA - Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay*

FMV - Faculdade de Medicina Veterinária

*FQAs - Frequently Questioned Answers*

INE - Instituto Nacional de Estatística

IM - Intramuscular

LPDP - Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias

L1 - larva do primeiro estágio

L2 - larva do segundo estágio

L3 - larva do terceiro estágio

L4 - larva do quarto estágio

L5 - larva do quinto estágio

LI3 - larva Inicial do terceiro estágio

LT3 - larva Tardia do terceiro estágio

LI4 - larva Inicial do quarto estágio

LT4 - larva Tardia do quarto estágio

LPG - Larva Por Grama de fezes

MV - Médico Veterinário

MIMV - Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

NA - Não Aplicável

Nº - Número

OPG - Ovos Por Grama

PRO - Período de Reaparecimento de Ovos

pi - pós-infecção

TRCOF – Teste da Redução da Contagem de Ovos Fecais

UTL Universidade Técnica de Lisboa

SC Subcutânea

*SMART Simply Monitor Assess the Risk Treat accordingly*

STOP Simples Teste de Ovos Parasitários

*WAAVP World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology*









# Capítulo 1

## 1. Atividades desenvolvidas durante o estágio

O estágio curricular foi realizado em conjunto na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa (FMV-UTL), nomeadamente no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias (LPDP), e na Merial Saúde Animal – Grupo Sanofi. O estágio realizado no LPDP- FMV/UTL teve início a 1 de Setembro de 2011, com o objetivo de uma melhor preparação prática assim como a aquisição de mais conhecimentos na área da Parasitologia. Desde essa data até 1 de Março de 2012, realizou-se a colheita de amostras de fezes de equídeos do Concelho de Sintra (assim como outras atividades- ver anexo 1), que foram posteriormente processadas no laboratório. As técnicas parasitológicas utilizadas foram várias incluindo o método de McMaster, o método de Willis, o método de Sedimentação e a coprocultura. A partir de 13 de Março, iniciou-se a vertente prática do projeto Rastreio STOP (que será explicado mais à frente) decurso do qual foram aplicadas as técnicas anteriormente referidas às amostras enviadas para o laboratório no âmbito do projeto.

A participação nas atividades desenvolvidas pela Merial Saúde Animal foi de extrema importância, não só pela possibilidade de acompanhar o Projeto Rastreio STOP desde a sua conceção, mas também pela conquista de novos conhecimentos em áreas como o marketing e a comunicação. Deste modo, de Setembro de 2011 a Dezembro de 2011 houve a oportunidade de acompanhar uma série de reuniões com agências de comunicação, para posterior seleção da agência que apresentou a melhor ideia para o desenvolvimento do projeto tendo em consideração os objetivos pretendidos. De Dezembro de 2011 até ao início da parte laboratorial do Projeto Rastreio STOP (Março de 2012), foram desenvolvidas outras atividades no âmbito do projeto, tais como: elaboração dos Kits, apresentação oral do projeto aos delegados de vendas do sector de animais de companhia<sup>1</sup> da Merial. Por fim, acompanharam-se dois delegados de vendas na semana de divulgação desta campanha junto dos médicos veterinários de equídeos e centros de distribuição dos produtos farmacêuticos. Seguiu-se a parte laboratorial do projeto com o processamento das amostras enviadas ao LPDP- FMV/UTL no decurso do mesmo.

De referir que os resultados do trabalho efetuado durante este projeto foram apresentados, sob a forma de comunicação oral, no XVI Congresso Português de Parasitologia da Sociedade Portuguesa de Parasitologia, na FMV/UTL, em 30 de Novembro de 2012.

---

<sup>1</sup> Na estrutura da Merial Saúde Animal-Grupo Sanofi os equídeos estão incluídos no setor de vendas de animais de companhia

No âmbito do programa de bolsas de estudo de intercâmbio Luso-Brasileiras, desenvolvido em conjunto pelas Universidades Portuguesas e pelo Banco Santander, foi realizado um estágio de Formação Complementar na área de Helminologia Veterinária do Departamento de Parasitologia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu, no período de 21 de maio a 30 de setembro de 2011, num total de 760 horas, sob a orientação do Professor Doutor Alessandro Amarante, onde foi desenvolvida uma atividade experimental intitulada “Influência dos fatores climáticos no desenvolvimento dos estádios de vida livres dos estrogilídeos de equinos”.

## 2. Revisão bibliográfica

### 2.1. Evolução da Produção Equina em Portugal

Em Portugal, um dos registos mais antigos da relação entre o homem e o cavalo encontra-se perto de Évora, nas grutas do Escoural. Nestas é possível observar pinturas nas paredes (figura 1), com cerca de 13.000 a 17.000 anos, de cavalos com perfil convexo e pescoço arqueado. Próximo deste local foram ainda encontrados artefactos datados de 4.000 a.C., que revelam já então existir uma cultura equestre (Monteiro, 1983).

**Figura 1-** Representação de equídeo do Paleolítico Superior nas grutas do Escoural.

Adaptado de <http://porterrasdoalentejo-bruno.blogspot.com/2009/11/grutas-do-escouralmontemor-o-novo.html>



Como resultado do desenvolvimento da mecanização das atividades civis e militares assistiu-se durante o século XX, a um decréscimo progressivo do número de equídeos a nível mundial, (Monteiro, 1983). Contudo, desde o último terço daquele século até à atualidade, observou-se uma intensificação da produção equina, para diversos fins como a economia agropecuária nacional, as exportações a nível mundial, a assistência técnica e a formação componente institucional (universidades, forças de segurança), desporto e lazer, equitação e saúde, assim como para utilização em centros de reprodução. Segundo o recenseamento agrícola de 2009 realizado pelo INE, o efetivo

equídeo nacional é constituído por 56 mil animais, correspondendo 64% a equinos e os restantes 36% a asininos e muares. Pelo valor do património genético é importante salientar que, de acordo com a Fundação Alter do Chão, existem 8600 equinos de raças autóctones registados, sendo 7000 da raça Lusitana, 1500 da Garrano e 100 da Sorraia. Em relação aos asininos e muares evidencia-se uma acentuada diminuição da população destes animais entre 1999 e 2009 com o desaparecimento de 60% do efetivo nacional. Porém, ao longo dos últimos anos notou-se uma preocupação crescente com esta situação, criando-se progressivamente reservas/centros de asininos e muares, para a utilização com fins terapêuticos, educativos e promocionais, contribuindo deste modo para a recuperação do seu efetivo e potencializando modelos de aproveitamento socioeconómico (AEPGA, 2010). Nas últimas décadas como reflexo da aptidão dos solípedes domésticos em Portugal, implementou-se uma nova modalidade de criação equina em parque de pastagem (do inglês “paddock”), sistema também muito utilizado em Centros Equestres (Madeira de Carvalho, 2001). Verificamos assim que ao longo dos últimos anos, o sistema de criação de cavalos tem sofrido alterações qualitativas e quantitativas, tornando-se o sistema cada vez mais intensivo com a utilização de parques de pequena dimensão que aumentaram a concentração de cavalos por hectare. Estas alterações são determinantes para um novo enfoque face às parasitoses (em particular as gastrintestinais), bem como ao seu controlo, pois os equídeos do século XXI tornaram-se animais de companhia, mas continuam a ser infetados por uma grande diversidade de parasitas cuja transmissão e resistência são potenciados por esta nova realidade da produção equina (Madeira de Carvalho, 2006a).

## **2.2. Principais parasitoses em Equídeos**

Os equídeos podem ser afetados por diversos tipos de agentes de doenças transmissíveis, entre os quais se encontram os parasitas. Ao contrário de outros agentes como as bactérias e os vírus, a grande maioria das parasitoses produz infeções crónicas, subclínicas ou quadros menos graves.

Esta talvez seja uma das principais razões porque as infeções por parasitas são muitas vezes subvalorizadas, não só pelos proprietários, como pelos profissionais de saúde animal (médicos veterinários). Assim, na atualidade é de extrema importância realizar mais trabalhos no âmbito da epidemiologia/biologia, diagnóstico e terapêutica para o controlo mais eficaz das parasitoses (Love *et al.*, 1999) É importante salientar que este controlo não se baseia na erradicação dos parasitas, que é praticamente impossível, mas sim na manutenção de um equilíbrio entre os parasitas e o hospedeiro. Aliás, os equídeos e os seus parasitas estão em coevolução há pelo menos 75 milhões de anos

(Lichtenfels, 1979, 1980) e sempre tiveram um papel ancestral no controlo populacional dos solípedes silvestres. As formas de criação dos equídeos favorecem a grande incidência de infeções parasitárias, logo nas primeiras semanas de vida. No início da sua vida, todos os cavalos em pastoreio adquirem uma infeção mista por diferentes espécies de endoparasitas, que são a ameaça quotidiana mais frequente para a saúde e bem-estar dos equídeos, em particular dos poldros, sendo especialmente importante a sua associação com o desenvolvimento de cólicas (Duncan, 1985; Drudge & Lyons, 1986). Aliás, num estudo realizado com base em relatórios de necropsia em vários centros de ensino e investigação de Medicina Veterinária, constatou-se que um cavalo parasitado, tem um risco de mortalidade por cólica cerca de duas vezes superior ao normal, especialmente se do sexo feminino e com idade entre os 5 e 15 anos (Marchand, 2000).

Das mais de 150 espécies de helmintes parasitas dos equídeos, destacam-se os helmintes gastrintestinais, que assumem um papel muito importante na patologia gastrintestinal destacando-se os da família Strongylidae, vulgarmente conhecidos por estrongilídeos (Lichtenfels, 1979, Lyons *et al.*, 1999).

Em seguida, serão descritos os helmintes mais importantes nos equídeos.

### **2.2.1. *Anoplocephala* spp.e *Paranoplocephala* sp.**

Pertencentes à família Anoplocephalidae existem três espécies deste género que podem parasitar os equinos e asininos; *A. magna*, *A. perfoliata* e *Paranoplocephala mamillana*, sendo os únicos céstodes existentes nestes animais.

#### **2.2.1.1. Epidemiologia**

A infeção por estes parasitas pode ocorrer em animais de qualquer idade, porém é mais frequente nos mais jovens, até aos 4 anos de idade (Nilsson *et al.*, 1995; Urquhart *et al.*, 2001).

#### **2.2.1.2. Ciclo biológico**

O ciclo destes parasitas é heteroxeno, ou seja, possuem mais que um hospedeiro (figura 2). No hospedeiro definitivo os parasitas adultos localizam-se no intestino delgado e grosso (íleo e cego). As formas larvares, cisticercoides, ocorrem nos hospedeiros intermediários que são os ácaros do solo da família Orbatidae, pertencentes aos géneros *Scheloribates*, *Galumna* e *Oribatula*.

**Figura 2-**Ciclo biológico de *Anoplocephala spp.* (Original da autora)



Os proglótes maduros que se assemelham a “grãos de arroz” são eliminados juntamente com as fezes e no exterior ocorre a sua desintegração, libertando-se os ovos. Os ácaros orbatídeos apresentam higrotropismo positivo, mantendo-se durante o dia numa camada de húmus de onde saem no crepúsculo à procura de alimentos.

Os ovos eliminados pelos animais, são ingeridos pelos ácaros no interior dos quais se desenvolve o estágio cisticercoide em dois a quatro meses. Em condições climáticas favoráveis as larvas cisticercoides podem sobreviver nos ácaros ao longo do inverno. Um ácaro pode conter uma a três larvas cisticercoides, sendo o seu potencial infeccioso, muito elevado. A via de transmissão hospedeiro intermediário/hospedeiro definitivo é a fecal-oral e os cavalos infetam-se ao ingerirem os ácaros existentes na pastagem ou na forragem contaminada (Kassai, 1999; Urquhart *et al.*, 2001). A larva cisticercoide dá origem ao adulto em 2 a 4 meses (Sellon & Long, 2007), fixando-se este na mucosa do intestino delgado e grosso através do seu escólex, dando origem a novo ciclo. O período pré-patente é geralmente de 1 a 2 meses.

### **2.2.1.3. Patogenia**

Até há poucos anos estes parasitas eram considerados praticamente apatogénicos, contudo existem relatos de casos em que a presença de um grande número de *A.perfoliata* esteve na origem de cólicas decorrentes da sua localização na junção ileocecal (Trotz- Williams *et al.*, 2008). Nesta localização foram observadas zonas ulceradas, devido à fixação dos adultos à mucosa. As ventosas deste parasita podem causar uma intensa congestão local, levando ao aparecimento de estrias de sangue nas fezes. *Anoplocephala magna* é mais comumente encontrado no jejuno, podendo



causar enterite catarral e/ou hemorrágica (figura 3). Há registros de casos de obstrução e perfuração intestinal associada a infecções maciças por ambas as espécies (Urquhart *et al.*, 2001; Kassai, 1999).

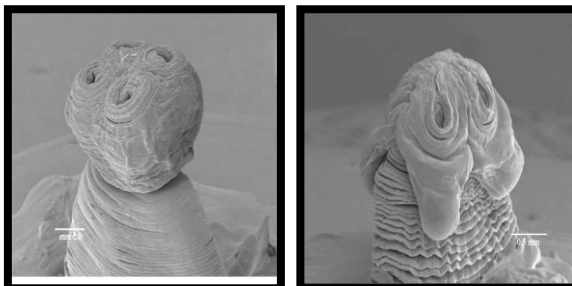
**Figura 3-** Enterite hemorrágica causada por *A. magna*.

Adaptada de <http://www.getrotatoright.com>



**Figuras 4 e 5-** Vista lateral do escoléx de *A. perfoliata* e de *A. magna*.

Adaptado de <http://www.agrovetmarket.com/TechnicalArticlesUI.aspx?.language=1&.article=10>



#### 2.2.1.4. Sinais clínicos

A perda de peso, a diarreia e a cólica (figura 6) são os sinais mais frequentes na anoplocefaliose. No caso da infecção por *A. magna* podem manifestar-se enterites ulcerativas ou hemorrágicas, enquanto a infecção por *A. perfoliata* é responsável pela impactação ileocólica.

**Figura 6-** Posição típica de cavalo com cólica.

Adaptado de <http://vendadecavalosarabes.blogspot.com/2010/11/colica-equina-colica-equina-e-uma.html>



**2.2.1.5. Diagnóstico**

A presença do parasita pode ser confirmada através dos exames coprológicos. Contudo, segundo Matthews *et al.* (2004), estes métodos de diagnóstico têm baixa sensibilidade para detetar a presença deste grupo de parasitas. Os mesmos autores afirmam que os resultados do teste de ELISA para detetar os anticorpos produzidos pelo hospedeiro, mostram uma boa correlação com a intensidade da infeção, o que em termos clínicos é importante porque a ocorrência de cólicas provocadas por estes parasitas é proporcional ao grau de infeção.

**2.2.2. *Gasterophilus* spp.**

De acordo com Silva Leitão (1978), podemos encontrar cinco espécies deste género no nosso país: *Gasterophilus pecorum*, *G. haemorrhoidalis*, *G. inermis*, *G. nasalis* e *G. intestinalis*, sendo esta a mais frequente em todo o Mundo (Pereira da Fonseca, 1991). As formas adultas são moscas pertencentes à família Oestridae e subfamília Gasterophilinae. Assemelham-se às abelhas por serem robustas, de grandes dimensões, pela coloração amarela e preta e pelo zumbido produzido durante o voo, tendo no entanto um tempo de vida curto e as formas larvares são parasitas obrigatórios de animais.

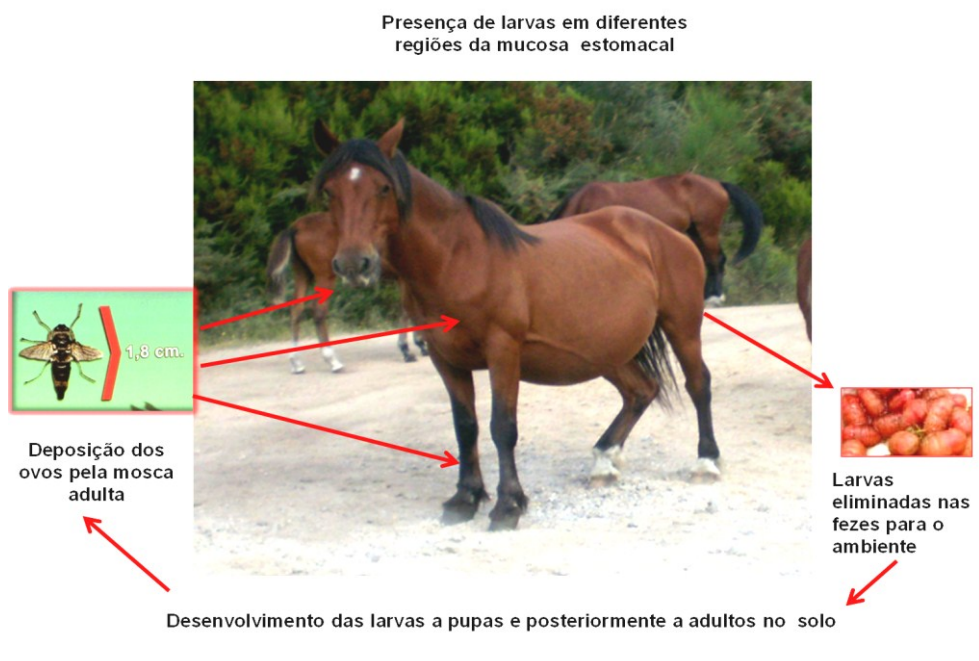
**2.2.2.1. Epidemiologia**

Os parasitas deste género apresentam uma distribuição mundial e cosmopolita, sendo muito frequentes no nosso país. Ocorrem sobretudo nos meses de verão em locais abertos e nas pastagens. Tem um período de vida curto (dias ou semanas) durante o qual acasalam e põem ovos (Urquhart *et al.*, 2001).

### 2.2.2.2. Ciclo biológico

A ovopostura é efetuada em voos rápidos e nas zonas temperadas ocorre principalmente no fim do verão. A zona afetada varia com a espécie de larva. No caso do *G.intestinalis* os ovos são depositados nos membros anteriores e na região da espádua, já no *G.nasalis* na região intermandibular e no caso do *G.haemorrhoidalis* em redor dos lábios. As larvas L1 eclodem a partir dos ovos ao fim de um período de 5 a 10 dias. No caso do *G.intestinalis* esta eclosão está dependente de um estímulo térmico, de humidade e fricção (lambadura). Em seguida, as larvas L1 penetram na mucosa bucal ou na língua e migram via faringe e esófago, até ao estômago, fixando-se na sua mucosa. Os espécimes de *G.intestinalis* encontram-se sobretudo na região cárdia do estômago, enquanto os de *G.nasalis* preferem a região do piloro, podendo também encontrar-se no duodeno. Durante 10 a 12 meses as larvas desenvolvem-se no estômago dos equídeos, alimentando-se de sangue, exsudados e detritos existentes nas erosões focais e nas úlceras resultantes da sua fixação (Pereira da Fonseca, 1991). Após amadurecerem, na primavera ou início do verão, as larvas desprendem-se da mucosa e são eliminadas nas fezes para o solo. Aqui ocorre o processo de formação de pupa com uma duração aproximadamente de um a dois meses, findo o qual emergem os adultos (Kaufmann, 1996; Urquhart *et al.*, 2001)

**Figura 7-** Ciclo biológico de *Gasterophilus* spp. (Original da autora)

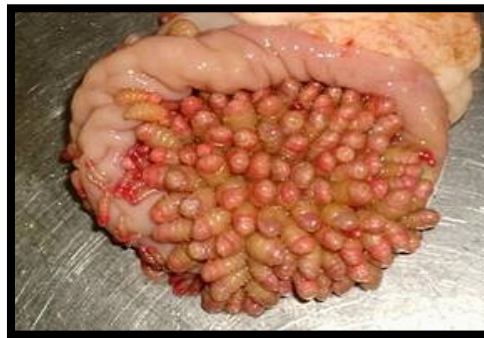


### 2.2.2.3. Patogenia

Muitos autores também consideram que o parasitismo por *Gasterophilus* spp. não é relevante na clínica de equinos, mas no nosso País as infecções podem assumir um carácter grave, com infecções maciças (Madeira de Carvalho, 2006a). As formas adultas são causa de stress nos equídeos devido ao ruído e aos ataques de stress que produzem. As formas larvares são responsáveis por uma reação inflamatória no epitélio gástrico (figura 8), podendo originar zonas ulceradas e necróticas. No caso do *G. nasalis* podemos observar oclusão e estenose pilórica e duodenais (Rodrigues, 1996; Urquhart *et al.*, 2001). Em alguns casos pode haver gastrite crónica e interferência com os processos digestivos (Rodrigues, 1996; Radostitis *et al.*, 2000).

**Figura 8-** Larvas de *Gasterophilus intestinalis* na mucosa estomacal de um equino.

Adaptado de [http://www.iberovet.cl/patologia/index.php?option=com\\_content&view=article&id=62:gastro-equ&catid=44:abdomen-equino&Itemid=58](http://www.iberovet.cl/patologia/index.php?option=com_content&view=article&id=62:gastro-equ&catid=44:abdomen-equino&Itemid=58)



### 2.2.2.4. Sinais clínicos

Tal como em muitas parasitoses, observam-se sinais clínicos inespecíficos como perda de peso e mau estado do pelo. Também podemos observar principalmente em infecções maciças anorexia, cólicas moderadas, atrasos de crescimento e ulcerações gastrintestinais (Pereira da Fonseca, 1991; Radostitis *et al.*, 2000).

### 2.2.2.5. Diagnóstico

O diagnóstico de gasterofilose é difícil já que se trata de uma míase. Contudo, pode-se associar a sintomatologia clínica à pesquisa de larvas L3, nas fezes, após desparasitação; e também à presença de ovos ovais e amarelos com 0,85-1,35mm de comprimento e cerca de 0,5mm de largura nas pernas e na face dos animais (regiões da ovopostura) (Pereira da Fonseca, 1991); e ainda à endoscopia para observação das

larvas na mucosa do estômago e duodeno ou à realização de testes serológicos, tais como a ELISA (pesquisa de anticorpo) e Western-blot (pesquisa de antígeno).

### 2.2.3. *Parascaris equorum*

Este helminte pertence à família Ascaridae e é considerado o maior nematode do intestino delgado dos equinos e asininos. Este parasita encontra-se principalmente em poldros e cavalos jovens, e em menor frequência em adultos, já que é um dos raros nematodes que induz imunidade adquirida. A grande maioria dos cavalos torna-se imune durante o primeiro ano de vida, por isso é pouco frequente diagnosticar infecções patentes por este ascarídeo em cavalos com mais de dois anos (Reinemeyer, 2009). Segundo o mesmo autor e Kaufmann (1996), este é o parasita mais patogénico nos juvenis (principalmente em poldros com idades inferiores a 6 meses), uma vez que causa perdas económicas resultantes de um estado geral de debilidade, de atrasos no crescimento e inclusivamente da morte dos animais.

**Figura 9-** Fêmea (em cima) e macho (em baixo) de *Parascaris equorum*. Adaptado de <http://www.coccidia.icb.usp.br/disciplinas/BMP222/aulas/Ascaridida.pdf>



#### 2.2.3.1. Epidemiologia

A infeção por *Parascaris equorum* apresenta uma distribuição mundial, tanto em equinos como em asininos, em pastoreio e estabulados. Num estudo, realizado em Portugal sobre o parasitismo gastrointestinal e o seu controlo em asininos e híbridos estabulados, verificou-se a prevalência de 10% para *P. equorum* (Madeira de Carvalho *et al.*, 2007c). Dois fatores são extremamente importantes para manutenção desta prevalência e distribuição; a elevada taxa de fecundidade das fêmeas, que podem eliminar para o ambiente milhares de ovos por dia e o facto de os ovos possuírem uma casca muito espessa e de natureza viscosa que lhes confere uma elevada resistência,

aderência e vasta disseminação (Clayton & Duncan, 1979 citado por Reinemeyer, 2009; Urquhart *et al.*, 2001). Aliás, estes ovos podem sobreviver no ambiente até 10 anos (Bowman, 2008). Até hoje não foi evidenciada a presença de infecção pré-natal, contudo estuda-se a possibilidade da presença de larvas no leite (Sousa & Martins 2005).

Vários autores têm referido a dificuldade no controlo de *P. equorum* relacionada com a resistência ou diminuição da eficácia aos anti-helmínticos (AH), incluindo as lactonas macrocíclicas (LM) (Boersema *et al.*, 2002; Hearn *et al.*, 2003; Stoneham *et al.*, 2006; Craig *et al.*, 2007; von Samson *et al.*, 2008).

### 2.2.3.2. Ciclo Biológico

O ciclo de vida deste nematode é direto (Urquhart *et al.*, 2001) (figura 10). De acordo com Kaufmann (1996), a principal via de infecção dos poldros jovens (três a nove meses) é a ingestão de ovos presentes nas pastagens, nos *paddocks* e nos estábulos contaminados pelos poldros dos anos anteriores.

**Figura 10-** Ciclo biológico de *Parascaris equorum* (Original da autora)



Os parasitas adultos vivem no Intestino delgado, são quimívoros seletivos e alimentam-se do conteúdo intestinal de forma passiva (Sellon & Long, 2007). As fêmeas eliminam os ovos não embrionados nas fezes. A forma infetante, que segundo Bowman (2008) pode ser um ovo com L3 ou a L3 no interior de uma cápsula, desenvolve-se aproximadamente em 10 dias à temperatura de 25°C a 35°C. Estas cápsulas são muito resistentes podendo sobreviver no meio ambiente até 5 a 10 anos. Após a sua ingestão,

a larva emerge no interior do trato gastrointestinal e migra até ao fígado (em 48h) e pulmões (15 d), retornando ao intestino delgado aproximadamente um mês depois já na forma L4. Aqui ocorre progressivamente a sua maturação, alcançando a patência ao fim de 75 a 80 dias pós infecção (Reinemeyer, 2009).

Nos climas temperados o desenvolvimento dos ovos até a forma infetante ocorre desde a primavera até ao fim do outono, correspondendo ao período no qual os poldros passam mais tempo no exterior em *paddocks* ou na pastagem. Este fenómeno, juntamente com a elevada prolificidade das fêmeas, contribui para a elevada contaminação das pastagens e posterior infecção dos animais.

### 2.2.3.3. Patogenia

Como resultado das migrações larvares podem observar-se alterações macroscópicas e microscópicas no fígado e nos pulmões. Em relação ao fígado evidencia-se lesões hemorrágicas e de fibrose, resultantes do trajeto das larvas. Já nos pulmões, observam-se lesões de consolidação e edema nos alvéolos (Radostitis *et al.*, 2000). Também se verificam lesões hemorrágicas e eosinofílicas, responsáveis pelo desenvolvimento de bronquite eosinofílica.

No intestino delgado, os adultos são responsáveis por alterações na absorção dos nutrientes como resultado da sua ação espoliadora e alterações da motilidade, que no caso de infeções maciças pode originar perfuração intestinal resultando em peritonite (Urquhart *et al.*, 2001, Payne & Carter, 2007). Para que se possa ter ideia da importância destes parasitas, quando comparado com os ciatostomíneos, *P. equorum* provoca quadros clínicos bastante mais severos, como obstrução e/ou penetração do intestino que conduz geralmente a morte (von Samson-Himmeltstjerna, 2008) (figura 11).

**Figura 11-** Infeção maciça por adultos de *P. equorum* no intestino delgado.

Adaptado de <http://www.omegafields.com/blog/parasites-who-are-you-really-feeding/>



#### 2.2.3.4. Sinais clínicos

Nas três a quatro semanas pós infecção (p.i.) são observados sinais clínicos de afeção respiratória, tais como tosse, rinorreia, taquipneia e dispneia. Os poldros adquirem muitas vezes infecções bacterianas secundárias por *Streptococcus equi Subsp. zooepidemicus* (Sellon & Long, 2007).

Como sinais do foro digestivo, pode observar-se flatulência, diarreia, cólica e, a presença de quadros clínicos de abdómen agudo quando as cargas parasitárias são elevadas (Kaufmann, 1996).

#### 2.2.3.5. Diagnóstico

Os parasitas adultos podem ser observados nas fezes. Pode ainda realizar-se o método coprológico - Willis ou Flutuação, para a pesquisa dos ovos nas fezes. O facto de as fêmeas de *P. equorum* serem altamente prolíficas facilita o diagnóstico desta parasitose por esta técnica.

#### 2.2.4. *Oxyuris equi*

Estes nematodes pertencem à família Oxyuridae. Os machos terminam a sua cauda em forma de gancho, sendo esta muito afilada nas fêmeas (figura 12), o que explica a designação atribuída pelos anglo-saxónicos de “pinworms”. De acordo com Sellon & Long (2007) e tal como acontece com o *P. equorum*, a infecção por estes parasitas promove imunidade adquirida nos hospedeiros já que os equídeos mais velhos apresentam cargas parasitárias bastante mais reduzidas que os animais jovens.

**Figura 12-** Fêmeas de *O. equi*.

Adaptado de <http://iranhelminthparasites.com/equine/common/common.htm>





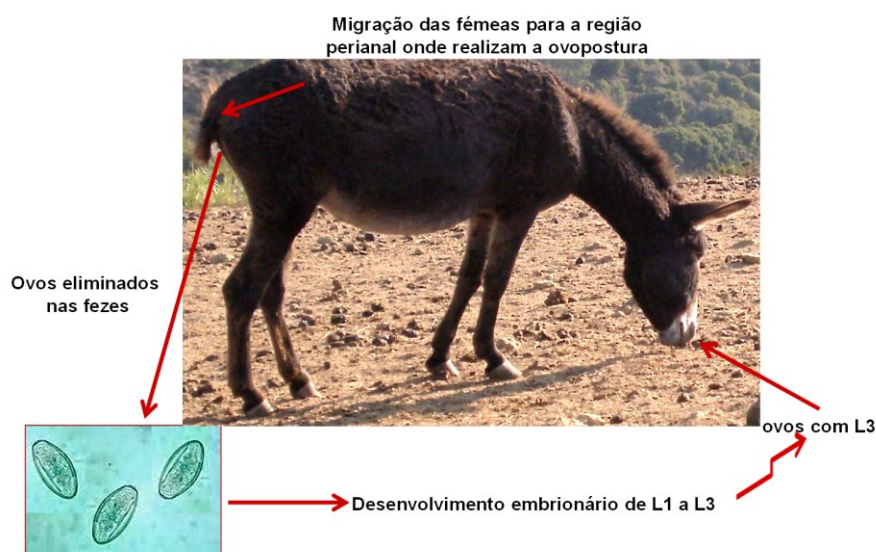
### 2.2.4.1. Epidemiologia

Segundo Radostitis *et al.* (2000), os oxiurídeos dos equídeos têm uma distribuição mundial, com maior prevalência em regiões com valores elevados de precipitação. A elevada resistência e dispersão dos ovos de *O. equi* são dois fatores importantes na disseminação da infecção (Bowman, 2008).

### 2.2.4.2. Ciclo biológico

O ciclo de vida deste parasita é direto (figura 13). As fêmeas adultas migram do ânus do hospedeiro até à região perianal depositando sobre a pele os ovos. Dependendo das condições ambientais, o desenvolvimento da larva infetante L3 no seu interior ocorre entre 3 a 5 dias.

**Figura 13-** Ciclo biológico de *O. equi* (Original da autora)



Os equídeos podem ser infetados pela ingestão dos ovos com as larvas L3 durante a lambertura da região anal de outros animais, pela ingestão de água, alimentos e objetos contaminados com os ovos embrionados. Após a ingestão as larvas migram até ao intestino grosso, onde ocorre a maturação num período de 4 a 5 meses. Os parasitas adultos são encontrados no cólon alimentando-se do conteúdo intestinal (Urquart *et al.*, 2001).

### 2.2.4.3. Patogenia

As principais lesões observadas na infecção por *O.equi* são a irritação e inflamação perianal, como resultado da deposição dos ovos nesta região pelas fêmeas adultas. Em casos de cargas parasitárias elevadas podemos observar pequenas erosões da mucosa acompanhada de inflamação devido à alimentação das larvas L4.

### 2.2.4.4. Sinais clínicos

É uma das parasitoses mais fáceis de diagnosticar, não só pelos sinais clínicos evidenciados, como também pelas técnicas de diagnóstico utilizadas. Devido ao intenso prurido anal, observa-se automutilação e surge a lesão característica de “cauda de rato” (Sellon & Long, 2007) (figura 14).

Os sinais clínicos evidentes resultam do prurido na região perianal cujas lesões de automutilação originam feridas que podem infectar secundariamente por míases. Nos casos mais graves e em infecções crônicas, pode observar-se mau estado geral, anorexia e nervosismo.

**Figura 14-** “Cauda de rato” provocada por *O.equi*. Adaptado de

[http://www.coccidia.icb.usp.br/disciplinas/BMP222/aulas/Oxyuridea\\_2011.pdf](http://www.coccidia.icb.usp.br/disciplinas/BMP222/aulas/Oxyuridea_2011.pdf)



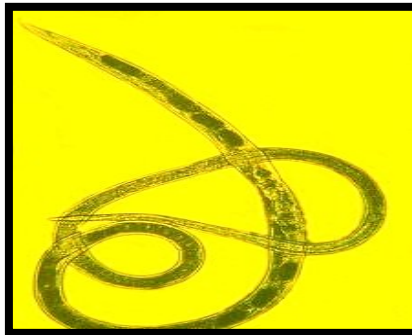
### 2.2.4.5. Diagnóstico

O diagnóstico pode ser realizado com base na sintomatologia clínica- prurido e lesões na região perianal. Também se pode realizar o teste da fita adesiva, que consiste em aplicar esta fita na região perianal para posterior observação microscópica dos ovos. É uma técnica simples, fácil e barata de realizar, sendo das mais utilizadas para o diagnóstico desta parasitose.

### 2.2.5. *Strongyloides westeri*

O nemátode *Strongyloides westeri* pertence à família Strongyloididae, género *Strongyloides* e é o único nematode deste género que parasita o intestino dos equídeos. Infeta principalmente animais jovens (até aos 6 meses) e é considerado pouco patogénico. Apenas as fêmeas partenogénicas (figura 15) são parasitas (Urquart *et al.*, 2001), não existindo machos parasitas (Bowman, 2008).

**Figura 15-** Fêmea de *Strongyloide westeri*. Adaptado de <http://dailyparasite.blogspot.com/2010/07/july-18-strongyloides-westeri.html>



**Figura 16-** Ovo de *Strongyloide westeri* com larva no seu interior.

Adaptado de <http://www.equilab.kz/articles>



#### 2.2.5.1. Epidemiologia

A infeção por este parasita apresenta uma distribuição mundial. A ausência de uma cápsula a envolver as larvas infetantes, torna-as sensíveis a condições climatéricas extremas. Contudo, a humidade e temperatura moderadas favorecem o seu desenvolvimento e conseqüentemente acumulação de grandes quantidades destas larvas. Até à data é referenciado como o único parasita de equídeos para o qual foi demonstrada transmissão transmamária sem necessitar de passar pelo exterior para completar o seu ciclo (Cunha *et al.*, 2009). Segundo Reinemeyer (2008) e Cunha *et al.* (2009), as larvas infetantes de *S.westeri* são transmitidas aos poldros na primeira semana de vida, durante o período de amamentação.

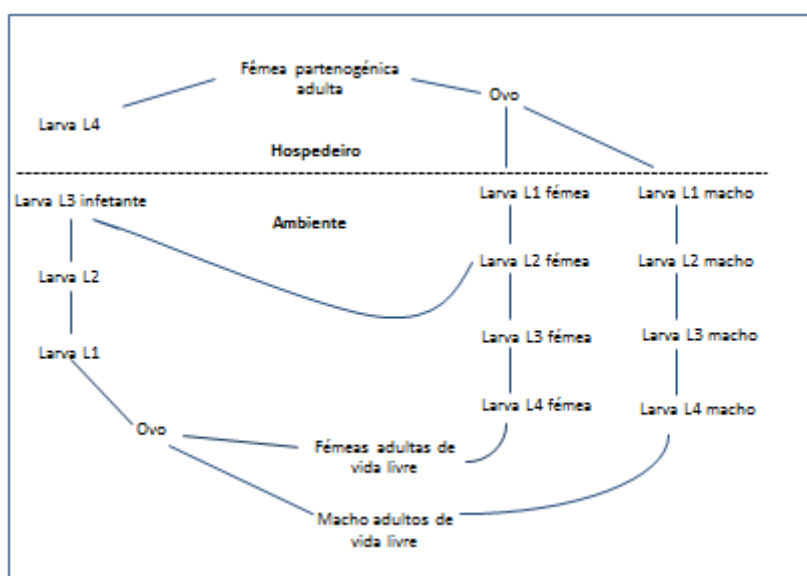
Deste modo, sendo um parasita que afeta essencialmente os animais jovens esta forma de infecção assume um papel muito importante, visto que os tecidos da mãe funcionam como reservatórios das larvas infetantes inibidas. Assim, e de acordo com Cunha *et al.* (2009), o melhor método para evitar a infecção dos poldros por este parasita, é através do tratamento estratégico da égua imediatamente antes do parto. A infecção por *S.westeri*, tal como já foi referido para outras espécies de *Strongyloides*, pode ocorrer por penetração transcutânea, sendo particularmente importante no caso da transmissão de *S.stercoralis* ao Homem, embora *S. westeri* também possa infetar os equídeos através desta via.

### 2.2.5.2. Ciclo Biológico

Este parasita tem a particularidade de possuir dois tipos de ciclo biológicos: parasitário e de vida livre (figura 17). Em relação ao primeiro, é constituído apenas por fêmeas partenogénicas, ou seja, fêmeas que produzem larvas a partir de ovos não fecundados (ovos com larvas L1). A partir de aqui podem ocorrer duas situações: desenvolvimento das larvas através de quatro estádios larvares, dando origem a machos e fêmeas de vida livre ou em condições ambientais difíceis, as larvas L3 podem infetar o animal por ingestão ou penetração percutânea, sofrendo migração pneumo-traqueo-entérica. Tal com referido anteriormente, a transmissão transmamária também assume um papel importante na infecção dos animais jovens.

**Figura 17-** Ciclo biológico do género *Strongyloides*.

Adaptado de [http://www.wormbook.org/chapters/www\\_genomesStrongyloides/genomesStrongyloides.html](http://www.wormbook.org/chapters/www_genomesStrongyloides/genomesStrongyloides.html)



### **2.2.5.3. Patogenia**

A penetração cutânea deste parasita pode originar uma reação eritematosa. A migração das larvas através dos pulmões pode provocar graves hemorragias e inflamação pulmonar (Kaufmann, 1996). Dada a localização dos parasitas adultos (duodeno e jejuno proximal), e quando presentes em grandes quantidades, podem causar inflamação, edema e erosão do epitélio intestinal, resultando numa enterite catarral com diminuição da digestão e da absorção (Urquhart *et al.*, 2001; Taylor, *et al.*, 2007).

### **2.2.5.4. Sinais clínicos**

Os parasitas adultos dão origem a quadros de infeção, na sua grande maioria assintomáticos. Já nos animais mais jovens, os sinais mais frequentes são anorexia, apatia, perda de peso e diarreia (Urquhart *et al.*, 2001).

Podem também ocorrer, embora com menor frequência, sinais respiratórios como a tosse e hemoptise.

### **2.2.5.5. Diagnóstico**

Muitas vezes o diagnóstico desta parasitose é acidental, quando se realizam análises coprológicas para outros fins (Dunn, 1978). O mesmo autor afirma que não se deve dar extrema importância a um diagnóstico positivo para este parasita, já que têm sido encontrados poldros aparentemente saudáveis com contagens de 50000 Ovos Por Grama de fezes (OPG). Mas também pode acontecer o inverso, os animais apresentarem contagens baixas, mas com diarreia (Lucena *et al.*, 2012).

## **2.2.6. Estrongilidose**

Ao longo das últimas décadas vários são os estudos que evidenciam a importância deste grupo de parasitas, não só pela distribuição mundial, mas também pela elevada prevalência (Reinemeyer, 1992; Buckell, 1995; Lyons, 1999; Nilsson *et al.*, 1999; Smets, 1999; Proudman, 2000; Collobert-Laugier, 2002; Chapman, 2002; Nielsen, 2006; Vianna & Pereira, 2006; Traversa, 2009; Muñoz, 2009). Estudos diversos afirmam que os estrongilídeos comprometem mais de metade das espécies de endoparasitas encontrados em equídeos. Segundo Madeira de Carvalho (2003) em Portugal o cenário não é diferente, uma vez que a sua prevalência é igualmente elevada. Este autor refere ainda que este grupo de helmintes constitui 67 a 100% do total de nematodes que podem ser encontrados no intestino de qualquer espécie de equídeo, formando uma

comunidade parasitária estável dominada por interações positivas e poucas negativas, sugerindo uma ausência de competição entre si.

Aliás, o modo de sobrevivência destes parasitas é caracterizado pelo parasitismo em grupo, coexistindo infeções mistas, por espécies do mesmo género, subfamília e família, num mesmo hospedeiro.

Os strongilídeos pertencem à família Strongylidae Baird, 1853, sendo caracterizados por possuir uma cápsula bucal bem desenvolvida com duas coroas radiadas ou denticulares. Para além disso os machos possuem uma bolsa copuladora muito desenvolvida com espículas longas e finas (Lichtenfels *et al.*, 1998, 2002, 2008).

Esta família divide-se em duas subfamílias: a Strongylinae Railliet, 1885 e a Cyathostominae Nicoli, 1927, que são classificadas de acordo com as características morfológicas que apresentam. Na primeira os parasitas apresentam uma cápsula bucal subglobular ou em forma de funil, enquanto os que pertencem à segunda possuem uma cápsula bucal de menores dimensões, cilíndrica ou em forma de anel. No entanto verificam-se alterações taxonómicas periódicas e algumas divergências para agrupar certos géneros nestas duas subfamílias, o que revela claramente a necessidade de mais estudos na área da filogenia taxonómica (Lichtenfelds *et al.*, 1998, 2002, 2008).

#### **2.2.6.1. Epidemiologia**

A strongilidose apresenta uma distribuição mundial, sendo mais frequente em animais jovens e éguas recém-paridas em pastagens não controladas. Esta situação está relacionada com o desenvolvimento de uma resposta imune decorrente da exposição a estes parasitas. Esta resposta é incompleta, lenta e inconsistente na maioria dos animais e não tem relação com a intensidade do contacto parasitário anterior (Klei & Chapman, 1999). Mas à medida que os animais vão ficando mais velhos observa-se uma redução do OPG, assim como do número de espécies de parasitas que se mantêm no hospedeiro (Love & Duncan, 1992; Bucknell *et al.*, 1995; Nilsson *et al.*, 1999; Saeed *et al.*, 2010).

De acordo com Madeira de Carvalho (2003) e Nielsen *et al.*, (2006), os strongilídeos apresentam uma distribuição binominal negativa, isto é, cerca de 20% dos cavalos concentram 80% dos parasitas existentes. Segundo os mesmos autores, a eliminação de ovos destes parasitas (figura 18) assume um padrão individual consistente ao longo de toda a vida do animal. Tal como foi referido anteriormente, apesar de existirem diferenças em termos quantitativos, os ovos são eliminados por hospedeiros de todas as idades, havendo sempre indivíduos mais eliminadores de ovos do que outros.

As condições ambientais são extremamente importantes para o desenvolvimento e atividade das larvas. A atividade das L3 é assim condicionada pela humidade, temperatura e luminosidade, apresentando as larvas infetantes um higrótropismo positivo, geotropismo negativo e fototropismo positivo para a luz de fraca intensidade (Tarazona Vilas *et al.*, 1999). Na temperatura ótima de desenvolvimento dos ovos e larvas (25-33°C), todas as larvas alcançam a forma infetante em 3-4 dias, com o máximo de rendimento aos 28°C (Reinemeyer, 1986; Mfitlodze & Hutchinson, 1987 citado por Madeira de Carvalho, 2003a). Em relação à humidade relativa, sabe-se que o nível mínimo para o desenvolvimento das formas infetantes dos estrogilídeos deve ser igual ou superior a 14% (Mfitlodze & Hutchinson, 1987 citado por Madeira de Carvalho, 2003a). Em estudos realizados numa região subtropical húmida da Austrália verificou-se a influência das variáveis climáticas sobre a sobrevivência das L3 na pastagem, onde durante o verão quente e longo, a persistência foi menor do que nos meses mais frios, apesar de o desenvolvimento ser mais rápido (Courtney, 1999). Esta situação decorre das altas temperaturas que aumentam o metabolismo das larvas conduzindo a uma rápida depleção das suas reservas energéticas, e por sua vez a baixa humidade relativa origina a rápida dessecação destas formas parasitárias. A migração tardia das L3 das fezes para a vegetação no período seco indicou que a chuva é utilizada como veículo de translação e dispersão das L3 para a vegetação da pastagem, e que estas larvas necessitam de uma película mínima de humidade para migrarem (Langrová, Jankovska, Borovsky & Fiala, 2003). Segundo os mesmos autores, a pastagem pode ter níveis elevados de contaminação, mas baixos níveis de infeção, pois apenas a erva húmida presente nessa pastagem, representa uma fonte de infeção para os equídeos. As fezes funcionam como potencial reservatório de larvas infetantes de ciatostomíneos, acarretando um aumento da sobrevivência das larvas, principalmente no período seco, aumentando dessa forma o risco de infeção dos equinos. A transmissão da infeção por estrogilídeos não é tão eficaz nos animais estabulados como nos animais em pastagem, pois as condições existentes neste local (humidade reduzida, presença de amónia) dificultam o desenvolvimento da forma infetante (Reinemeyer, 2008a). Na pastagem existem duas formas de infeção por estas larvas, as que se desenvolveram na estação de pasto anterior e resistiram ao inverno, e as que derivam do desenvolvimento dos ovos eliminados pelos hospedeiros no período presente correspondente à primavera, altura em que os animais passam mais tempo na pastagem.

Segundo Reinemeyer (2008a), a transmissão destes parasitas ocorre através da pastagem, forragem adicionada aos comedouros e água de bebida.

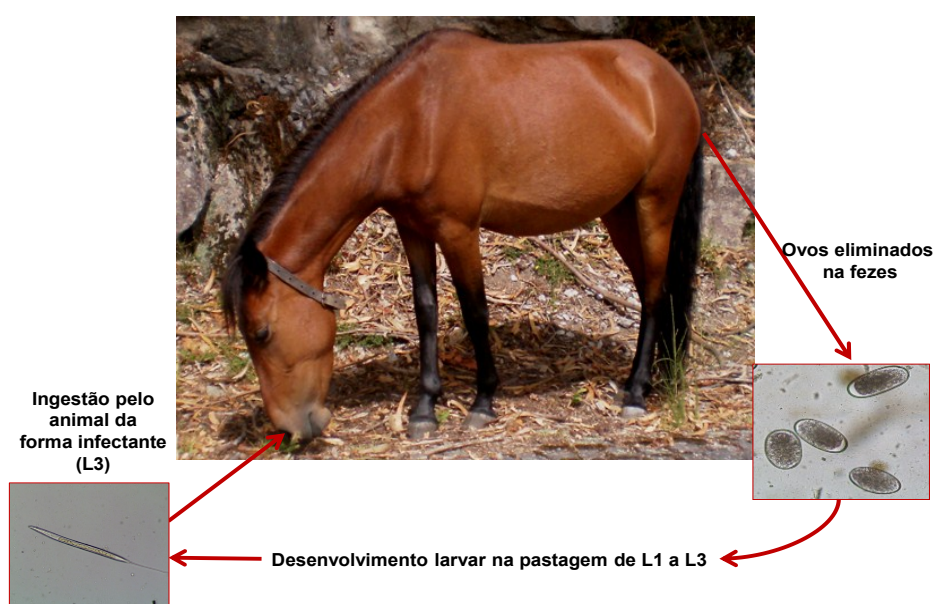
**Figura 18-** Ovos de **Estrongilídeos GastrIntestinais (EGI)** – ampliação: aproximadamente de 200X (Original da autora)



### 2.2.6.2. Ciclo biológico

Os parasitas que constituem a família Strongylidae têm um ciclo biológico monoxeno com duas fases, a exógena e a endógena (figura 19). Como hospedeiros deste ciclo, poderão ser os equinos, os asininos, os muares, bem como todo e qualquer equídeo silvestre.

**Figura 19-** Ciclo biológico geral dos estrongilídeos (Original da autora)





## **Fase exógena**

A fase exógena é comum a todas as espécies de parasitas pertencentes a esta família e as condições ambientais para o desenvolvimento da forma infetante são idênticas.

As fêmeas adultas produzem ovos que são eliminados nas fezes para o meio ambiente. Destes, nos equinos naturalmente infetados 75 a 100% correspondem à subfamília de Cyathostominae (Bowman *et al.*, 2003).

A seguir ao desenvolvimento embrionário, dá-se a eclosão da larva L1 e tal com referido anteriormente, o seu desenvolvimento para larva L2 está dependente das condições climatéricas presentes (humidade relativa, temperatura, oxigenação), assim como de todos os fatores bióticos e abióticos que possam estar presentes nas fezes dos equídeos (Mfitlodze & Hutchinson, 1988; Love & Duncan, 1988; Sievers *et al.*, 1995 citado por Madeira de Carvalho, 2003a), já que ambos os tipos se alimentam de protozoários e bactérias fecais e de outras substâncias presentes nas fezes.

Se todas as condições são favoráveis, ocorre então a evolução de L2 para L3, a forma infetante para o hospedeiro. Esta ao contrário das anteriores não se alimenta e mantém a bainha da L2 que lhe confere uma proteção significativa face às condições ambientais adversas, permitindo a sua sobrevivência na pastagem por períodos prolongados.

A fase exógena termina com a ingestão da larva L3 pelo hospedeiro, resultante da sua capacidade de migrar das fezes até à erva adjacente, sendo esta potencializada nos períodos de chuva (Langrová *et al.*, 2003; Madeira de Carvalho *et al.*, 2005, Couto *et al.* 2009), pela elevada resistência ao frio (ao contrário das outras fases larvares) e pelo aumento da densidade animal nas pastagens (Medica *et al.*, 1996).

## **Fase endógena**

A diferença no ciclo biológico das várias espécies desta família verifica-se na fase endógena, na qual as formas larvares destes parasitas realizam migrações mais ou menos complexas (Nielsen *et al.*, 2007; Reinemeyer, 2009) De seguida essas diferenças são apresentadas com a respetiva subfamília.

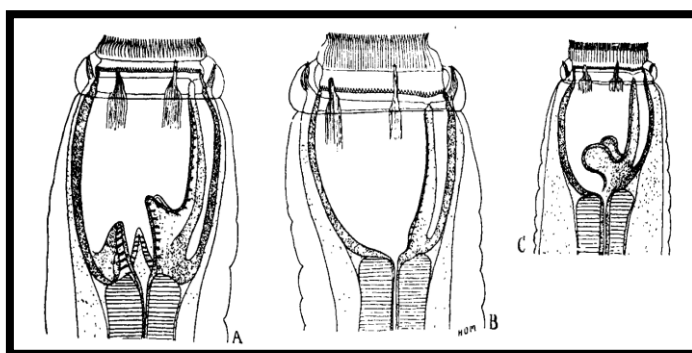
### **2.2.6.2.1. Subfamília Strongylinae (Grandes Estrongilídeos)**

As formas adultas que são histófagas e hematófagas parasitam o cego e cólon dos seus hospedeiros. As formas larvares efetuam migrações complexas, cujas consequências se revestem de uma importância clínica extrema.

### 2.2.6.2.1.1. Género *Strongylus*

Estão descritas três espécies de maior relevo nos equídeos: *Strongylus vulgaris* Looss, 1900; *S. edentatus* Looss, 1900 e *S. equinus* Müller, 1782, apresentando-se na respetiva cápsula bucal as principais diferenças morfológicas entre estas espécies do género *Strongylus* (figura 20). Dunn (1978) refere ainda a espécie *S. asini*, que ocorre em zebras em África e em burros na Rússia.

**Figura 20-** Cápsula bucal das principais espécies do género *Strongylus*. Adaptado de Mönnig, 1950



**A-** *Strongylus equinus*, **B-** *Strongylus edentatus*, **C-** *Strongylus vulgaris*

#### 2.2.6.2.1.1.1. *Strongylus vulgaris*

Esta é a espécie mais pequena do género *Strongylus* e é considerada a mais patogénica (McCraw & Slocombe, 1976; Lyons *et al.*, 1999; Urquhart *et al.*, 2001) pelas lesões, provocadas no hospedeiro, resultantes da migração larvar.

Após abandonarem a sua bainha as L3 penetram na mucosa e submucosa do intestino (íleo, cego e cólon) e evoluem para L4 em aproximadamente 7 dias pós-infeção (pi). As L4 entram no lúmen de arteríolas e migram no endotélio até à artéria mesentérica cranial e os seus principais ramos (aos 21 pi). As larvas permanecem na artéria mesentérica (localização de eleição) durante cerca de 2-4 meses e aqui crescem e sofrem nova muda para L5. Ao fim deste período retornam à parede intestinal formando nódulos principalmente no cólon e cego. Após a rotura destes nódulos são libertados os adultos imaturos no lúmen intestinal. O período pré-patente é de 6 a 7 meses (Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Urquhart *et al.*, 2001; Bowman, 2008).

#### **2.2.6.2.1.1.2. *Strongylus edentatus***

Esta espécie possui a particularidade de ter uma cápsula bucal desprovida de dentes, o que reduz a patogenicidade das formas adultas.

Após penetrarem na parede intestinal, principalmente na região do cego e cólon ventral, as larvas L3 migram até ao fígado, através da veia porta, alcançando-o em aproximadamente 2 dias p.i. Nas 2 semanas p.i. mudam de L3 para L4.

Ao fim 2 meses p.i. podem encontrar-se larvas em diversas partes do corpo (flancos, ligamentos hepáticos, gordura peri-renal e peritoneu), através da sua migração principalmente pelo ligamento hepato-renal e pelo peritoneu parietal. Após 4 meses, ocorre a última muda de L4 para L5, nas quais estas migram sob o peritoneu, penetram na parede intestinal formando nódulos de onde sairão os adultos para o lúmen intestinal. O período pré-patente dura cerca de 11 meses (Urquhart *et al.*, 2001, Bowman, 2008).

#### **2.2.6.2.1.1.3. *Strongylus equinus***

Tal como na espécie anterior, as larvas L3 penetram a parede do cólon ventral e cego formando pequenos nódulos na mucosa e subserosa a partir do 4 dia p.i. Uma semana depois dá-se, nesse local, a mudança para L4. Estas larvas migram até ao fígado, onde permanecem aproximadamente 2 meses, e ao fim deste período migram até ao pâncreas onde se podem encontrar as larvas L5. Para finalizar o ciclo de desenvolvimento, as L5 migram até ao lúmen do intestino grosso e evoluem a adultos. O período pré-patente tem uma duração aproximada de 8 a 9 meses (Urquhart *et al.*, 2001; Tarazona Vilas *et al.*, 1999; Bowman, 2008)

#### **2.2.6.2.1.2. Género *Triodontophorus***

Os parasitas deste género são conhecidos como os grandes estrôngilos “não migratórios”. Existem quatro espécies mais conhecidas: *Triodontophorus serratus*, *T.brevicauda*, *T.minor* e a *T. tenuicollis*, sendo esta última considerada a de maior importância clínica nos equídeos.

O ciclo endógeno destas espécies é semelhante aos ciatostomíneos, limitando-se a migração larvar à mucosa do cego e cólon, onde se formam pequenos nódulos e, numa fase posterior, estes parasitas regressam ao lúmen intestinal (Madeira de Carvalho, 1991).

#### 2.2.6.2.2. Subfamília Cyathostominae (Pequenos Estrongilídeos)

Os ciatostomíneos são os nemátodes mais frequentes nos equídeos de todas as idades (Lyons *et al.* 1999, von Witzendorff *et al.*, 2003, Corning, 2009) sendo a sua distribuição mundial (Lyons, *et al.*, 1999; Corning, 2009). De acordo com Reinemeyer *et al.* (1984), assume-se que 100% dos cavalos estão infetados por estes parasitas, o que pode ser resultado do aumento da resistência destes parasitas aos antiparasitários mais utilizados, assim como dos programas de controlo parasitário realizados nos últimos anos.

São conhecidas mais de 50 espécies de ciatostomíneos, das quais 10 têm sido reportadas como as mais prevalentes não só em cavalos, como também em asininos e em zebras (Lyons *et al.*, 1999; Corning, 2009). São elas *Cylicostephanus longibursatus*, *Cyathostomum catinatum*, *Cylicostephanus goldi*, *Cylicocyclus nassatus*, *Coronocylus coronatus*, *Cylicostephanus calicatus*, *Cylicostephanus minutus*, *Cylicocyclus leptostomus*, *Cyathostomum pateratum* e *Cylicocyclus insigne*.

Geralmente, as infeções são mistas, isto é, provocadas pela ocorrência de diferentes espécies em simultâneo. Existem pouco estudos referentes à patogenicidade de cada espécie ou sobre quais os fatores que determinam o balanço das espécies numa população mista (Corning, 2009). Contudo, avanços na área da biologia molecular estão a permitir o desenvolvimento de métodos de avaliação de ADN específico para a identificação dos ciatostomíneos. As formas adultas encontram-se no lúmen do cego e cólon dos equídeos. Já as formas larvares (figuras 21 e 22) realizam migrações limitadas à parede intestinal, possuindo uma característica particular desta subfamília que é a realização de hipobiose quando as condições climáticas são adversas ao seu desenvolvimento ou quando infetam animais com uma boa resposta imunitária (Kaplan & Matthews, 2004; Hodgkinson, 2008). Entende-se por hipobiose um acontecimento de inibição prolongada e temporária no desenvolvimento das larvas de ciatostomíneos, em que a sua atividade metabólica diminui acentuadamente, não se alimentando nem se movendo durante esse período (Corning, 2009). Assim, estas larvas ficam contidas em quistos fibrosos na mucosa e submucosa do intestino grosso do hospedeiro, até que as condições sejam favoráveis ao seu desenvolvimento. Dos poucos estudos realizados até ao momento pensa-se que a ocorrência da hipobiose depende do feedback negativo exercido pelas formas parasitárias existentes no lúmen intestinal, por fatores intrínsecos ao hospedeiro como exemplo, o sistema imunitário (Kaplan & Matthews, 2004) e pelo clima. Em climas temperados, as larvas entram em hipobiose no outono e terminam no fim do inverno - início da primavera. O contrário acontece nos climas tropicais, em que o

período de hipobiose ocorre nos meses quentes/época seca, emergindo as larvas da mucosa intestinal no outono (Corning, 2009).

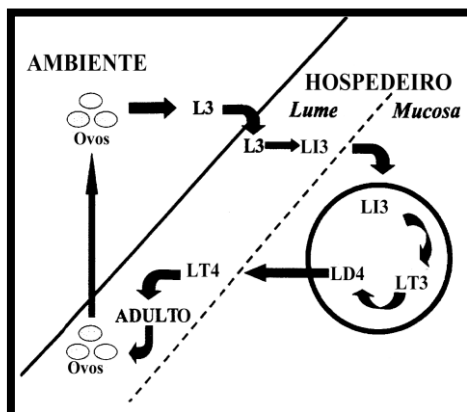
**Figuras 21 e 22-** Larvas L3 de ciatostomíneos. Ampliação: aproximadamente de 70x (Originais da autora)



A fase exógena do seu ciclo biológico é semelhante à dos parasitas da família Strongylidae. No caso dos ciatostomíneos, quando as condições climáticas sejam favoráveis, o período de tempo que medeia desde a eclosão dos ovos até à formação das larvas infetantes L3 pode ser de apenas três dias (Corning, 2009).

Relativamente à fase endógena, após a ingestão das ervas contaminadas com larvas L3 estas perdem a sua membrana protetora e penetram na mucosa e submucosa do intestino grosso ficando enquistadas numa cápsula fibrosa. Nesta fase as L3 são designadas por larvas iniciais do 3º estágio (LI3, do inglês “early L3”, EL3), podendo ocorrer duas situações distintas. Num caso as larvas entram em hipobiose por períodos longos, uma vez que cerca de 90% das larvas que enquistam no intestino podem entrar em hipobiose, permanecendo dentro da parede intestinal por períodos compreendidos entre os 4 meses e os 2 anos (Corning, 2009). Este fenómeno é extremamente importante quando se elabora um programa de controlo parasitário, já que é uma das causas responsáveis pela falha terapêutica e pelo desenvolvimento de resistência destes parasitas à grande maioria dos anti-helmínticos existentes na atualidade. Na outra situação, ocorre o desenvolvimento direto das LI3 para larvas tardias do 3º estágio (LT3, do inglês “late L3”, LL3), seguindo-se uma muda para larva inicial do 4º estágio (LI4, do inglês “early L4”, EL4) e continuando o seu desenvolvimento até larva tardia do 4º estágio (LT4, do inglês “late L4”, LL4) (figura 23). Estas emergem posteriormente no lúmen intestinal onde se desenvolvem em L5 e finalmente em adultos (Barnett, 2008; Corning, 2009). O período pré-patente é cerca de 2 a 3 meses, sendo obviamente mais dilatado nas espécies que realizam hipobiose.

**Figura 23-** Ciclo biológico dos *Cyathostominae*. Adaptado de Reinemeyer (1998), segundo Madeira de Carvalho (2001).



**L3** – Larva infetante; **LI3** – Larva inicial do 3º estágio; **LT3**-Larva tardia do 3ºestádio;  
**LD4**- Larva em desenvolvimento do 4º estágio; **LT4**- Larva tardia do 4º estágio

Os fatores de risco mais importantes para a infecção dos equídeos são a idade do hospedeiro, a época em que se infetam e o tempo decorrido desde a última desparasitação (Von Samson-Himmelstjerna, 2002, citado por Corning, 2009).

### 2.2.6.3. Patogenia

O efeito patogénico resultante da infecção por estes parasitas deve-se à presença dos adultos no lúmen intestinal, mas principalmente às formas larvares o que por um lado, no caso do género *Strongylus*, está relacionado com as suas migrações no hospedeiro, enquanto nos ciatostomíneos resulta da hipobiose e da consequente emergência larvar através da mucosa intestinal (Lyons *et al.*, 1999; Nielsen & Kaplan, 2008; Reinemeyer, 2008)

#### 2.2.6.3.1. Subfamília Strongylinae

##### 2.2.6.3.1.1. Género *Strongylus*

A patogenia dos adultos deste género está relacionada com a sua ação mecânica, traumática e espoliadora sobre a mucosa do cego e cólon. Como são hematófagos e histiófagos, pode observar-se lesões ulcerativas e hemorragias no intestino (Bowman, 2008).

As larvas de *S.vulgaris* são de facto as mais patogénicas em virtude da sua localização preferencial na artéria mesentérica cranial, durante fase migratória, podendo assim

causar lesões no sistema arterial do intestino dos equídeos, tais como arterites com calcificação distrófica, formação de trombos por proliferação da íntima e infiltração celular que levam a um aumento da espessura da parede dos vasos (Duncan & Love, 1990). As trombo-embolias podem originar isquemias parciais no intestino (Radostitids *et al.*, 2000) produzindo cólicas. Aliás, durante muito tempo, os estrongilídeos em geral, e o enfarte intestinal secundário à infecção por *S.vulgaris* em particular, foram considerados os principais responsáveis pelas cólicas nos equídeos (Duncan & Love, 1990; Reichmann *et al.*;2001). As larvas de *S.edentatus* podem provocar alterações macroscópicas no fígado (inflamação, congestão, espessamento da cápsula) e nódulos nos tecidos subperitoneais. Porém estas alterações raramente provocam sinais clínicos no hospedeiro. Já as larvas de *S.equinus* podem provocar lesões hemorrágicas e fibrinosas no fígado e no pâncreas, podendo o animal desenvolver *diabetes mellitus* quando ocorre uma destruição significativa do tecido pancreático (Tarazona Vilas *et al.*, 1999)

#### **2.2.6.3.1.2. Género *Triodontophorus***

Dados os hábitos alimentares dos adultos (hematófagos) podem observar-se lesões hemorrágicas e ulcerativas. No caso de *T. tenuicollis*, que podem alimentar-se em grupo de 30 a 40 parasitas, formam-se úlceras profundas e de vários centímetros (Urquhart, 1996).

#### **2.2.6.3.2. Subfamília *Cyathostominae***

A ciatostominose é reconhecida como a doença parasitária mais importante dos equídeos, em termos de patogenicidade, por isso é necessário prosseguir a investigação nomeadamente no que respeita aos mecanismos biológicos e patogénicos dos ciatostomíneos (Love *et al.*, 1999).

Apesar de os equídeos jovens serem os mais vulneráveis a ciatostominose pode ocorrer a qualquer idade do animal e em qualquer época do ano (Corning, 2009).

Os efeitos patogénicos resultantes da infecção por estes parasitas são classificados em dois tipos, a ciatostominose do tipo I e a ciatostominose do tipo II (Bowman, 2003).

Na ciatostominose do tipo I a ingestão de pastagens contaminadas na primavera/verão, promove o desenvolvimento de cargas elevadas de adultos no lúmen do intestino grosso durante o outono e inverno. Esta situação origina lesões de tiflite e colite catarral hemorrágica nos animais infetados (Monahan, 2000; Bowman, 2003). Já a ciatostominose do tipo II assume maior relevância face às lesões e sinais clínicos provocados pela emergência das larvas enquistadas na parede do intestino. Este fenómeno ocorre com maior frequência no fim do inverno e início da primavera quando

um grande número de larvas emerge em *massa* para o lúmen (Lyons *et al.*, 2000; Corning, 2009). Esta condição induz a enteropatia inflamatória, a qual é caracterizada por infiltração celular e edema da mucosa.

Alguns autores designam por **ciatostominose nodular** com base na patologia evidenciada, como os quistos ou nódulos onde se encontram as larvas, a inflamação catarral e fibrinosa do cego e cólon, acompanhada de hemorragia focal difusa da mucosa (Love *et al.*, 1999).

#### **2.2.6.4. Sinais clínicos**

##### **2.2.6.4.1. Subfamília Strongylinae**

###### **2.2.6.4.1.1. Género *Strongylus***

Na infecção por *S. edentatus*, os principais sinais clínicos que evidenciamos no hospedeiro são a anemia, a letargia, a perda de peso, a diarreia e má-absorção e dor à palpação no flanco direito. Por sua vez, nas infecções por *S. vulgaris* verifica-se principalmente a ocorrência de cólicas (Tarazona Vilas *et al.*, 1999). A gravidade destes sinais está relacionada com número de larvas ingeridas, bem como com a idade e imunidade do hospedeiro, podendo os equídeos infetados apresentar sinais variados que vão desde a ausência de sintomatologia até à morte (Tarazona Vilas *et al.*, 1999).

###### **2.2.6.4.1.2. Género *Triodontophorus***

Os sinais clínicos que os animais podem manifestar são, a anemia, a letargia, a perda de peso e por vezes a diarreia (Urquhart, 1996).

##### **2.2.6.4.2. Subfamília Cyathostominae**

Apesar do efeito clínico primário da ciatostominose ser a perda de peso (Tamzali & Birague, 2006) (figura 24), muitos dos casos descritos dão ênfase à diarreia e ao emagrecimento progressivo como os principais sinais clínicos, a qual será responsável pela importância clínica atribuída a esta parasitose na atualidade (Love *et al.*, 1999).

Nas infecções maciças pode observar-se anemia, pirexia, edema subcutâneo (como resultado da perda de proteína devido à enteropatia) e alterações na motilidade intestinal que predis põem a estrangulamento e obstrução. Nas regiões temperadas está descrito, uma síndrome de diarreia aguda grave, no final do inverno e início da primavera, associada à emergência maciça das L4 da mucosa e submucosa (figura 25). Nestes casos a mortalidade pode atingir os 50% (Corning, 2009).



A ciatostominose tem sido associada à ocorrência de vários tipos de cólica, incluindo a invaginação cecocólica, enfarto não estrangulado, timpanismo cecal e cólica (Love *et al.*, 1999).

**Figura 24 e 25-** Sinais clínicos associados à ciatostominose



Emagrecimento e má qualidade do pelo em burro infetado por ciatostomíneos (Original da autora)



Poldro com ciatostominose apresentando uma diarreia líquida e exuberante (Madeira de Carvalho, 2001)

#### **2.2.6.5. Diagnóstico da Estrongilidose**

O diagnóstico desta parasitose deve começar pela realização do exame macroscópico das fezes, observando se existem alterações de consistência e aspeto das fezes (diarreicas, sanguinolentas) e se estão presente formas parasitárias, nomeadamente formas adultas e/ou larvares de estrongilídeos, com colorações entre branco rosado a vermelho-rubi, respetivamente (Madeira de Carvalho, 2006b).

Numa infeção por estrongilídeos podem ocorrer diferentes situações tais como; sinais clínicos pouco específicos e, presença de um quadro clínico mesmo com a administração frequente de fármacos antiparasitário (Reinemeyer, 1992); ausência de sinais clínicos ou mesmo da redução da performance em animais com carga parasitária

elevada (Fog *et al.*, 2011); apresentação de padrão de distribuição binominal negativa, ou seja, a grande maioria destes parasitas está concentrada numa percentagem relativamente pequena da população e por fim, o aumento progressivo da população de estrombilídeos suspeitos ou resistentes às principais classes de antiparasitários utilizados, observado ao longo das últimas décadas a nível Mundial. É pois fulcral que os médicos veterinários e os proprietários valorizem a realização de exames coprológicos periódicos não só para determinar a eficácia e/ou resistência dos anti-helmínticos assim como para controlar a infeção por estrombilídeos (Mohammad *et al.*, 2011).

Os métodos coprológicos devem ser encarados como um serviço profissional de valor acrescentado, que não só providenciam uma base científica para o diagnóstico parasitológico e para as orientações que devem ser fornecidas ao criador para a desparasitação dos animais, como também podem ser úteis no diagnóstico precoce dos animais parasitados após a sua entrada na exploração (Bliss & Kvasnicka, 1997 citado por Madeira de Carvalho, 2006b).

Os exames complementares mais utilizados para o diagnóstico da estrombilidose são os métodos coprológicos. Para isso, procede-se à recolha de amostras de fezes do animal (entre 50 a 100g), que são posteriormente analisadas num laboratório de referência. Idealmente, até à sua manipulação no laboratório, as fezes devem ser mantidas a temperaturas de refrigeração (4 a 5°C) para evitar o desenvolvimento precoce das formas parasitárias. Estes testes coprológicos são simples, relativamente baratos, fáceis de executar e com uma boa sensibilidade. Habitualmente realiza-se análise quantitativa (método de McMaster), análise qualitativa (método de Willis) e cultura fecal (método de Robert & O'Sullivan para isolamento de larvas infetantes L3). O método de McMaster é um método de numeração simples dos ovos, através do exame dum volume preciso numa suspensão de fezes na solução de flutuação (geralmente solução saturada de açúcar ou de cloreto de sódio). Resumidamente consiste na contagem de Ovos Por Grama (OPG), nas duas células que constituem a câmara de McMaster. O número total de ovos parasitários contados deve ser multiplicado por 50, pois esta técnica em regra, tem um limiar de deteção dos ovos de estrombilídeos de 50 OPG. Por isso, a ocorrência de falsos negativos é comum e uma contagem de 0 OPG não significa que os animais não tenham parasitas. Aliás, as larvas em migração do género *Strongylus* e as dos ciatostomíneos em hipobiose contribuem para ocorrência destes falsos negativos (Madeira de Carvalho, 2006b; Nielsen *et al.* 2010a).

Vários autores divergem, no que respeita ao nível de OPG a partir do qual se deve desparasitar o animal. Alguns autores são da opinião que quando 25% do grupo de equinos tenha um valor OPG superior a 200, os animais desta exploração devem ser

desparasitados (Uhlinger, 1990). Contudo, com o desenvolvimento de resistência que surgiu como resultado da utilização frequente de anti-helmínticos, os equídeos em situação de pastoreio facilmente atingem esse limiar. Por isso, é prudente utilizar um limiar um pouco mais elevado, 500 OPG, atendendo a que regra geral os equídeos apresentam sempre contagens muito elevadas, por vezes superiores às observadas em pequenos ruminantes, evitando também um ritmo de desparasitação demasiada intenso que contribua para o aparecimento de resistências (Madeira de Carvalho, 2006b). É importante salientar, que a decisão de proceder à desparasitação deve tomar em consideração o estado geral do animal e a sintomatologia associada a doenças parasitárias, pois até hoje nenhum estudo foi realizado para avaliar a escolha dos valores limite sob ponto de vista da avaliação do risco de saúde e/ou do controlo parasitário (Madeira de Carvalho, 2006b; Nielsen, 2009).

**Tabela 1-** Classificação da infeção em função dos níveis de OPG (baseado em Soulsby, 1986 e Madeira de Carvalho, 2001)

<b>Número de OPG</b>	<b>Nível de infeção</b>
0-450	Infeção leve
500-1000	Infeção moderada
> 1000	Infeção forte

Alguns autores afirmam que não existe correlação linear entre o número de ovos eliminados nas fezes e o número de formas adultas de estrongilídeos presentes no hospedeiro (Bru, 1999; Reinemeyer, 2009; Nielsen *et al.*, 2010). O OPG parece estar relacionado com a idade do animal, o grau de infeção e os estados fisiológico e imunitário do hospedeiro (Bru, 1999). Porém, os métodos quantitativos permitem ter uma ideia aproximada da infeção real do hospedeiro e com base nos resultados decidir a administração ou não do antiparasitário, já que os animais com infeções maciças são responsáveis pela eliminação de 80% dos ovos que se desenvolvem até à forma infetante e conseqüentemente pela infeção dos restantes animais (Byrd, 2012). Para além desta razão, existem outras também muito importantes, tais como; a) a avaliação e controlo da eficácia dum anti-helmíntico (eficaz quando redução entre 95 a 100% de OPG); b) avaliação da contaminação ambiental, em particular das pastagens já que estas são a principal via de infeção para o hospedeiro; c) avaliação, no decurso de um inquérito epidemiológico, do nível de parasitismo de populações de pequena ou grande dimensão; d) determinação do Período de Reaparecimento de Ovos (PRO) (Eysker, 2008); e) realização do Teste de Redução da Contagem de Ovos Fecais, sendo o

método de eleição para o rastreio das resistências aos antihelmínticos (Madeira de Carvalho, 2006b). Contudo, na interpretação da contagem de ovos pela técnica de McMaster, devem ter-se em conta uma série de limitações. A consistência das fezes, a distribuição não homogénea dos ovos, a percentagem de parasitas sexualmente maduros, o desenvolvimento de imunidade e as variações sazonais nessa eliminação, podem levar a erros na interpretação dos resultados (Madeira de Carvalho, 2000).

Em relação aos métodos qualitativos estes são essencialmente baseados na diferença de densidade que existe entre o líquido de diluição e os ovos parasitários. A técnica de Willis é utilizada para a pesquisa de ovos mais leves, como é o caso dos nematodes, enquanto a de Sedimentação é útil nos ovos mais pesados, como é o caso dos Tremátodes, Céstodes e oocistos de *Eimeria leuckarti* (Urquhart, 1996).

Apesar da importância clínica, a infeção pré patente de estrogilidose não é fácil diagnosticar (Proudman & Matthews, 2000). Por esta razão, a pesquisa na área de imunodiagnóstico tem revelado resultados muito interessantes (Smets *et al.*, 1999; Hodgkinson, 2006; Toit *et al.*, 2007; Pickles *et al.*, 2010; Stratford *et al.*, 2011). Porém, a sua aplicação na clínica corrente é ainda inviável, pois implica equipamentos e meios dispendiosos, e até ao momento tem sido mais aplicada em trabalhos de investigação de base clínica ou epidemiológica.

### **2.3. Tratamento e Controlo das principais parasitoses em Equídeos**

Os parasitas são reconhecidos como causa de doença clínica em equídeos desde o Império Romano e durante séculos não foi possível realizar tratamentos e controlos eficazes (Nielsen & Kaplan, 2008). Ainda hoje existem lacunas graves no que diz respeito ao controlo das principais parasitoses quer pelo desconhecimento de muitos proprietários relativamente ao fenómeno parasitário e da necessidade do seu controlo e consequente utilização de recomendações baseadas em conceitos e conhecimentos de há 40-50 anos atrás, quer pelo papel pouco ativo do médico veterinário no tratamento e controlo das parasitoses. Face a esta situação aumentou a prevalência das parasitoses com repercussões importantes na saúde, bem-estar e performance dos equídeos, assim como no desenvolvimento de resistências aos fármacos AH. Deste modo é imperativo que os médicos veterinários adquiram novos conhecimentos no âmbito da biologia e epidemiologia dos parasitas, quanto às medidas de controlo que implicam o uso racional dos fármacos antiparasitários tendo em conta a prevenção das resistências e o seu impacto no ambiente (Nielsen & Kaplan, 2008), e que transmitam esses conhecimentos aos proprietários dos animais. As formas de criação dos equídeos favorecem a grande prevalência de infeções parasitárias, já nas primeiras semanas de vida. Apesar dos parasitas poderem ser encontrados ao longo de toda a vida dos equídeos, a exposição

inicial, que resulta em doença e/ou imunidade, ocorre durante os primeiro 12 meses de idade (Reinemeyer, 2008a). Assim, em muitos países realizam-se programas de controlo intensivos e frequentes baseados apenas na administração de fármacos antiparasitários. Esta prática é vista pelos proprietários como um investimento futuro já que a suposição popular assume que os animais que não sofrerem doença parasitária enquanto poldros serão maiores, mais bonitos, rápidos e mais férteis. Porém, o objetivo do controlo parasitário não consiste na erradicação do parasitismo nem na completa prevenção da infeção. Como foi visto anteriormente, a exposição a determinados parasitas resulta no desenvolvimento de imunidade adquirida, que em última análise, é uma estratégia de controlo mais eficaz do que uma administração excessiva de fármacos antiparasitários (Reinemeyer, 2008). A monitorização parasitológica do animal/exploração deve ser efetuada 2 a 6 vezes/ano, pelo menos, seguindo as épocas de transição do estábulo para a pastagem (inverno/primavera) ou vice-versa (verão/outono) (2X/ano) ou durante as estações do ano (4 a 6X/ano) (Madeira de Carvalho, 2006b)

#### **2.4. Administração de fármacos antihelmínticos**

As medidas de controlo das infeções parasitárias envolve inevitavelmente o uso de fármacos antihelmínticos (Corning, 2009, Francisco et al., 2011). Porém, na atualidade, o principal objetivo do uso destes fármacos num programa de controlo efetivo não é erradicar os parasitas do hospedeiro (já que é algo praticamente impossível), mas sim reduzir a eliminação de ovos para o ambiente e, portanto prevenir futuras infeções (Kaplan & Nielsen, 2008).

Um dos primeiros medicamentos utilizados para o tratamento de parasitoses em cavalos foi o óleo de xenopódio, em 1918. Desde esse período até à atualidade os fármacos antiparasitários utilizados têm variado ao longo dos tempos (Madeira de Carvalho, 2001; Traversa, 2009). Desde a utilização da fenotiazina nos anos 1940 até aos anos 1980, novos grupos de fármacos antiparasitários foram disponibilizados no mercado aproximadamente a cada 10 anos (Lyons *et al.*, 1999). Contudo, os principais grupos que se encontram disponíveis na atualidade englobam as lactonas macrocíclicas, os benzamidazóis, as tetrahidropirimidinas, os pró-benzamidazóis e heterocíclicos, sendo estes dois últimos raramente utilizados no controlo parasitário em equídeos (Madeira de Carvalho, 2006b; Corning, 2009). Na tabela seguinte (tabela 2) são apresentados os principais grupos de fármacos antiparasitários utilizados em equídeos no mercado português com referencia também ao seu mecanismo de ação e espetro de ação e o respetivo nome comercial.

**Tabela 2-** Fármacos anti-helmínticos mais utilizados em Portugal. Baseado em Spinosa et al. (2004), Madeira de Carvalho (2006b) e Apifarma (2011).

Classe	Substância ativa	Mecanismo de ação	Espetro de ação	Medicamento
<b>Lactonas macrocíclicas- Avermectinas (AVM)</b>	Ivermectina (IVM)	Agonistas do GABA e do glutamato- ligam-se aos canais de cloro, hiperpolarizando as células nervosas e musculares	Eficácia sobre os estádios adultos e imaturos não enquistados de nemátodos (L4 e L5) gastrintestinais e nas formas larvares da família Oestridae e em diversos insetos e ixodídeos	Eqvalan® (Merial) Equimel® (Virbac) Ecomectin® (Divasa Farmavic) Maximec® 18,7 mg/g (Divasa Farmavic) Ecomectin® 18,7 mg/g
<b>Lactonas macrocíclicas- Milbemicinas (MBM)</b>	Moxidectina (MOX)	Idem como a IVM	Idem como a IVM mas apresenta alguma eficácia nas larvas enquistadas dos ciatostomíneos (LT3 e L4)	Equest® (Pfizer)
<b>Benzimidazóis (BZM)</b>	Febendazol (FBZ)	Bloqueio da síntese de tubulina; inibição da fumarato redutase, do transporte da glucose e da síntese de ATP	Eficácia elevada em nemátodos contra estádios adultos e imaturos (L3, L4 e L5) em desenvolvimento. Atividade ovicida. Eficácia relativa frente a <i>Parascaris sp.</i> e <i>Strongyloide sp.</i> Eficácia variável frente a céstodes e tremátodes	Panacur® 10% (Intervet)
<b>Sais de Pirantel</b>	Pamoato de Pirantel	Bloqueador neuromuscular. Induz uma ativação nicotínica marcada e persistente - paralisia do parasita	Eficácia sobre os grandes e pequenos estrôngilos (incluindo as estirpes resistentes aos Benzamidazóis), oxiúros, <i>Parascaris equorum</i> e no tratamento de <i>Anoplocephala spp.</i>	Strongid® Cavalos Pasta oral
<b>Associações de classes de fármacos antihelmínticos</b>	Ivermectina + Praziquantel	Idem como a IVM + ação do praziquantel, que promove alterações no fluxo de cálcio e com consequente alteração da membrana celular- paralisia do parasita	Idem como a IVM mas também eficácia em céstodes devido às suas propriedades cestocidas	Eqvalan®Duo (Merial) Equimax® (Virbac)
	Moxidectina + Praziquantel	Idem como a MOX + ação do praziquantel, que promove alterações no fluxo de cálcio e com consequente alteração da membrana celular- paralisia do parasita	Idem como a MOX mas também eficácia em céstodes devido às suas propriedades cestocidas	Equest® Pramox (Pfizer)

Os fármacos antihelmínticos mais utilizados na atualidade são as lactonas macrocíclicas, particularmente a ivermectina. Em menor escala utiliza-se o Febantel/Febendazol e a Moxidectina (Madeira de Carvalho, 2001). A ivermectina apresenta um amplo espectro de ação e uma boa margem de segurança, sendo rara a ocorrência de efeitos secundários decorrente da sua administração (Tamara *et al.*, 2008). As especialidades farmacêuticas com indicação para equinos apresentam-se sob a forma de pastas para administração oral. Contudo, têm-se registado a utilização extra indicações (off-label ou extra-label) de especialidades farmacêuticas com outras formas de apresentação e diferentes vias de administração (parentéricas), que não estão indicadas para equídeos mas sim para outros hospedeiros (v.g., bovinos, ovinos e suínos) (Madeira de Carvalho, 2001) (ver anexo 2).

Num recente estudo, verificou-se a eficácia terapêutica da ivermectina em administração extra-indicação pois foi veiculada em medicamento com apresentação em unção contínua (*pour-on*), em poldros naturalmente infetados por nemátodes (Francisco *et al.*, 2011).

Vários são os trabalhos realizados para avaliar a eficácia terapêutica da desparasitação dos diferentes anti-helmínticos quer a nível mundial (Eysker *et al.*, 1992; Xiao *et al.*, 1994; Monahan *et al.*, 1996; Dorchies *et al.*, 1998; Bru, 1999; Mercier *et al.*, 2001; Boersema *et al.*, 2002; Nogueira *et al.*, 2002; Marley *et al.*, 2004; Toguchi & Chinone, 2005; Blaneck *et al.*, 2006; Craig *et al.*, 2007; Lyons *et al.*, 2008; Milillo *et al.*, 2009; Traversa *et al.*, 2009; Lyons *et al.*, 2011, Toscan *et al.*, 2012; Molento *et al.*, 2012), quer a nível nacional (Madeira de Carvalho, 2001; Madeira de Carvalho, 2003b) e nos quais as lactonas macrocíclicas apresentaram uma eficácia entre 95% a 100%. Deste modo, e uma vez que a eficácia é muito elevada em termos médios, as avermectinas/milbemicinas têm constituído o grupo de anti-helmínticos preferido pelos criadores/proprietários de cavalos e Médicos Veterinários (MV). A eficácia é particularmente interessante, atendendo à sua utilização contínua no nosso País desde a sua introdução há cerca de 20 anos (Madeira de Carvalho, 2006b).

Nos últimos anos surgiu uma nova classe de anti-helmínticos, os ciclooctadepsipeptidos PF 1022A e o emodepside, que apresentam um mecanismo de ação diferente das substâncias ativas mais antigas e cuja sua atividade mostrou ser eficaz na eliminação de diversos nemátodes gastrintestinais do cão, de ruminantes, de suínos, de aves e de ciatostomíneos dos cavalos (Harder & Samson-Himmelstjerna, 2002; Harder *et al.*, 2003). Recentemente foi também desenvolvida outra classe de anti-helmínticos, os derivados de amino-acetonitrilo (AAD), para uso em ruminantes, Kaminisky *et al.*, (2008). Porém, ainda não existem dados disponíveis sobre o seu potencial como antiparasitários para equídeos (Kaplan & Nielsen, 2008).

## 2.5. Resistência aos antihelmínticos

Em 1966, Drudge and Lyons identificaram o *Strongylus vulgaris* como o primeiro alvo de um programa de controlo parasitário devido ao seu elevado potencial patogénico (associado ao desenvolvimento de cólica). A determinação do intervalo entre tratamentos baseou-se no ciclo de vida e no período de reaparecimento de ovos (PRO). Estes autores recomendaram tratar todos os cavalos de uma exploração de dois em dois meses ao longo do ano para suprimir a eliminação dos ovos e consequentemente para minimizar a transmissão dos parasitas. Também sugeriram a rotação das diferentes classes de AH para assegurar que todos os grupos dos parasitas fossem atingidos com o tratamento escolhido (Nielsen, 2009). Estas medidas foram aplicadas a nível mundial, tendo sido um sucesso na redução da morbilidade e mortalidade dos cavalos pela diminuição da prevalência de *S.vulgaris* (Kaplan & Nielsen, 2008). Já nesta época a resistência aos anti-helmínticos existentes (fenotiazina) era conhecida. Porém, como se tratou de um único caso, não foi considerado um potencial problema nas explorações de equinos.

Nos anos 1980 e 1990 surgiram novas classes de antiparasitários, as pirimidinas e as avermectinas/milbemicinas respetivamente, ambas de largo espectro de ação. Por isso, o objetivo da rotação entre as diferentes classes já não é só afetar todos os parasitas envolvidos na infeção, mas sim prevenir a resistência anti-helmíntica. Entenda-se como resistência parasitária "um fenómeno pelo qual o fármaco não consegue manter a sua eficácia, quando utilizada nas mesmas condições, após um determinado período de tempo" (Conder & Campbell, 1995). Os mesmos autores consideram o diagnóstico "positivo" para resistência quando a eficácia de um fármaco esteja abaixo de 95%. A técnica mais utilizada para avaliar esta eficácia é o Teste de Redução da Contagem de Ovos Fecais (TRCOF). Citando uma frase de Reinemeyer (2009) "*Anthelmintic resistance is only one manifestation of genetic change in a parasite population in response to various selection pressures*" verifica-se, que a resistência parasitária tem como causa principal a forte pressão de seleção exercida pelos AH, baseada na utilização intensiva, insensata e em conhecimentos pouco científicos. Aliás, a velocidade de aparecimento de resistências é proporcional ao número de desparasitações anuais (Bru, 1999). Em estudos realizados em diferentes países do mundo, registaram-se valores alarmantes referentes ao número de tratamentos antihelmínticos por ano, chegando muitas explorações a desparasitar os seus animais em todos os meses do ano (Nielsen, 2009). Reinemeyer (2009) refere que muitas explorações desparasitam os seus poldros com ivermectina quando estes ainda não têm um mês de idade e com intervalos de dois meses ao longo do ano. Estas ações tomaram repercussões sérias



identificando-se em todo o mundo vários casos de resistência ou suspeita de resistência às classes de AH existentes no mercado, incluindo às lactonas macrocíclicas (Le Jambre, 1999; von Witzendorff *et al.*, 2003; Blanek *et al.*, 2006; Milillo *et al.*, 2009, Traversa *et al.*, 2009, Reinemeyer *et al.*, 2009). De acordo com Madeira de Carvalho (2001), para além da elevada frequência de administração dos AH, a utilização consistente da mesma substância ativa e administração regular em subdosagem, são as principais causas para o aparecimento de resistências.

Na atualidade, uma das maiores preocupações partilhada pelos parasitologistas dos equídeos está no controlo da infeção por ciatostomíneos. Apenas o febendazol é eficaz na remoção das formas larvares L13 enquistadas dos ciatostomíneos, que constituem a maior parte da população destes parasitas no hospedeiro e são as principais responsáveis pela doença clínica (Kaplan & Nielsen, 2008). Alguns estudos demonstram uma eficácia moderada da moxidectina sobre estas formas parasitárias (Lyons *et al.*, 1999). Assim, a utilização contínua de outras substâncias ativas, o ciclo de vida curto destes parasitas que permuta a transmissão dos genes resistentes à descendência mais rapidamente, assim como o papel pouco ativo do médico veterinário assistente, conduziram a uma resistência generalizada e prevalente à fenotiazina, benzimidazóis e piperazina (Lyons *et al.*, 1999). Como corolário do exposto, nos últimos tempos, tem-se observado uma redução da eficácia das lactonas macrocíclicas, quer da ivermectina, quer da moxidectina no controlo desta parasitose (Traversa *et al.*, 2009, Milillo *et al.*, 2009). A facilidade com que nos dias de hoje se pode adquirir e administrar os antihelmínticos para equídeos leva a que os donos destes animais recorram cada vez menos ao serviço do médico veterinário assistente para o controlo parasitário. Contudo, o médico veterinário pode e deve prestar um serviço indispensável elaborando um programa de controlo adaptado a cada animal ou exploração, auxiliando na sua implementação e monitorizando a sua eficácia (Monahan, 2000). O mesmo autor cita uma frase que reflete bem a situação atual do papel do MV no controlo dos parasitas de equídeos: “Na atualidade, um aspeto importante em relação ao controlo parasitário, que deverá diferir do passado é o facto de os veterinários não deverem basear a sua atuação clínica na prescrição e venda de fármacos anti-helmínticos, eles terão sucesso através do aconselhamento prestado aos proprietários sobre a necessidade ou não de desparasitar, qual e o porquê da escolha do fármaco, e como e quando devem usá-lo”.

## **2.6. Medidas importantes no controlo integrado das parasitoses equinas**

Na perspetiva de um controlo integrado das parasitoses equinas é essencial que os veterinários restabeleçam o seu envolvimento no controlo parasitário, através da conceção de programas baseados em evidências sustentáveis e orientadas, como também nos protocolos de profilaxia (Kaplan & Nielsen, 2008).

Assim, o desenvolvimento destes programas deve ser baseado numa abordagem integrada, tendo em conta as medidas que de seguida se enunciam.

### **2.6.1. Tratamento seletivo**

Neste tratamento a administração de fármacos AH é feita após a realização de análises coprológicas individuais ou do grupo (OPG500) ou animais que apresentem sintomatologia compatível com parasitoses gastrintestinais (anexo 3). Este método de tratamento/controlo parasitário permite a utilização racional dos fármacos antiparasitários e conseqüentemente reduz o risco de contaminação ambiental. Para uma correta monitorização deverão ser realizados exames coprológicos a cada 90 a 120 dias (Molento, 2005). Porém, num estudo realizado em Portugal de 2005 a 2011 para avaliar o parasitismo intestinal em asininos, verificou-se que a realização de uma desparasitação trimestral seletiva promoveu: a) aumento da taxa de animais positivos à infeção parasitária b) aumento do nível de infeção e da biodiversidade parasitária (Sousa *et al.*, 2011).

### **2.6.2. Tratamento estratégico**

Neste caso a administração de fármacos AH é realizada nas épocas em que há maior eliminação de ovos pelo hospedeiro e maior quantidade de larvas nas pastagens. Também se aplica aos animais recém-chegados à exploração para evitar a contaminação das pastagens e posterior infeção dos animais residentes.

### **2.6.3. Desparasitação fundamentada no conhecimento pormenorizado dos fármacos AH**

O médico veterinário assume um papel crucial na transmissão de conhecimento ao proprietário sobre as características principais dos fármacos antiparasitários (Lendal *et al.*, 1998), nomeadamente a dose e via de administração, assim como na sua eficácia e espectro de ação. Importante salientar que se devem utilizar somente compostos que tenham eficácia comprovada nas doses recomendadas (Molento, 2005).

### **2.6.4. Rotação lenta e anual dos grupos de fármacos de AH**

Este procedimento deve ser realizado para evitar ou reduzir o desenvolvimento de resistências aos grupos de fármacos antiparasitários utilizados. É importante salientar

que a rotação de anti-helmínticos não deve substituir os testes de rotina para avaliar a resistência aos fármacos utilizados (Kaplan & Nielsen, 2008).

#### **2.6.5. Avaliação da eficácia terapêutica do anti-helmíntico**

O Teste da Redução da Contagem de Ovos Fecais (TRCOF) é o método de eleição para a avaliação da eficácia dos anti-helmínticos. Porém, na atualidade é pouco utilizado na prática clínica em equinos. Num estudo realizado na Dinamarca (Lendal *et al.*, 1998) apenas 25% dos proprietários incluía este teste nos seus programas de controlo. Em Portugal, Martins *et al.* (2007), realizaram um estudo entre 2002 e 2005, em que observaram que somente 15% dos proprietários realizavam a avaliação da eficácia terapêutica dos fármacos AH.

#### **2.6.6. Manutenção da população refúgio**

Este termo é utilizado para definir toda a população parasitária que não foi exposta ao antiparasitário, correspondendo às formas livres encontradas na pastagem, às formas parasitárias que não entraram em contacto com o fármaco, como é o caso das larvas enquistadas dos ciatostomíneos e aos parasitas dos animais não tratados (Madeira de Carvalho, 2006b; Reinemeyer, 2009). Esta última situação pode ser controlada já que ao não tratarmos os animais que apresentem contagens de ovos negativas ou reduzidas, mantemos uma população parasitária suscetível aos anti-helmínticos e desta forma os ovos eliminados por estes contribuem para a diluição da frequência de genes resistentes (e portanto para o retardamento da evolução das resistências), sem contribuir significativamente para a contaminação do ambiente (Milillo *et al.*, 2009; Kaplan & Nielsen, 2008). Atenção especial deve ser tida no uso de grupos de fármacos antiparasitários com tempos de semivida longos, como é o caso das lactonas macrocíclicas, uma vez que a concentração residual mínima impede o estabelecimento e a reprodução de indivíduos suscetíveis, favorecendo a seleção parasitária e prejudicando deste modo a população em refúgio (Molento, 2005).

#### **2.6.7. Rotação de pastagens**

A rotação de pastagens é uma estratégia de controlo efetiva se for realizada corretamente. Uma pastagem só deve ser utilizada uma única vez em cada estação de pastoreio (Lendal *et al.*, 1998) de modo a garantir que no período de repouso, haja uma destruição/inviabilização das larvas, minimizando o risco de infeção dos animais no seu regresso a essa pastagem (Cezar *et al.*, 2008).

#### **2.6.8. Manutenção da higiene nas pastagens**

A remoção periódica (idealmente semanal) das fezes da pastagem é aconselhada. No caso de animais estabulados a remoção das fezes deve ser diária. Este procedimento reduz a contaminação do ambiente e, portanto a infecção/reinfecção dos animais.

#### **2.6.9. Pastagens mistas com Ruminantes**

Esta medida tem como princípio a especificidade dos nemátodes (Fernandes *et al.*, 2004), ou seja, a grande maioria das larvas infetantes dos equinos quando ingeridas pelos Ruminantes vão ser destruídas. O mesmo acontece na situação inversa, com exceção para o nemátode *Trichostrongylus axei* (Monahan *et al.*, 1996; Anazi & Alyousif, 2011), que pode provocar sintomatologia clínica em cavalos quando presente em grandes quantidades.

#### **2.6.10. Evitar o excesso de encabeçamento animal**

Como os principais parasitas dos equídeos têm um ciclo monoxeno, o aumento do número de animais por hectare, leva a um aumento também da quantidade de fezes por hectare e apesar de os equídeos não terem como hábito a coprofagia (exceto nos poldros muito jovens que ingerem as fezes das mães), a proximidade dos animais com as fezes aumenta a probabilidade de ingerirem as larvas infetantes (Medica *et al.*, 1996).

#### **2.6.11. Controlo biológico da estrogilidose equina com o uso de fungos nematófagos**

Devido ao aumento da resistência parasitária aos AH, é evidente nos últimos anos, o número crescente de trabalhos realizados com recurso a métodos alternativos, nomeadamente os biológicos, para o controlo das parasitoses animais. A utilização de alguns fungos nematófagos dos géneros *Arthrobotrys*, *Duddingtonia* e *Monacrosporium* têm demonstrado boa eficácia seja *in vitro* ou *in vivo*, na redução das larvas infetantes e portanto da contaminação ambiental, o que revela a importância do uso destes agentes nos programas de controlo integrado de nematodes dos equídeos (Larsen, 1999; Santos *et al.*, 2001; Mota *et al.*, 2003; Castro *et al.*, 2003; Madeira de Carvalho *et al.*, 2007b; Tavela, 2010).

## 2.7. Evolução dos serviços de Controlo e Diagnóstico no Mercado Mundial

Nos últimos anos tornou-se evidente que os programas de controlo e diagnósticos até então utilizados eram pouco elaborados. Face à existência de doenças clínicas graves associadas às infeções parasitárias e ao aumento das falhas terapêuticas, é indispensável que os proprietários e Médicos Veterinários assistentes reestruturem os programas utilizados para minimizar a resistência aos fármacos AH.

Deste modo, e graças ao avanço técnico/científico, foram criados serviços *on line* com uma abordagem inovadora no controlo das parasitoses e cujo princípio é comum aos diferentes serviços - a desparasitação sustentada, isto é, realização de exames parasitológicos fecais como, por exemplo, pela técnica de McMaster, para a Contagem de Ovos Fecais (COF), para avaliar a necessidade ou não de desparasitar um animal ou grupo de animais e/ou a eficácia do antihelmíntico utilizado.

Como exemplos destes serviços pode referir-se o *Diagnosteq*, da Universidade de Liverpool; o *Diagnostiek parasitologisch mestonderzoek paard*, do Dr. Barend Blankenstein, *Horsemen's Laboratory*, do Dr. John Byrd e o *Eggzamin™*, criado pela Christine Court, a Meredith Reiff e a Dr.<sup>a</sup> Juliette Carrol.

Nas páginas *web* destes serviços encontram-se disponível uma vasta informação sobre a epidemiologia e ciclo biológico dos principais parasitas gastrintestinais dos equídeos, a patogenia associada à infeção, os fármacos antiparasitários disponíveis no mercado, os protocolos atuais de desparasitação, os exames parasitológicos realizados, as principais medidas de controlo e as respostas às perguntas mais frequentes relacionadas com esta área (em inglês FAQs- Frequently Asked Questions).

De um modo sucinto, os clientes ao usufruírem destes serviços, recebem a informação relativa às regras de colheita, armazenamento e envio de amostras fecais e após o processamento laboratorial, terão acesso à interpretação dos resultados dos testes assim como um apoio em todos os aspetos envolvidos neste controlo.

Esta revisão bibliográfica termina com citação de uma frase que, de um modo sucinto, evidencia a importância de elaborar bons programas de controlo antiparasitário, face às dificuldades encontradas na atualidade.

“Em termos de prioridades de manejo, a execução de um programa de controlo antiparasitário é apenas secundário ao fornecimento de água limpa em quantidade e de alimento em qualidade aos cavalos da exploração!” (Friedman, 2000 citado por Madeira de Carvalho, 2001).

## Capítulo 2 – Parte experimental

### 1. Introdução

Como resultado da subvalorização da implementação de bons programas de controlo, a necessidade de instituir medidas que tenham especial atenção na atualidade a esta problemática e portanto de para a introduzir bons programas de controlo na clínica dos equídeos. Assim, em Julho de 2011 surgiu a ideia de realização em Portugal do Projeto Rastreio STOP (Simple Teste de Ovos Parasitários), de apoio ao controlo antiparasitário em cavalos aquando da sua desparasitação com ivermectina ou ivermectina associada com praziquantel.

Inicialmente designado por “Desparasitação Sustentada”, foi adaptado e modificado a partir de um programa semelhante já desenvolvido na Grã-Bretanha pela “Merial Saúde Animal”, o “SMART”, que significa “**S**implesmente **M**onitoriza o parasitismo e **A**valia o **R**isco para o cavalo, **T**ratando se necessário com o antiparasitário mais apropriado Ou seja, **S**implesmente, **M**onitoriza e **A**valia o **R**isco e o **T**ratamento (Merial, 2011).

A execução deste projecto foi fruto de uma colaboração entre a Merial Saúde Animal, Grupo Sanofi e o Centro de Investigação Interdisciplinar em Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa (CIISA/FMV/UTL), envolvendo a autora em trabalhos de marketing/planeamento, saídas de campo e trabalho laboratorial.

### 1.1 Objetivos

Foram objetivos do projeto Rastreio STOP os seguintes itens desenvolvidos pela autora:

- a) O diagnóstico do estado de infeção parasitária de exploração através de colheita de fezes dos equídeos para contagens de ovos, culturas fecais e a realização de inquéritos aos proprietários desses animais;
- b) O início do mapeamento dos principais parasitas gastrointestinais dos Equídeos em Portugal Continental;
- c) A avaliação do nível, e tipo de infeção parasitária no(s) cavalo(s), através da determinação do OPG e identificação de L3 no dia da desparasitação e ao 21º dia após o tratamento;
- d) A avaliação da necessidade de monitorização do grau de infeção parasitária previamente à desparasitação;
- e) A avaliação da eficácia terapêutica do programa de controlo anti-helmíntico com base na utilização de ivermectina ou ivermectina+praziquantel;

- f) Garantir a eficácia contínua dos antihelmínticos utilizados e contribuir para a implementação de programas de controlo parasitário eficazes em Equídeos;
- g) Promover a interação Universidade/Empresa na resolução de problemas importantes da Sanidade dos Equídeos

Assim, com a execução do projeto Rastreio STOP, procura-se que haja uma implementação direta de programas de controlo parasitário eficazes, através de avaliação parasitológica prévia à desparasitação, pois deste modo, irá permitir a maximização da relação custo-benefício de um programa de controlo antiparasitário, a maximização da resistência natural dos equídeos às parasitoses, o uso racional dos anti-helmínticos, a redução do risco de resistências aos AH e a redução do risco de contaminação ambiental, ocupando este último na atualidade um papel de extrema importância.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1. Estratégia de marketing na preparação do projeto**

Para preparação do Projeto Rastreio STOP foram realizadas reuniões entre as instituições supracitadas nas quais ficaram definidas as condições de realização do projeto nomeadamente no que diz respeito à metodologia e materiais necessários para a sua execução, assim como averiguação de necessidades de terreno entre a distribuição, definição de estratégia de marketing e comunicação do possível projeto.

Desde a conceção até a execução prática foram realizadas atividades que permitiram desenvolver algum conhecimento sobre os princípios básicos das estratégias em marketing, nomeadamente na criação de possíveis acrónimos, na seleção da informação das brochuras para os médicos veterinários e para os proprietários e na análise comparativa das propostas e dos orçamentos sugeridos para a seleção da agência de comunicação integrada. A agência selecionada propôs um KIT com os seguintes materiais: uma folha de rosto que identificava o projeto; dois folhetos informativos sobre a metodologia do projeto (um para os proprietários e outro para médicos veterinários), dois sacos para recolha de fezes (o primeiro para recolha das fezes imediatamente antes da desparasitação e o segundo para recolha das fezes no 21º dia após a desparasitação) e um envelope de correio verde (onde deveriam ser colocados os dois sacos com as fezes recolhidas para posterior envio ao LPDP sem custos) (figura 26). No exterior dos sacos, anteriormente mencionados, existe um autocolante no qual devem ser preenchidos, pelos proprietários/MV, as informações solicitadas e consideradas relevantes para este estudo (ver anexo 4). Para validar as

amostras e permitir a realização das técnicas laboratoriais, os proprietários têm de colocar no interior do envelope a prova de utilização do medicamento antiparasitário adquirido (nº de lote na tampa da caixa de cartão) (figura 27). Posteriormente, os proprietários e o médico veterinário assistente do respetivo animal recebem um relatório com os resultados das análises coprológicas realizadas (ver anexo 5).

**Figura 26 e 27-** Materiais que constituem o KIT. Receção de um KIT no LPDP da FMV/UTL (assinalado a azul a tampa da caixa de cartão com o nº de lote para validar a amostra) (Originais da autora)



## 2.2. Área de estudo

Uma das razões que faz deste projeto pioneiro no nosso País é a sua aplicação em termos de área geográfica, pois foi divulgado em todo Portugal Continental. Desta forma, com a integração de diferentes regiões do País no projeto, é possível estabelecer um mapeamento dos principais parasitas gastrintestinais nestes animais, assim como uma análise de eventuais associações/relações entre a área em estudo e os parasitas encontrados quer quantitativa, quer qualitativamente.

## 2.3. Animais e manejo

Neste estudo foram incluídos todos os equídeos cujos proprietários/M.V. participaram na campanha ao comprarem os medicamentos antiparasitários do laboratório Merial. Não foram utilizados quaisquer critérios de exclusão referentes à raça, idade e sexo.

Em termos parasitológicos, um dos aspetos relevantes durante a elaboração do projeto, foi o meio de recolha de informação. Procurou-se cumprir este objetivo com a colocação dos autocolantes, já referidos, nos sacos de recolha de fezes. Nestes autocolantes (anexo 4) era solicitada a informação referente ao Médico Veterinário assistente (nome e morada), ao proprietário (nome e morada) e ao animal (nome, idade, sexo, raça, data da última desparasitação, medicamento AH utilizado, tipo de alimentação, presença de



animais coabitantes e quais, existência de doenças anteriores, onde vive- estábulo, ar livre ou sistema misto, localidade).

#### **2.4. Períodos de colheita, amostragem, tipo e conservação de material**

Existem dois períodos de maior procura de medicamentos AH pelos proprietários, que correspondem às épocas de maior risco de infeção (Primavera e Outono) e, portanto a probabilidade de se obter um maior número de amostras nestes dois períodos é mais elevada. As amostras utilizadas neste estudo foram colhidas pelos proprietários e/ou médico veterinário assistente dos animais estudados. A cada animal foram recolhidas duas amostras: uma antes e outra 21 dias após administração do medicamento. Ambas as amostras foram mantidas a temperatura entre os 2 e os 4°C até ao seu envio para o laboratório.

##### **2.4.1. Análises coprológicas**

Os métodos de diagnóstico utilizados para avaliar as amostras em estudo, foram as técnicas coprológicas quantitativas pelo método de McMaster (anexo 6), qualitativas pelos métodos de flutuação de Willis e Sedimentação natural (anexos 7 e 8, respetivamente) e a técnica de coprocultura (anexo 9). Estas técnicas são adaptadas de Thienpont *et al.* (1986), Madeira de Carvalho (2001) e Madeira de Carvalho *et al.* (2007b, c).

##### **2.4.1.1. Técnicas coprológicas quantitativas**

As técnicas coprológicas quantitativas permitem determinar a quantidade de ovos presentes nas fezes. Isto permite determinar a gravidade de infeção e o limiar a partir do qual o(s) animal(ais) deve(m) ser desparasitado(s) (Kaufmann, 1996).

A técnica laboratorial utilizada foi o método de McMaster que consiste na diluição de 2 gramas de fezes, previamente homogeneizadas, em 28 ml de solução saturada de açúcar a 25%. Após a homogeneização e filtração, a solução é colocada nas duas células de acrílico que constituem a câmara de McMaster (figuras 29 e 30). Estas são constituídas por duas lâminas, uma superior e uma inferior, e têm um volume total de 0,30ml.

**Figuras 28 e 29-** Preparação da Técnica de McMaster e preenchimento da respetiva câmara. (Originais da autora)



O limiar de deteção desta técnica é de 50 OPG. Assim, após a contagem dos ovos nas duas células, multiplica-se o valor obtido pelo fator 50, expressando-se o resultado em número de ovos por grama de fezes (OPG). Deve salientar-se que devido ao limiar de sensibilidade desta técnica se situar nos 50 OPG, um animal que apresente um resultado negativo na técnica de McMaster só deve ser considerado negativo para a infeção por **Estrongíldeos GastrIntestinais (EGI)**, se os resultados obtidos nas técnicas qualitativas e a coprocultura forem também negativas (Madeira de Carvalho, 2001).

#### **2.4.1.2 Técnicas coprológicas qualitativas**

As técnicas coprológicas qualitativas utilizadas neste estudo foram o Método de flutuação de Willis e o método de sedimentação natural.

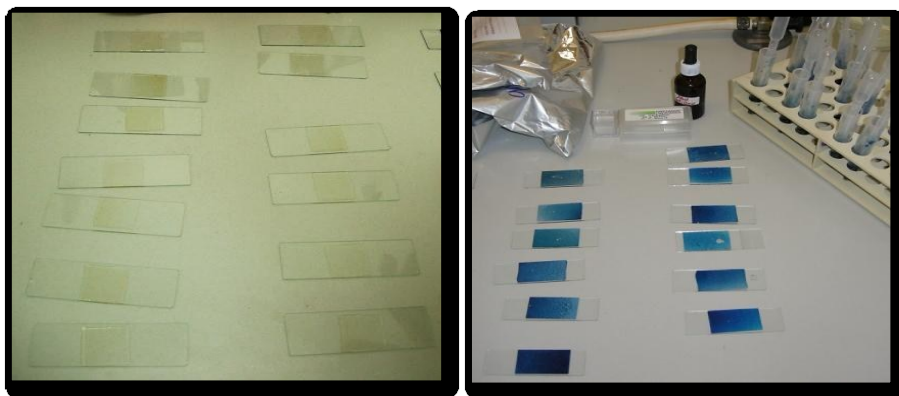
O princípio em que se baseiam as técnicas qualitativas é a diferença de densidade entre os ovos parasitários e o meio de diluição. Os ovos de nemátodes e céstodes flutuam num líquido com densidade entre 1,10 e 1,20. Já os ovos de tremátodes, mais pesados, requerem uma densidade de 1,30 e 1,35. Assim sendo, no caso da técnica de Willis procede-se à diluição das fezes num meio com densidade superior à dos ovos, ficando estes à superfície da coluna de líquido presente no tubo de ensaio (pesquisa de ovos de nemátodes e alguns céstodes). No caso da técnica de Sedimentação, a diluição das fezes é efetuada num líquido cuja densidade é inferior à dos ovos, permitindo que estes se depositem no fundo do tubo de ensaio, formando um sedimento (pesquisa de ovos de tremátodes e restantes céstodes como os do género *Anoplocephala*).

Em relação ao procedimento técnico, ambos os métodos são efetuados em simultâneo a partir da suspensão utilizada para a realização da técnica de McMaster. Assim, no caso da técnica de Willis, a suspensão restante é colocada num tubo de ensaio, preenchendo-o na sua totalidade até formar um menisco e colocando uma lamela no seu topo. Depois de 15 minutos (tempo necessário para que os ovos flutuem e adiram à

face inferior da lamela que está em contacto com o menisco do líquido), retira-se a lamela a qual é aplicada sobre uma lâmina e observa-se ao microscópio para identificação dos ovos existentes (figuras 31, 32, e 33).

No que diz respeito à técnica de Sedimentação, decanta-se o sobrenadante, formado no procedimento referido anteriormente, aproveita-se o sedimento, ao qual se aplica duas gotas de corante Azul de Metileno. O corante vai facilitar a visualização dos ovos, uma vez que cora de um tom azulado os detritos, que assim contrastam com ovos que mantêm a sua cor castanha ou dourada, pois o corante não consegue penetrar na parede dos mesmos. Por fim, com auxílio de uma pipeta de Pasteur, retira-se uma quantidade da solução corada, deposita-se numa lâmina e coloca-se uma lamela para a observação ao microscópio (figuras 32 e 33).

**Figuras 30 e 31-** Preparações das Técnicas de Willis e de Sedimentação, respetivamente (Originais da autora)



**Figura 32-** Preparações da três técnicas realizadas: McMaster, Willis e Sedimentação (Original da autora)



### 2.4.1.3. Coprocultura

Nas técnicas anteriores é muito difícil, para a grande maioria dos ovos de estrongilídeos, distinguir o género e a espécie, logo a coprocultura constitui um meio muito importante para esse efeito, já que esta técnica permite criar as condições necessárias para que os ovos evoluam até ao estágio biológico (larva L3) que vai permitir a sua identificação.

Segundo Madeira de Carvalho (2001), a realização de coproculturas para diagnóstico das parasitoses equinas é especialmente importante na pesquisa de formas larvares L3 de *Trichostrongylus axei*, *Strongyloides westeri* e principalmente de nemátodes da família *Strongylidae*, que engloba cerca de 70 espécies distintas, sendo algumas delas bastante patogénicas para os equídeos. Nesta técnica e de acordo com Madeira de Carvalho (2001), as fezes frescas são colocadas num copo de plástico até perfazer aproximadamente 75% a 85% do seu volume. Para garantir a oxigenação adequada, introduz-se uma vareta no meio da amostra. Após a pesagem do copo, humedece-se as fezes e coloca-se uma película de papel de alumínio perfurado, também este para garantir a oxigenação da amostra e evitar uma evaporação acentuada mantendo um valor de humidade relativa elevada para o desenvolvimento larvar (figura 34). Por fim, os copos são mantidos na estufa à temperatura de 26-28°C e com humidade relativa entre 70% e 80% durante 14 dias. No fim deste período de tempo, os copos são retirados da estufa, preenchem-se com água e invertem-se sobre uma placa de Petri, a qual é preenchida com água até ao bordo (figura 35).

Baseado no princípio do hidro e fototropismo positivos das larvas de estrongilídeos, só depois de 24h é que o líquido existente na placa de Petri deve ser recolhido, pois assim assegura-se o máximo da migração larvar para o exterior do copo de plástico. Depois da recolha e através de um funil, coloca-se o líquido num tubo de ensaio e cobre-se com uma película de "Parafilm®" (figura 36). As amostras são armazenadas à temperatura de 4-5°C, até contagem e identificação larvar, a qual deve ser efetuada no menor período de tempo possível, pois uma boa conservação larvar facilita a sua identificação (Madeira de Carvalho, 2001).

**Figuras 33, 34 e 35-** Preparação dos copos da coprocultura antes da sua colocação na estufa; “Repouso” das amostras durante 24h; Passagem para tubos para posterior observação microscópica das amostras. (Originais da autora)



Procedeu-se à identificação de pelo menos 100 larvas L3 por cada amostra. Para a diferenciação dos géneros/espécies de estrongilídeos, foi utilizada uma chave dicotómica que diferencia as larvas L3 com base em caracteres morfométricos, tais como o número e disposição das células intestinais, o comprimento do corpo da larva e no comprimento da cauda da bainha (Madeira de Carvalho, Fazendeiro, & Afonso-Roque, 2004, 2007a, 2008) (anexo 10).

As larvas pertencentes ao género *Cyathostomum* spp., foram agrupadas de acordo com a disposição das suas células intestinais e sendo possível identificar 8 tipos (A,B,C,D,E,F,G e H), permitindo de certo modo saber quais as espécies/grupos de espécies mais prevalentes.

Para quantificar o número de larvas por amostra, foi realizado o cálculo do número de larvas por grama de fezes (LPG), utilizando a seguinte expressão:

$$LPG = \frac{N * V}{P}$$

LPG- Larvas Por Grama de fezes

N- Número de larvas em 100 µl

V- Volume de água total em µl com as L3 da coprocultura.

N\*V = Número total de larvas L3 na amostra

P- Peso da amostra de fezes em g

$$Rendimento(\%) = \left[ \frac{LPG}{OPG} \right] \times 100$$

O rendimento permite avaliar se as condições criadas na estufa proporcionam o desenvolvimento dos ovos parasitários até larvas infetantes na amostra analisada.

## 2.5. Avaliação da eficácia dos fármacos antihelmínticos

Uma componente prática deste projeto e de interesse comum às duas instituições, foi a realização de um ensaio de eficácia do anti-helmíntico utilizado. A execução deste ensaio teve como um dos objetivos avaliar a eficácia da Ivermectina, a substância ativa presente nas duas especialidades adquiridas (Eqvalan<sup>®</sup> e Eqvalan Duo<sup>®</sup>) para o proprietário poder aderir ao Projeto Rastreio STOP, e deste modo ser possível aferir a eficácia da desparasitação.

O período de tempo necessário para avaliar a eficácia da Ivermectina é 21 dias e, como mencionado anteriormente, neste estudo foram colhidas duas amostras, a primeira no dia da desparasitação (Dia 0) e a segunda ao 21º dia após a desparasitação (Dia 21). Assim, procedeu-se ao Teste de Redução de Contagem de Ovos Fecais (TRCOF), do inglês *Fecal egg count reduction test* (FECRT), segundo a metodologia recomendada pela *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology* (WAAVP) (Coles et al., 1992), modificada por Madeira de Carvalho (2001). Para esse cálculo foi utilizada a expressão:

$$\text{TRCOF} = \left[ 1 - \frac{\text{opg}21}{\text{opg}0} \right] \times 100$$

TRCOF- Teste de Redução da Contagem de Ovos Fecais (%)

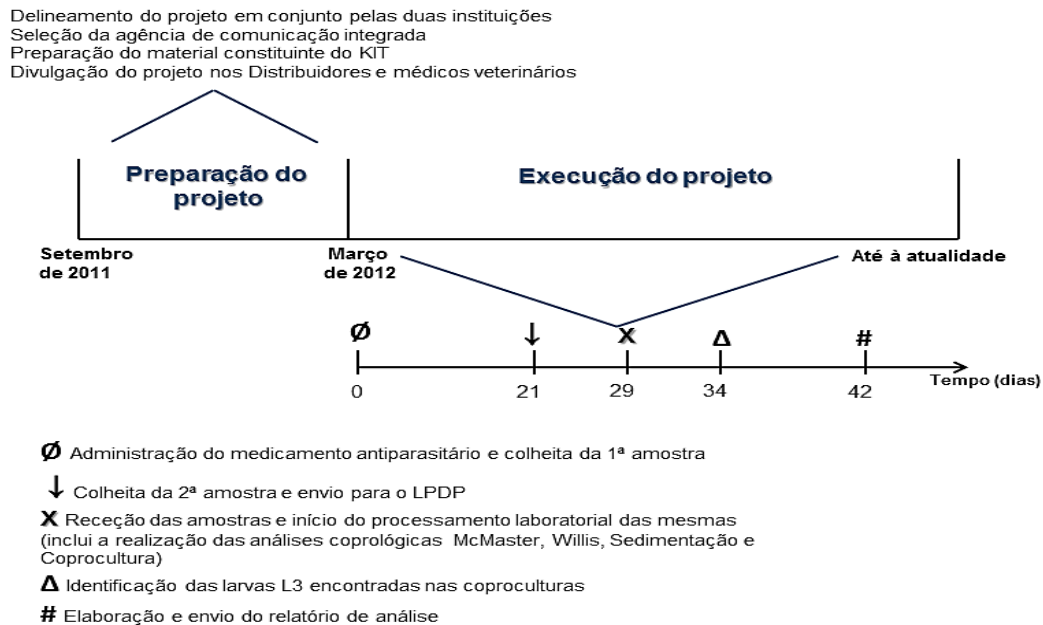
OPG0- Valor do OPG no dia da desparasitação

OPG21- Valor do OPG no dia 21

Segundo Madeira de Carvalho (2001), considera-se indicativo de resistência se for observada uma redução da contagem de ovos inferior a 90%, sendo o resultado suspeito se a redução da contagem de ovos se encontrar entre os 90 e 95%.

## 2.6. Cronograma do projeto

De seguida apresentamos um cronograma do projeto STOP como o objetivo de tornar o que foi dito anteriormente mais claro e perceptível.



## 2.7. Análise Estatística

A informação obtida neste estudo foi armazenada e organizada no Microsoft Office Excel 2010, sendo a sua análise estatística realizada através da utilização do programa de estatística R<sup>®</sup> versão 2.15.1 2012.

Para comparação dos valores de OPG com as variáveis idade e presença de animais coabitantes, utilizou-se o teste não paramétrico de Wilcoxon, pois os dados não apresentam uma distribuição normal.

Para avaliação da relação entre os valores das médias do logaritmo (OPG+1) com a idade, o tempo decorrido desde a última desparasitação e com o sexo do animal, foram utilizados os testes de correlação de Pearson e o de Spearman. A salientar que a transformação dos valores de OPG para logaritmo (OPG+1) foi indispensável para normalizar os dados.

Para avaliar a ocorrência de diferenças do número de OPG e o tipo de manejo (Ar livre, Estábulo ou Misto) recorreu-se à análise de variância (ANOVA) sendo posteriormente avaliadas as diferenças entre cada um dos grupos com o teste à posteriori de Tuckey.

Só foram considerados significativos, os resultados dos testes estatísticos com valor de p inferior a 0,05.

### 3. Resultados

#### 3.1. Considerações gerais

Apesar da continuidade desta campanha, os resultados apresentados referem-se às amostras recebidas até à data de elaboração da presente dissertação e que são correspondentes a 85 animais. Deste modo e como foram distribuídos 900 Kits, verifica-se uma resposta dos MV e dos proprietários a esta campanha de aproximadamente 9,4%.

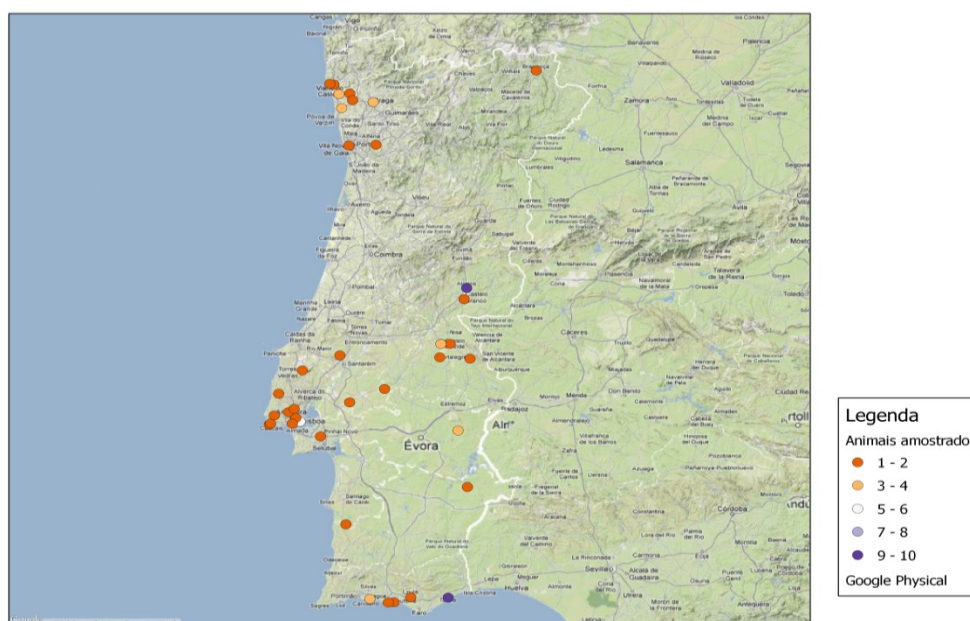
Para 13 animais só foi colhida a 1ª amostra, pelo que para estes animais não foi possível avaliar a eficácia do anti-helmíntico utilizado.

É importante salientar, que o preenchimento das fichas (autocolantes) com a informação referente ao animal foi efetuado de forma voluntária (anexo 4). Verifica-se assim a existência de um número significativo de amostras com ausência de um ou mais dados do respetivo animal.

#### 3.2. Caracterização da área geográfica

Embora este projeto tenha sido implementado em Portugal Continental, e se tenha pretendido obter amostras representativas de todo o país, verificou-se que as amostras recebidas pertencem principalmente aos distritos de Braga, Porto, Castelo Branco, Lisboa, Portalegre e Faro (figura 28).

**Figura 36-** Mapa com a localização geográfica dos animais cujas amostras foram recebidas

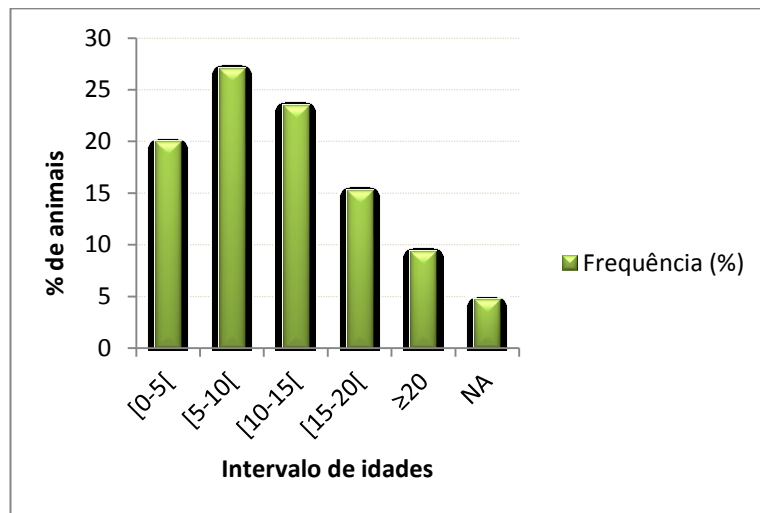




### 3.3. Caracterização dos animais

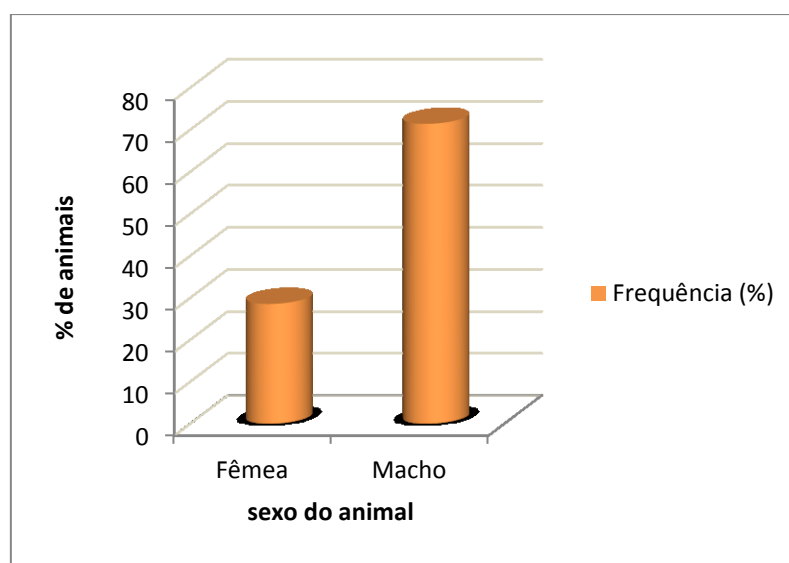
Apesar de um grande número de animais deste estudo pertencer às classes etárias compreendidas entre os 5 e os 15 anos, observa-se uma distribuição relativamente uniforme pelas classes consideradas (gráfico 1).

**Gráfico 1-** Distribuição dos animais por classe de idades (frequência relativa)



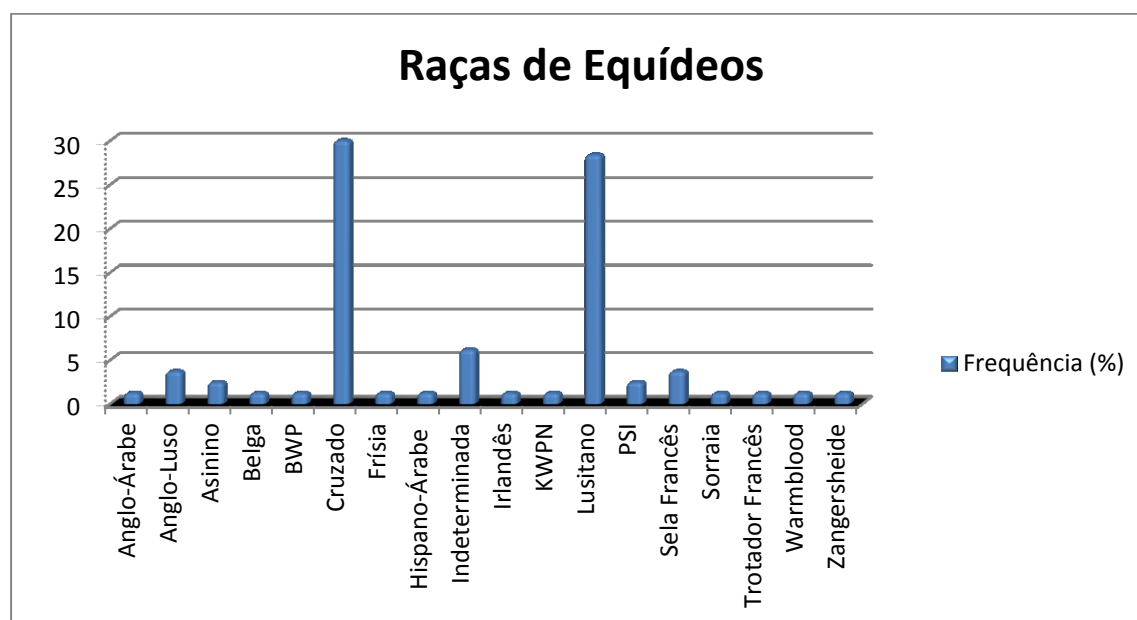
Como se pode observar no gráfico seguinte, a maioria dos equídeos deste estudo era do sexo masculino (aproximadamente 71,4%) (gráfico 2)

**Gráfico 2-** Sexo dos animais do estudo (frequência relativa)



No que diz respeito às raças de Equídeos incluídas no estudo, verificou-se que na sua grande maioria são Cruzados (cerca de 39,6%) seguindo-se a raça Lusitana (aproximadamente 28,4%) (Gráfico 3).

**Gráfico 3-** Raça dos equídeos do estudo (frequência relativa)



Verifica-se que mais de metade dos animais que participaram neste estudo vive com outros animais (tabela 3) e na sua maioria da mesma espécie (cavalos) (tabela 4).

**Tabela 3-** Presença ou não de coabitantes (frequência absoluta)

Presença de coabitantes	Nº de animais
Sim	66
Não	8
NA*	11

\*NA- Não Aplicável

**Tabela 4-** Quais os coabitantes encontrados no estudo (frequência absoluta)

<b>Coabitantes</b>	<b>Nº de animais</b>
Cavalos	36
Cavalos, cães e caprinos	1
Cavalos, cães, gatos	2
Cavalos e cães	9
Cavalos, cães, asinino e suínos	7
Cavalos, cães e suínos	2
Cavalos, cães e ovinos	1
Cavalos, gatos e aves	1
Bovinos	1
Suínos e galinhas	1

Em apenas oito animais se referiu a existência de doenças anteriores como, a dermatite por picada de culicídeos, a laminite, o Síndrome de Cushing, a linfangite e o emagrecimento progressivo (tabela 5).

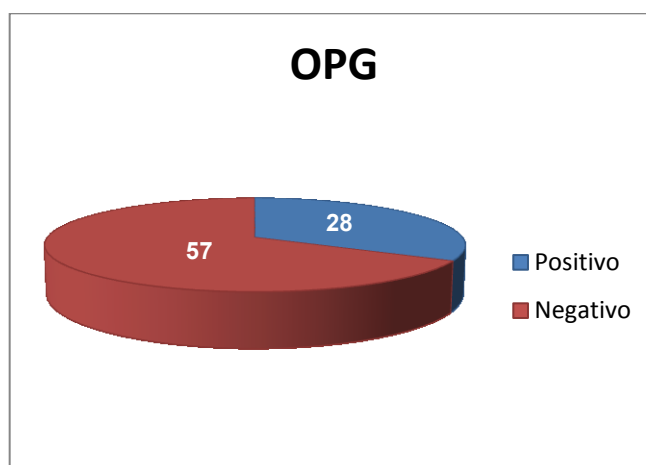
**Tabela 5 –** Presença de doenças anteriores (frequência absoluta)

<b>Doenças anteriores</b>	<b>Nº de animais</b>
Sim	8
Não	61
NA	16

### **3.4. Caracterização do OPG**

Para este parâmetro (obtido pela técnica de McMaster) observa-se que 28 animais apresentaram um resultado positivo (32.9%) e que 57 tiveram um valor zero (67.1%) nas amostras da 1ª colheita (gráfico 4).

**Gráfico 4-** Prevalência de OPG nos 85 animais analisados



Na tabela seguinte, verifica-se a frequência e prevalência da infecção parasitária nos animais do estudo, em função dos níveis de OPG, verificando-se que existe maior prevalência de infecções parasitárias leves (tabela 6).

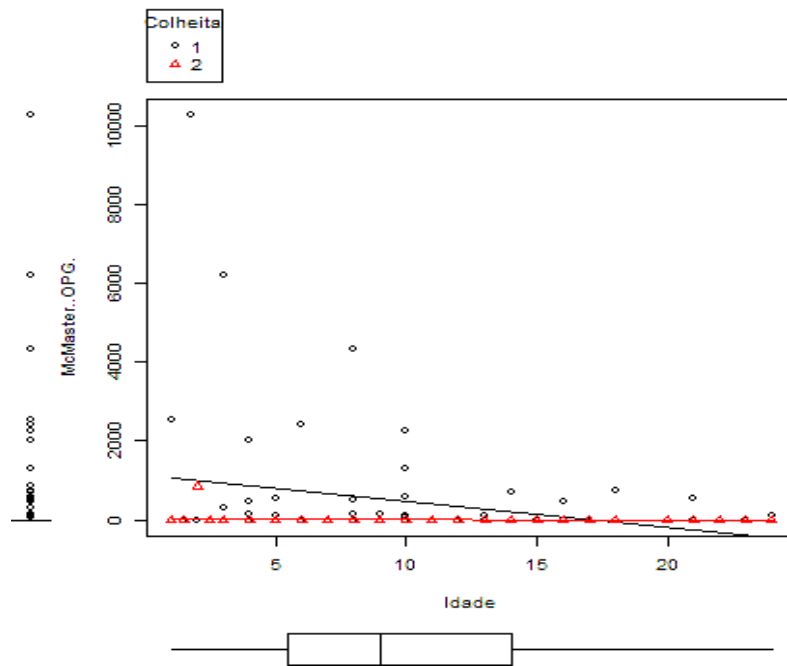
**Tabela 6-** Frequência absoluta observada nos animais de acordo com a categoria de OPG

<b>Categoria de OPG</b>	<b>Frequência</b>	<b>Prevalência</b>
Leve	13	46,4
Moderada	6	21,4
Maciça	9	32,2

#### **3.4.1. OPG e idade dos animais**

Neste estudo a relação entre o aumento da idade dos animais e a diminuição do OPG não foi considerada estatisticamente significativa ( $p= 0.1357$ ) (gráfico 5)

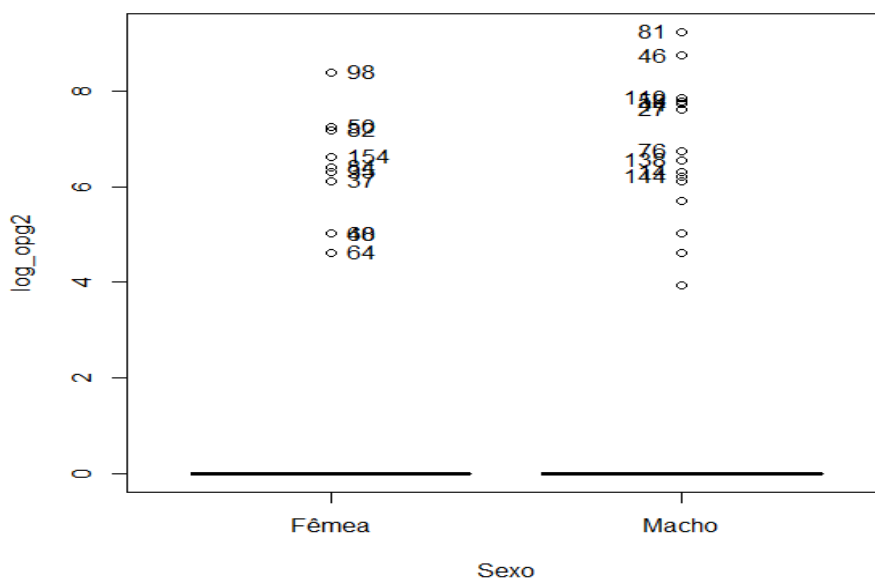
**Gráfico 5-** Relação do valor de OPG com a idade dos animais



### 3.4.2. OPG e sexo do animal

Também se avaliou a relação possível entre os valores de OPG e o sexo do animal em estudo. Contudo, as diferenças entre as médias do log (OPG+1) com o sexo do animal não foram consideradas estatisticamente significativas ( $p=0.1456$ ) (gráfico 6)

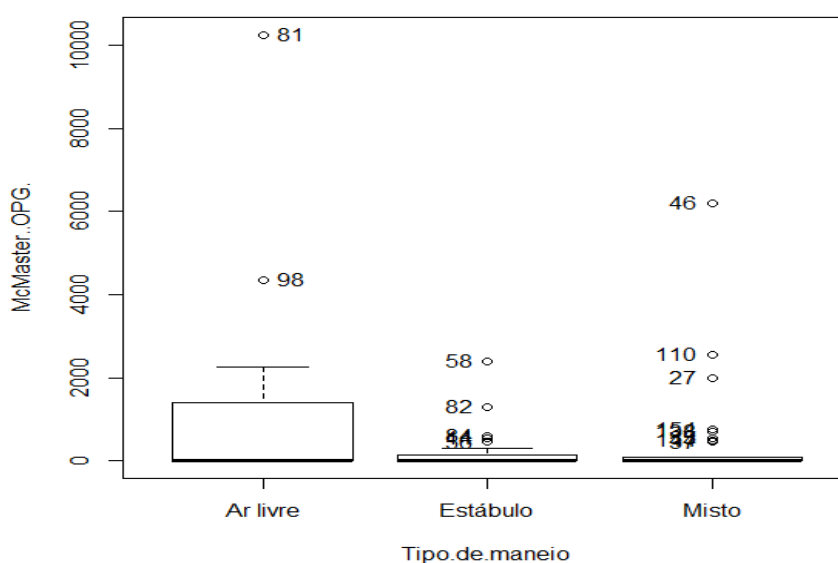
**Gráfico 6-** Relação do log (OPG+1) com o sexo dos animais



### 3.4.3. OPG e manejo

Sabendo a importância do manejo no controlo dos níveis de infeção parasitária nos equídeos foi avaliada a relação entre os valores de OPG e do manejo, e verificou-se que as diferenças observadas no número de OPG entre os animais estabulados e os animais ao ar livre foram consideradas estatisticamente significativas ( $p= 0.0225$ ) embora os animais em sistema misto também apresentem alguns valores de OPG elevados (gráfico 7).

**Gráfico 7-** Relação do OPG com o tipo de manejo

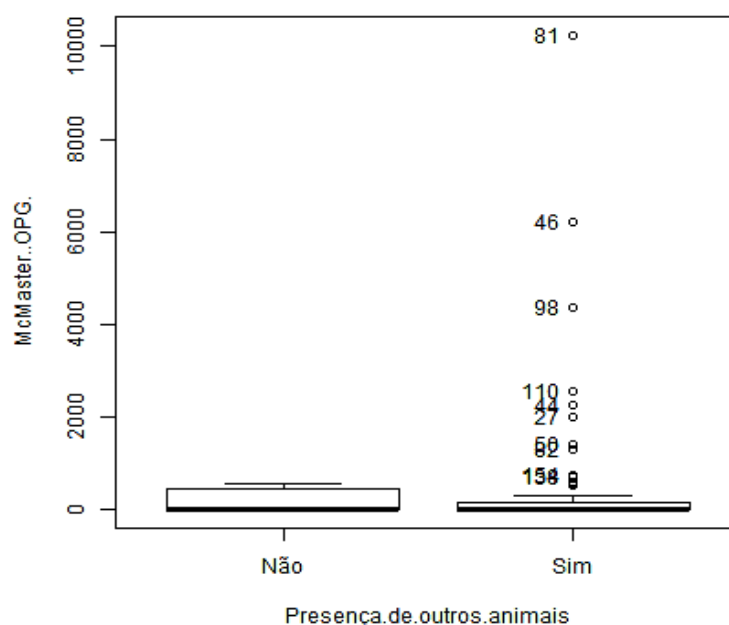


### 3.4.4. OPG e animais coabitantes

A presença de coabitantes é importante na avaliação da infeção parasitária quer em termos quantitativos, pois os coabitantes podem ser responsáveis pela contaminação do ambiente e consequente transmissão dos parasitas, quer em termos qualitativos já que o tipo de parasita encontrado poderá ser justificado com a presença de animais da mesma e/ou de outra espécie (exemplo do *Trichostrongylus axei* dos Ruminantes).

No entanto, neste caso as diferenças no número de OPG, caso existam ou não coabitantes, não são consideradas significativas ( $p= 0.7367$ ) (gráfico 8).

**Gráfico 8-** Relação do OPG com a presença de coabitantes



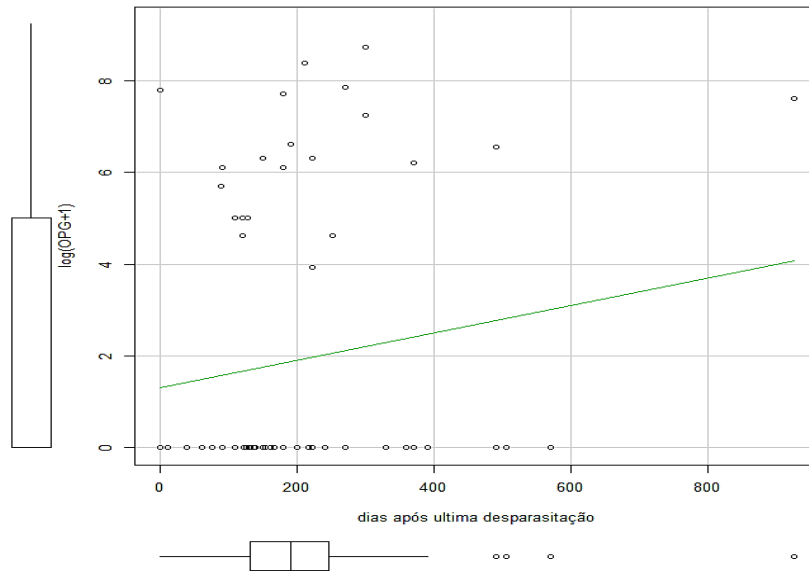
### 3.4.5. OPG e tempo decorrido desde a última desparasitação

Verificou-se a existência de correlação estatisticamente significativa entre os valores do log (OPG+1) e o tempo decorrido desde a última desparasitação ( $p=3.426e-05$  e  $cor=0.3602$ ), ou seja, quanto mais tempo decorrer entre as desparasitações maior será o valor de OPG.

**Tabela 7-** Tempo decorrido desde a última desparasitação (dias)

Tempo decorrido desde a última desparasitação (dias)	Nº de animais
[0-100[	7
[100-200[	28
[200-300[	21
[300-400[	8
[400-500[	2
>500	3
NA	16

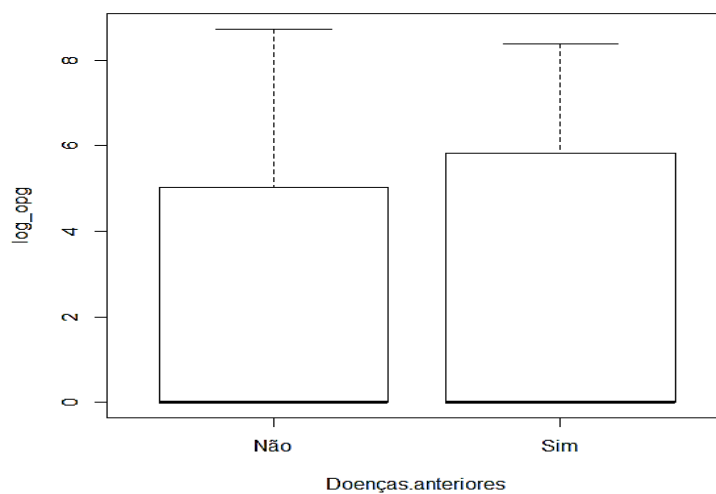
**Gráfico 9-** Relação do log (OPG+1) com o tempo decorrido desde a última desparasitação



### 3.4.6. OPG e presença de doenças anteriores

As diferenças entre as médias do log (OPG+1) com a presença de doenças anteriores não são estatisticamente significativas ( $p=0,7077$ ) (gráfico 10).

**Gráfico 10-** Relação do log (OPG+1) com a presença de doenças anteriores

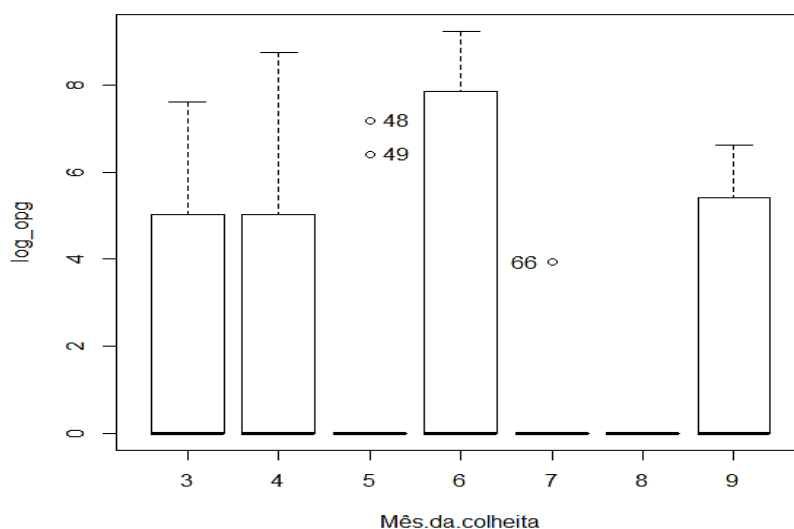




### 3.4.7. OPG e mês da colheita das fezes

Verificou-se que as diferenças no valor de OPG com o mês de colheita de fezes não foram consideradas estatisticamente significativas ( $p=0.538$ ).

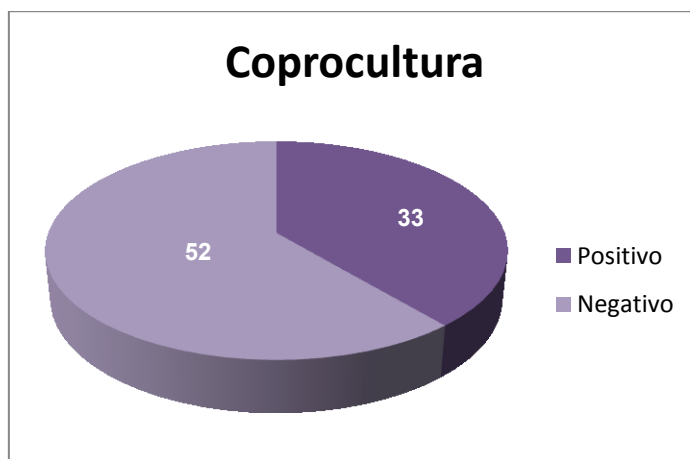
**Gráfico 11-** Relação do log (OPG+1) com o mês da colheita da primeira amostra (ANOVA)



### 3.5. Coproculturas

Nas coproculturas das amostras analisadas na 1ª colheita observou-se que 33 animais apresentaram um resultado positivo (39%) e 52 animais um valor negativo (61%) para a presença de larvas L3 (gráfico 12).

**Gráfico 12-** Prevalência de L3 observada na análise das culturas fecais

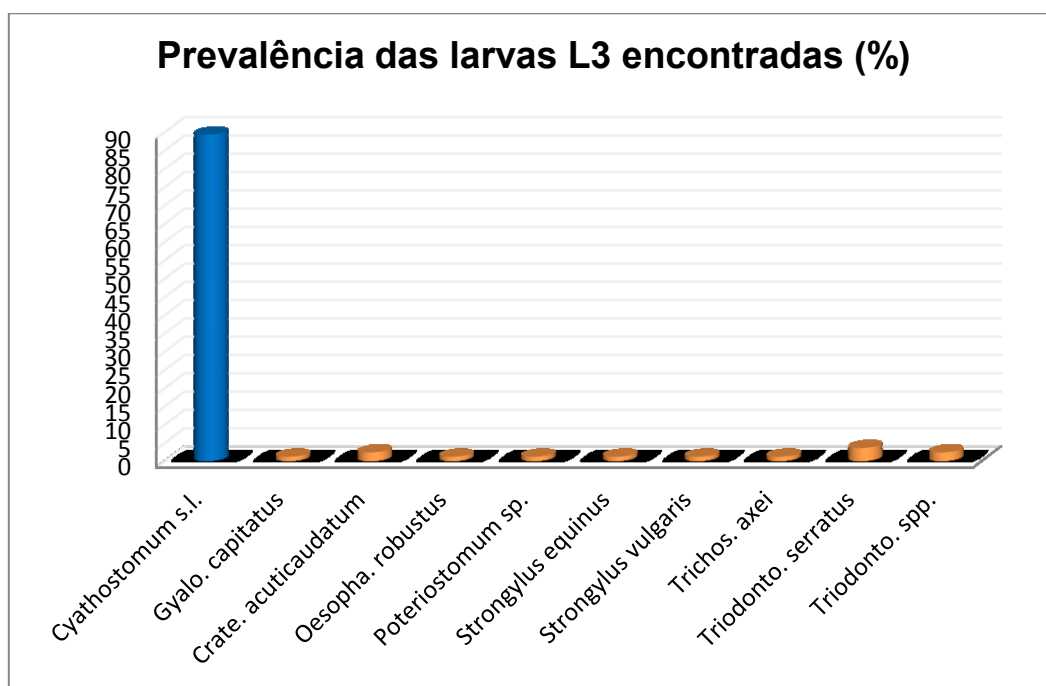


Foram observadas larvas de *Gyalocephalus capitatus*, *Oesophagodontus robustus*, *Triodontophorus* spp., *Strongylus vulgaris*, *Strongylus equinus*, *Triodontophorus serratus*, *Craterostomum acuticaudatum*, *Trichostrongylus axei* e *Poteriostomum* sp. (figuras 37, 38 e 39), e um predomínio de ciatostomíneos, cuja prevalência nas amostras analisadas foi superior a 80% do total de larvas encontradas (gráficos 13 e 14).

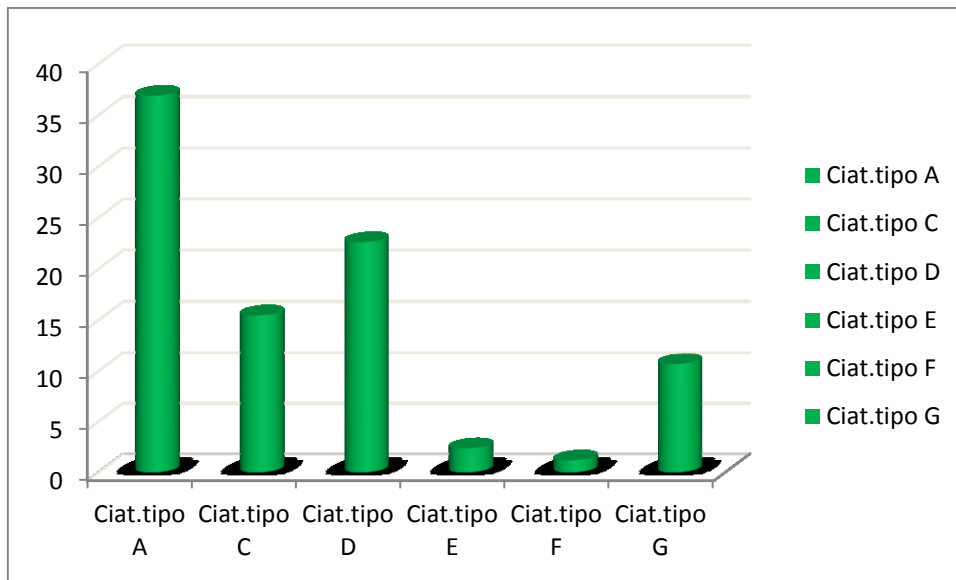
**Figuras 37, 38 e 39-** Larvas L3 encontradas nas coproculturas realizadas- *Triodontophorus serratus*, *Strongylus vulgaris* e Ciatostomíneo tipo A, respetivamente. Ampliação: aproximadamente de 70x (Originais da autora)



**Gráfico 13-** Distribuição da prevalência dos géneros/espécies de larvas L3 encontradas na análise das coproculturas das amostras da 1ª colheita



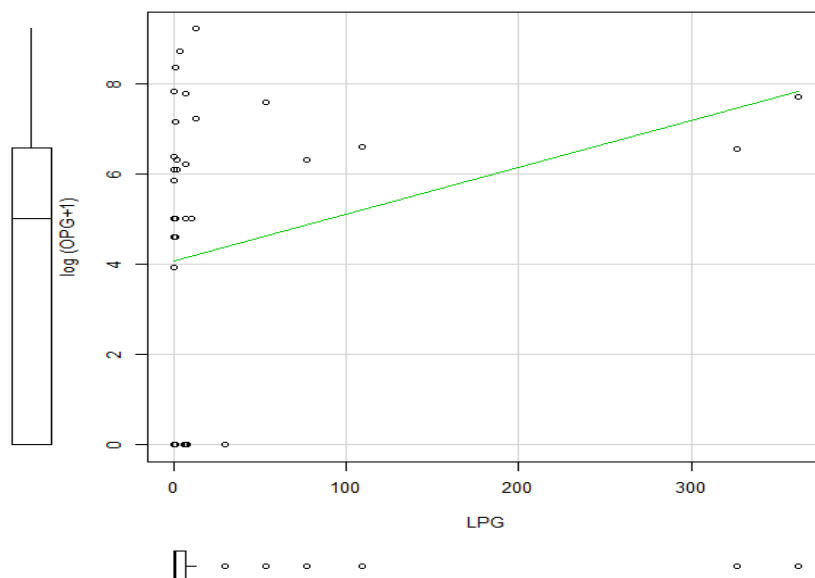
**Gráfico 14-** Distribuição da prevalência do género *Cyathostomum senso latum* de larvas L3 encontrado na análise das coproculturas



### 3.6. Relação do OPG com o número de larvas L3 em cada amostra

Verificou-se que não existe correlação considerada estatisticamente significativa entre o valor do OPG e número de larvas L3 encontradas nas coproculturas nas amostras analisadas ( $p=0,1456$ ) (gráfico 15).

**Gráfico 15-** Relação dos valores de  $\log(OPG+1)$  com os de LPG



No que diz respeito ao cálculo do rendimento de cada amostra a partir do LPG, verificou-se que na grande maioria dos animais apresentou um valor compreendido entre os 0,5 e os 15%.

### 3.7. Fármacos antihelmínticos utilizados na última desparasitação

Foram observadas diferenças acentuadas nos medicamentos antiparasitários utilizados pelos médicos veterinários proprietários dos animais. Destaca-se a utilização do Eqvalan® e do Eqvalan® Duo (que contém na sua composição qualitativa respetivamente ivermectina e ivermectina+praziquantel) como preferidos para a desparasitação dos equídeos do estudo. Esta situação não será de todo inesperada uma vez que estes medicamentos já são comercializados há muito tempo pela Merial Saúde Animal, parceira deste projeto.

**Tabela 8-** Fármacos antihelmínticos administrados na última desparasitação

<b>Fármaco AH/Medicamento utilizado</b>	<b>Frequência relativa dos AH administrados (%)</b>
<b>Ivermectina+Praziquantel</b>	
(Eqvalan Duo®)	34,33
<b>Ivermectina (Eqvalan®)</b>	19,4
<b>Ivermectina+Praziquantel</b>	
(Equimax®)	17,9
<b>Ivermectina (Genérico)</b>	7,46
<b>Ivermectina (Equimel®)</b>	5,97
<b>Doramectina (Dectomax®)</b>	2,99
<b>Ivermectina (Noromectin®)</b>	2,99
<b>Pamoato de pirantel</b>	
(Strongid Pasta®)	2,99
<b>Moxidectina+Praziquantel</b>	
(Genérico)	2,99
<b>Ivermectina (Ecomectin®)</b>	1,49
<b>Febendazole (Panacur®)</b>	1,49

### 3.8. Avaliação da eficácia do Antihelmíntico (TRCOF)

Para determinar a eficácia da ivermectina, e da associação ivermectina + praziquantel foi realizado o Teste de Redução de Contagem de Ovos Fecais (TRCOF) verificando-se 100% de eficácia nas amostras analisadas de 72 animais.

#### 4. Discussão

Durante a fase de divulgação do Projeto Rastreo STOP foram distribuídos 900 Kits. Tal como já referido anteriormente, e contabilizando as amostras utilizadas para esta dissertação (85 amostras), verificou-se que a taxa de resposta/adesão dos MV/proprietários a esta campanha foi aproximadamente 9,4%. Apesar de este valor ser relativamente baixo é considerado positivo uma vez que se trata de um projeto pioneiro que ainda não está implementado no terreno. Para além disso é nossa opinião que não é dada, nomeadamente pelos proprietários dos animais, mas também pelos médicos veterinários, a devida importância à problemática da desparasitação e aos programas de controlo e diagnóstico das infeções parasitárias. Aliás, comparando a taxa de resposta obtida neste projeto com a taxa de resposta obtida no projeto similar (SMART) desenvolvido em Inglaterra, não existe uma grande diferença entre as mesmas (9,4% em Portugal e 10% em Inglaterra), pois os proprietários neste país estão mais sensibilizados para a questão da desparasitação assim como na valorização e utilização de bons programas de controlo parasitário.

No que diz respeito aos valores de OPG verificou-se que das 85 amostras analisadas, 28 foram positivas, e destas em apenas 15 se obtiveram valores superiores a 500 OPG, ou seja, valores a partir do qual se recomenda a desparasitação dos animais, salvo algumas exceções anteriormente mencionadas. Esta distribuição heterogénea, na qual apenas uma pequena parte da amostra populacional apresenta valores de OPG elevados, é típica dos estrongilídeos (Madeira de Carvalho, 2003; Nielsen et al., 2006a). No entanto quando comparamos os resultados agora obtidos com os obtidos por outros autores em estudos realizados também em equídeos em Portugal (Madeira de Carvalho, 2001; Frouco 2011; Reis, 2011), verifica-se um baixo número de animais positivos no teste de McMaster. Estes resultados poderão ser explicados pelo facto de a nossa amostra ter um número mais reduzido de animais podendo não ser representativa da realidade da população equídea nacional, uma vez que este estudo foi desenvolvido no âmbito do projeto no qual a inclusão dos animais no mesmo só é possível através da compra dos medicamentos anti-helmínticos da Merial. Assim, esta razão poderá ser condicionante uma vez que para além dos medicamentos da Merial existem no mercado outros medicamentos com composição qualitativa e quantitativa idênticas e com preços de mercado eventualmente mais baixos, o que poderá ser determinante, face à conjuntura económica atual no nosso país, aquando da escolha do medicamento a utilizar na terapêutica antiparasitária. As dificuldades económicas que os proprietários possam estar a viver podem também ser condicionantes ao controlo efetivo das doenças parasitárias nestes animais. Assim sendo, como na atualidade nem todos os

proprietários podem recorrer a estes desparasitantes (ou mesmo a desparasitar), podemos estar perante uma amostra de animais cujos proprietários possuem maiores cuidados no que diz respeito à prevenção e controlo do parasitismo e portanto, corresponder aos que aplicam melhores programas de controlo de doenças. A diferença observada entre o número do OPG e o tipo de manejo foi considerada estatisticamente significativa, verificando-se assim que os animais que vivem ao ar livre apresentam níveis de OPG mais elevados do que os animais estabulados. Este facto foi também evidenciado no estudo de Madeira de Carvalho (2001), no qual verificou que o nível de OPG em garranos estabulados foi substancialmente mais baixo que o observado em garranos bravios. Nesse estudo os garranos bravios apresentaram uma média anual de ovos de estrogilídeos de 1865 OPG/hospedeiro enquanto nos garranos estabulados a média anual foi de 394 OPG/hospedeiro. Este resultado obtido no presente estudo revela a importância de uma abordagem integrada no controlo parasitário, com a desparasitação estratégica destes animais nas principais épocas de risco de infeção (Primavera e Outono) e a manutenção de pastagens limpas e seguras de modo a minimizar o risco de reinfeções, assim como o risco de infeção dos animais com manejo do tipo misto (ar livre e estábulo), como referido por Madeira de Carvalho (2001) e Madeira de Carvalho et al (2007b, c).

Apesar de diversos autores (Boersema & Eysker, 2002; von Samson-Himmelstjerna *et al.*, 2009; Becher, Mahling, Nielsen & Pfister, 2010) referirem a existência de uma relação negativa entre o OPG e a idade do animal, em que os animais mais jovens apresentam maiores cargas parasitárias, neste estudo, essa relação não apresentou um valor estatisticamente significativo. Não obstante, é necessário ter em conta que existem outros fatores do manejo que podem influenciar esta relação e que não foi possível avaliar. Fatores tais como o tipo de manejo, de alimentação, a presença de coabitantes e que tipo de coabitantes, a raça e o sexo. Em relação aos resultados das coproculturas, verificou-se que 33 animais foram positivos e 52 negativos. Em comparação com a técnica de McMaster obtiveram-se mais 6,10% de animais positivos. Estes resultados evidenciam a importância da realização de coproculturas numa avaliação parasitológica. A prevalência dos géneros/espécies de larvas L3 encontradas nas coproculturas analisadas corrobora os resultados reportados por diversos autores, quer a nível nacional, quer a nível internacional (Lyons, et al., 1999; Madeira de Carvalho, 2001; Corning, 2009; Costa, 2011; Frouco, 2011; Reis, 2011). Também no nosso estudo foram encontradas mais de 80% de larvas do género *Cyathostomum sensu latum*.

Este género divide-se em 8 morfotipos larvares e neste estudo, os mais prevalentes foram o tipo A (36,9%) e o tipo D (22,6%), seguindo-se do tipo C (15,5%), do tipo G (10,7%), do tipo E (2,4%) e do tipo F (1,2%). Esta distribuição dos morfotipos está de acordo com Madeira de Carvalho et al (2008) e terá a ver com a presença das espécies mais prevalentes e abundantes de ciatostomíneos. Por sua vez, a presença dos grandes estrôngilos, nomeadamente de *Strongylus equinus* e *Strongylus vulgaris*, só foi observada num animal com uma prevalência de 1,19%. Estes resultados estão também de acordo com os obtidos por outros autores (Bucknell, et al., 1994; Madeira de Carvalho, 2001; Nielsen, et al., 2010; Kuzmina, et al., 2011), reforçando o facto de que a prevalência destes parasitas da subfamília Strongylinae tem sofrido um decréscimo ao longo das últimas décadas, acontecimento este de extrema importância, tendo em conta a sua patogenicidade e que se deve em grande medida à sua suscetibilidade às lactonas macrocíclicas.

No que diz respeito ao cálculo do rendimento a partir do LPG, verificou-se que a maioria das amostras possui um valor compreendido entre os 0,5 e os 15%. Porém, 5 animais apresentaram um valor de 100%, demonstrando que mesmo em infeções parasitárias muito baixas e em condições ambientais ideais (como no caso da coprocultura) ocorre o desenvolvimento a larvas infetantes o que evidencia a utilidade desta técnica no diagnóstico de uma infeção parasitária.

Com o presente trabalho podemos confirmar que as avermectinas, principalmente a ivermectina, constituem o grupo de anti-helmínticos preferidos pelos médicos veterinários e proprietários de equídeos. Para obtermos esta conclusão, um dos dados solicitados aos proprietários, foi a indicação de qual o anti-helmíntico administrado na última desparasitação. Verificou-se que em aproximadamente 90% dos casos foi administrada a ivermectina, para a desparasitação dos animais, seguindo-se a moxidectina (2,99%), o pamoato de pirantel (2,99%) e por último o febendazol (1,49%). Esta preferência pela utilização da ivermectina isolada ou em associação com praziquantel tem sido descrita por outros autores em trabalhos realizados no nosso país nos últimos anos (Madeira de Carvalho, 2001; Gersão, 2005; Martins et al, 2007; Frouco 2011). A utilização generalizada desta substância ativa está relacionada com a fácil administração do medicamento disponível no mercado (pasta oral), a boa margem de segurança relativamente às dosagens, a elevada eficácia frente a nemátodes e artrópodes quando comparada com outros grupos de anti-helmínticos e o valor comercial razoável. Em relação às especialidades farmacêuticas utilizadas na última desparasitação destacam-se o EqvalanDuo® e o Eqvalan ® (ambos da Merial), com mais de 50% de frequência de utilização. Um aspecto importante a salientar, é o facto

de se continuar a administrar medicamentos contendo avermectinas, mas sem indicações terapêuticas para equídeos, como é o caso da solução injetável por via IM de doramectina para Bovinos, Dectomax® (Pfizer), cuja utilização “off-label”, assim como de outra avermectinas, já foi reportada noutros trabalhos no nosso País (Madeira de Carvalho et al, 2003; Martins et al, 2007). Tendo em conta o crescente número de casos de resistência aos anti-helmínticos, a utilização de medicamentos sem indicações terapêuticas para estes animais, poderá potencializar o desenvolvimento de resistências. Para além de que são utilizações terapêuticas que se revestem de um carácter ilegal não podendo ser justificada esta utilização ao abrigo da “cascata”<sup>2</sup> pois existem no mercado medicamentos autorizados para a espécie animal e indicações terapêuticas em questão.

Apesar da utilização contínua e muitas vezes pouco racional e sensata da ivermectina, ao realizar o TRCOF das amostras recebidas, verificou-se 100% de eficácia desta substância ativa. Houve apenas um animal em que a eficácia foi de 93,7%, o que poderia levar à suspeita de resistência à substância ativa. Porém, após a análise das informações referentes a este animal, verificou-se que o intervalo entre a colheita das duas amostras de fezes foi de 149 dias. Parece-nos pois que este intervalo de tempo pode ser suficiente para possa ter ocorrido uma re-infeção, uma vez que se trata de um animal que vive ao ar livre e com outros cavalos, o que assim justificará o valor de 650 OPG na segunda colheita. Este fator reforça uma vez mais a importância da existência de um bom programa de controlo parasitário, integrando diversas medidas tais como a manutenção da higiene das pastagens, evitar o confinamento excessivo, etc. Mas o valor de OPG na segunda colheita poderá também ser justificado pela possibilidade de ocorrer reativação das larvas de ciatostomíneos que estiveram em hipobiose durante esse intervalo de tempo, o que pode ser resultado da administração de um fármaco antiparasitário com atividade principalmente adulticida, como é o caso da ivermectina, resultando na ausência de um mecanismo de “feed-back” negativo exercido pelos adultos presentes no intestino grosso, emergindo assim as larvas (Proudman & Matthews, 2000). Ainda assim e em termos globais, com base nestes resultados pensamos que a ivermectina em Portugal ainda tem boa eficácia e poderá mantê-la, desde o momento que os MV façam a monitorização dos programas de desparasitação.

---

<sup>2</sup> O conceito de “cascata” é referido no artigo 73 de DL 148/2008 com a redação que lhe é dada pelo DL. 314/2009.



#### **4.1. Aspetos processuais limitantes do estudo**

Tal como foi referido nos resultados, a resposta correta e completa à informação solicitada no Kit era fundamental não só para a interpretação dos resultados das análises parasitológicas realizadas, como também para permitir atingir alguns dos objetivos definidos, nomeadamente no mapeamento parasitológico em equídeos em Portugal Continental. Para cumprimento deste objetivo era fundamental que no campo respetivo fosse indicada a morada efetiva do local onde o animal habitava. Verificou-se, porém, que desconhecendo o propósito da elaboração do dito mapeamento, os proprietários indicaram a sua própria morada, que em grande parte dos casos não é coincidente com o local onde o animal se encontra. Assim sendo este é um dos aspetos que deverá ser repensado, para permitir alcançar o dito mapeamento parasitológico.

Para além desta situação, durante a receção das amostras no laboratório, observou-se um conjunto de limitações que dificultaram a concretização dos objetivos pretendidos na totalidade dos animais amostrados. Exemplos dessas limitações são: preenchimento completo dos dois autocolantes; envio simultâneo dos dois sacos; identificação correta das duas amostras; inclusão do cupão de compra (validar a amostra); refrigeração rápida das amostras após recolha; e quantidade de amostra suficiente para o processamento laboratorial.

## 5. Conclusão

Sendo o principal objetivo de este trabalho estudar e avaliar a eficácia da implementação de um programa de desparasitação de equídeos, acompanhado previamente por contagens de OPG e culturas fecais, verificou-se um feedback positivo dos proprietários e MV assistentes, com uma taxa de resposta à campanha de 9,4%.

Das 85 amostras analisadas, observou-se 32,9% de animais positivos à técnica de McMaster dos quais apenas 15% apresentavam valores de OPG significativos, ou seja, com necessidade de desparasitação desses animais.

No que diz respeito à análise estatística, evidenciou-se que as diferenças observadas no número de OPG entre os animais estabulados e os animais ao ar livre foram consideradas estatisticamente significativas ( $p= 0.0225$ ), tal como existe uma correlação estatisticamente significativa entre os valores do log (OPG+1) e o tempo decorrido desde a última desparasitação ( $p=3.426e-05$  e  $cor=0.3602$ ).

Em relação às coproculturas, 39% das amostras foram positivas e a partir das quais foi possível identificar as larvas infetantes, sendo o género *Cyathostomum sensu lato* o mais prevalente, atingindo valores superiores a 80% das amostras analisadas. Foram também encontradas larvas de *Gyalocephalus capitatus*, *Oesophagodontus robustus*, *Triodontophorus* spp., *Strongylus vulgaris*, *Strongylus equinus*, *Triodontophorus serratus*, *Craterostomum acuticaudatum*, *Trichostrongylus axei* e *Poteriostomum* sp.

Apesar de não recebermos a segunda colheita de 13 amostras, observou-se, através do TRCOF que a Ivermectina, a substância mais utilizada no controlo dos nematodes gastrintestinais dos equídeos, com valores de 100% de eficácia.

Como conclusão final e realçando o objetivo da realização deste trabalho, espera-se que o mesmo tenha contribuído para uma maior consciencialização da importância do risco de infeção parasitária como também para a implementação de programas de controlo parasitário eficazes que incluam um exame parasitológico prévio à administração de anti-helmínticos. Deste modo, irá permitir a maximização da relação custo-benefício de um programa de controlo antiparasitário, a maximização da resistência natural às parasitoses, o uso racional dos anti-helmínticos e portanto a redução do risco de resistências e, por último mas não menos importante, a redução do risco ambiental.

## Bibliografia:

AEPGA (2010). *Associação para o Estudo e Protecção do Gado Asinino*. Acedido em Novembro, 2011, disponível em: <http://www.aepga.pt/>.

Anazi, A.D.A & Alyousif, M.S. (2011). Prevalence of non-strongyle gastrointestinal parasites of horses in Riyadh region of Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 18(3), 299–303.

Apifarma (2011). *Simposium veterinário*. Acedido em Janeiro, 2013, disponível em: <http://www.apifarma.pt/simposiumvet/Paginas/Pesquisaavancada.aspx>

Barnett, D.C. (2008). Sunshine Equine- Performance Horses. Acedido em Dezembro, 2012, disponível em: <http://sunshineequine.webs.com/importanthealthcare.htm>

Becher, A.M., Mahling, M., Nielsen, M.K. & Pfister, K. (2010). Selective anthelmintic therapy of horses in the Federal states of Bavaria (Germany) and Salzburg (Austria): an investigation into strongyle egg shedding consistency. *Veterinary Parasitology*, 171(1-2), 116-122.

Bowman, D.D., Lynn, R.C., Eberhard, M.L. & Alcaraz, A. (2003). *Georgis' Parasitology for Veterinarians*, (8ª edição), (pp. 174-180; 287-300). Philadelphia W.B. Saunders Company.

Bowman, D. D., Georgi, J. R., (2008), *Georgis' Parasitology for Veterinarians*, 9ª edição, Elsevier Health Sciences.

Boersema, J.H., Eysker, M., Nas, J.W., (2002). Apparent resistance of *Parascaris equorum* to macrocyclic lactones. *Veterinary Record*, 150, 279-281.

Bucknell, D.G., Gasser, R.B. & Beveridge, I. (1995). The prevalence and epidemiology of gastrointestinal parasites of horses in Victoria, Australia. *International Journal for Parasitology*, 25(6), 711-24.

Byrd, J. (2012). *Horsemen's Laboratory*. Acedido em Fevereiro, 2012, disponível em: <http://www.horsemenlab.com/content.php?p=about>

Blanek, M., Brady, H.A., Nichols, W.T., Hutcheson, D.P., Jackson, S.P., Pond, K.R., Wilson, K.R. (2006). Investigation of Anthelmintic Resistance and Deworming Regimens in Horses. *The Professional Animal Scientist*. 22(4), 346–352.

Blankenstein, B. (2012). *Diagnostiek parasitologisch mestonderzoek paard*. Acedido em Fevereiro, 2012, disponível em: <http://www.dierenparasiet.nl/paard/index.html>

Bru, C.S.G. (1999). *Diagnostic experimental des parasitoses du Cheval* ; Thèse pour le Doctorat Veterinaire Diplôme d` Etat. École Nationale veterinaire de Toulouse.

Castro, A.A., Oliveira, C.R.C., Anjos, D.H.S., Ornelas, E., Bittencourt, V.R.E.P., Araújo, J.V., Sampaio, I.B.M., Rodrigues, M.L.A. (2003). Pontencial dos fungos *Arthrobotrys* sp. e *Monacrosporium thaumasium* para o controle de larvas de ciatostomíneos de equinos (nematoda: cyathostominae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 12(2), 53-57.

Cezar, A.S., Catto, J.B., Bianchin, C.I. (2008). Controle alternativo de nematódeos gastrintestinais dos ruminantes: atualidade e perspectivas. *Ciência Rural, Santa Maria*. 38(7), 2083-2091.

Cobb, R., Boeckh, A. (2009). Moxidectin: a review of chemistry, pharmacokinetics and use in horses. *Parasites & Vectors*. 2(2): S5.

Coles, G. C., Bauer, C., Borgsteede, F. H., Geerts, S., Klei, T. R., Taylor, M. A., et al. (1992). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 44, pp. 35-44.

Collobert-Laugier C, Hoste H, Sevin C, Dorchies P (2002). Prevalence, abundance and site distribution of equine small strongyles in Normandy, France. *Veterinary Parasitology*. 110, 77-83.

Conder, G.A.; Campbell, W.C. (1995). Chemotherapy of nematode infections of veterinary importance, with special reference to drug resistance. *Advances in Parasitology*, 35, 1-83.

Costa, R.B. (2011). *Caracterização do parasitismo gastrintestinal em cavalos de desporto e lazer de Coimbra*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa.

Corning, S. (2009). Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. *Parasite & Vectors*, (2 Suppl 2), S1 1-6.

Courtney, C.H. (1999). Seasonal transmission of equine cyathostomes in warm climates. *Veterinary Parasitology*, 85 (2-3), 173-177.

Court, C. & Reiff, M. (2012). Eggzamin- *Responsible parasite management*. Acedido em Fevereiro, 2012, disponível em: <http://eggzamin.com/>

Couto, M.C.M., Quinelato, S., Souza, T.M., Santos, C.N., Bevilaqua, C.M.L., Anjos, D.H.S., Sampaio, I.B.M., Rodrigues, M.L.A. (2009). Development and migration of cyathostome infective larvae (Nematoda: Cyathostominae) in bermuda grass (*Cynodon dactylon*) in tropical climate, in Baixada Fluminense, RJ, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 18(2), 31-37.

Cunha, D.F., Wanderley, G.G., Oliveira, K.P., Ramos, A.S.R., Silva, F.L.M., Paula, J.T., Baptista, R.I.A.A., Lima, M.V.F.B., Rodrigues, J.B.L., Pereira, M.F. (2009). Infecção por *Strongyloides westeri* em potro- Relato de Caso. Acedido em Abril de 2012, disponível em: <http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0035-3.pdf>

Chapman, M.R., Kearney, M.T. & Klei, T.R. (2003). Equine cyathostome populations: accuracy of species composition estimations. *Veterinary Parasitology*, 116 (1), 15-21.

Craig, T.M., Diamond, P.L., Ferwerda, N.S. e Thompson, J.A. (2007) Evidence of ivermectin resistance by *Parascaris equorum* on a Texas horse farm, in *Journal of equine veterinary*, 27,67-71.

Dianosteq. Intestinal parasites. Tapeworm (*Anoplocephala perfoliata*). Acedido em Janeiro de 2012, disponível em <http://www.liv.ac.uk/dianosteq/tapeworm.htm>

Dorchies, P., Ducos de Lahitte, J., Flochlay, A., Blond-Riou, F. (1998). Efficacy of moxidectin 2% equine gel against natural nematode infections in ponies. *Veterinary Parasitology*. 74, 85-89

Duncan, J.L. (1985) - Parasitic Diseases. In *Equine Surgery and Medicine*, Academic Press Inc., London, 1ª edição (1), pp 359-391.

Duncan, J.L. & Love, S. (1990). Stongylose équine à *S. vulgaris*. *Point Veterinaire*, 21(126), 849-857.

Dunn, A. M. (Ed.). (1978). *Veterinary Helminthology*. Glasgow: William Heinemann. Medical Books Ltd.

Drudge, J.H.; Lyons, E.T. (1986) - *Internal Parasites of Equids with Emphasis on Treatment and Control*. 1ª edição, Hoechst Roussel Agri-Vet Company.

Eysker, M., Boersema, J.H., Kooyman, F.N.J. (1992). The effect of ivermectin treatment against inhibited early third stage, late third stage and fourth stage larvae and adult stages of the cyathostomes in Shetland ponies and spontaneous expulsion of these helminthes. *Veterinary Parasitology*. 42 (3-4), 295-302.

Eysker M., Bakker J., Berg. M. V., Van Doorn, D.C.K., Ploeger, H.W. (2008). The use of age-clustered pooled faecal samples for monitoring worm control in horses. *Veterinary Parasitology*. 151, 249-255.

FAR (2011). *Fundação Alter Real*. Acedido em Nov. 15, 2011, disponível em: <http://www.alterreal.pt/home.htm>.

Feary, D.J. & Hassel, D.M. (2006). Enteritis and colitis in horses. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 22 (2), 437-479.

Fernandes, L.H., Seno, M.C.Z., Amarante, A.F.T., Souza, H., Belluzo, C.E.C. (2004). Efeito do pastejo rotacionado e alternado com bovinos adultos no controle da verminose em ovelhas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*. 56(6), 733-740.

Fog, P., Vigre, H., Nielsen, M.K. (2011). Strongyle egg counts in Standardbred trotters: Are they associated with race performance?. *Equine Veterinary Journal*. 43 (39), 89- 92.

Francisco, I., Sánchez, J.A., Cortiñas, F.J., Francisco, R., Suárez, J., Cazapal, Cristiana, Suárez, J.L., Arias, M.S., Morrondo, P., Sánchez- Andrade, R., Paz-Silva, A. (2011). Efficacy of Ivermectin Pour-on Against Nematodes Infecting Foals on. *Journal of Equine Veterinary Science*. 31 (9), 530-535.

Frouco, G.D.S. (2011). *Estrongilidose em explorações equinas com vocação tauromáquica*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa.

Harder, A & von Samson-Himmelstjerna, G.(2002). Cyclooctadepsipeptides – a new class of anthelmintically active compounds. *Parasitology Research*. 88, 481–488.

Harder, A., Schmitt-Wrede, H.P., Krücken, J., Marinovski, P., Wunderlich, F., Willson, J., Amliwala, K., Holden-Dye, L., Walker, R. (2003). Cyclooctadepsipeptides-an anthelmintically active class of compounds exhibiting a novel mode of action. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 22 (3), 318-331.

Hearn, F.P., Peregrine, A.S., (2003). Identification of foals infected with *Parascaris equorum* apparently resistant to ivermectin. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 223, 482–485.

Hodgkinson, J.E. (2006). Molecular diagnosis and equine parasitology. *Veterinary Parasitology*. 136, 109–116.

Hodgkinson, J.E. (2008). Cyathostomosis: Epidemiology and control. *Proceedings of the 47th British Equine Veterinary Association Congress*. 16.50–17.10, Liverpool, United Kingdom.

Holland, W.G., Geurden, T., Do, T.T., Dorny, P., Vercruysse, J. (2001). Strongyle Infections in Horses from North Vietnam. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.* 54 (1), 29-31. INE (2009). *Instituto Nacional de Estatística: Recenseamento Agrícola 2009*. Acedido em Nov. 16, 2011, disponível em: [http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine\\_publicacoes&PUBLICACOESpub\\_boui=119564579&PUBLICACOESmodo=2](http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOESpub_boui=119564579&PUBLICACOESmodo=2).

Kaminsky, R., Ducray, P., Jung, M., Clover, R., Rufener, L., Bouvier, J., Weber, S.S., Wenger, A., Wieland-Berghausen, S., Goebel, T., Gauvry, N., Pautrat, F., Skripsky, T., Froelich, O., Komoin-Oka, C., Westlund, B., Sluder, A., Maser, P. (2008). A new class of anthelmintics effective against drug-resistant nematodes. *Nature*. 452, 176-180.

Kaplan, R.M., Matthews, J.B. (2004). Equine Cyathostomins. *Veterinary Parasitology*, 125(1-2), 203–220.

Kassai T., (1999), *Veterinary helminthology*, Elsevier Health Science.

Kaufmann, J. (1996). *Parasitic infections of domestic animals – a diagnostic manual*. Basel, Boston, Berlin: Birkhäuser.

Kuzmina, T., Kornas, S., Basiaga, M., Kharchenko, V., Vyniarska, A. (2011). Biodiversity of strongylids (Nematoda: Strongylidae) communities in domestic horses from Poland and Ukraine, *HELMINTHOLOGIA*, 48 (2), 77 – 84.

Klei, T.R. & Chapman, M.R. (1999). Immunity in equine cyathostome infections. *Veterinary Parasitology*, 85 (2-3), 123-133

LaMann, G.V. (2010). *Veterinary Parasitology*. (pp 1- 47). Nova Science Publishers, Inc., New York, USA.

Langrová, I., Jankovska, I., Borovsky, M. & Fiala, T. (2003). Effect of climatic influences on the migrations of infective larvae of Cyathostominae. *Veterinarni Medicina - UZPI*, 48 (1-2), 18-24.

Larsen, M. (1999). Biological control of helminths. *International Journal for Parasitology*. 29, 139-146.

Le Jambre, L.F., Dobsonb, R.J., Lenanea, I.J., Barnes, E.H. (1999). Selection for anthelmintic resistance by macrocyclic lactones in *Haemonchus contortus*. *International Journal for Parasitology*. 29 (7), 1101-11.

Lendal, S., Larsen, M.M., Bjørn, H., Craven, J., Chrieâi, M., Olsen, S.N. (1998). A questionnaire survey on nematode control practices on horse farms in Denmark and the

existence of risk factors for the development of anthelmintic resistance. *Veterinary Parasitology*. 78(1), 49-63.

Linc , E., Hoglund , J., Ljungstrom, B., Nilsson, O., Uggla, A. (2009). A field survey on the distribution of strongyle infections of horses in Sweden and factors affecting faecal egg counts. *Equine Veterinary Journal*.31, 68-72.

Lichtenfels, J.R. (1979) - A Conventional Approach to a New Classification of the Strongyloidea, Nematode Parasites of Mammals. *Amer. Zool.*, 1185-1194.

Lichtenfels, J.R. (1980) - Keys to genera of the superfamily Strongyloidea. In: ANDERSON, R.C., CHABAUD, A.G. & WILLMOTT, S. (Eds.) *CIH Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates.*, Commonwealth Agricultural Bureau, Farnham Royal, Bucks, England, N° 7.

Lichtenfels, J.R., Kharchenko, V.A., Krecek, R.C. & Gibbons, L.M. (1998). An annotated checklist by genus and species of 93 species level names for 51 recognized species of small strongyles (Nematoda: Strongyloidea: Cyathostominae) of horses, asses and zebras of the world. *Veterinary Parasitology*. 79 (1), 65-79.

Lichtenfels, J.R., Gibbons, L.M. & Krecek, R.C. (2002). Recommended terminology and advances in the systematics of the Cyathostominae (Nematoda: Strongyloidea) of horses. *Veterinary Parasitology*, 107 (4), 337-42.

Lichtenfels, J.R., Kharchenko, V.A. & Dvojnjos, G.M. (2008). Illustrated identification keys to strongylid parasites (Strongylidae: Nematoda) of horses, zebras and asses (Equidae). *Veterinary Parasitology*, 156 (1-2), 4-161.

Love, S. & Duncan, J.L. (1992). The development of naturally acquired cyathostome infection in ponies. *Veterinary Parasitology*, 44(1-2), 127-142.

Love S., Murphy D., Mellor D. (1999). Pathogenicity of cyathostome infection. *Veterinary Parasitology*, 85, 113-122.

Lyons E, Tolliver S, Drudge J. (1999). Historical perspective of cyathostomes: prevalence, treatment and control programs. *Veterinary Parasitology*, 85, 97-112.

Lyons E.T., Swerczek T.W., Tolliver S.C., Bair H, Drudge J.H., Ennis L. (2000): Prevalence of selected species of internal parasites in equids at necropsy in central Kentucky. *Veterinary Parasitology*, 92, 51-62.

Lyons E., Tolliver S., Drudge J. (2006). *Controlling Internal Parasites of the horse; Agriculture & Natural resources*. Lexington. Family & Consumer Sciences; 4-H/Youth Development; Community & Economic Development.

Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Ionita, M. & Collins, S.S. (2008). Evaluation of parasitocidal activity of fenbendazole, ivermectin, oxibendazole, and pyrantel pamoate in horse foals with emphasis on ascarids (*Parascaris equorum*) in field studies on five farms in Central Kentucky in 2007. *Parasitology Research*, 103 (2), 287-91.

Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Collins, S.S., Ionita, M., Kuzmina, T.A. & Rossano, M. (2011a). Field tests demonstrating reduced activity of ivermectin and moxidectin against small strongyles in horses on 14 farms in Central Kentucky in 2007-2009. *Parasitology Research*, 108 (2), 355-60.

Lyons, E.T., Tolliver, S.C, Kuzmina, T.A (2011b); Investigation of strongyle EPG values in horse mares relative to known age, number positive, and level of egg shedding in field studies on 26 farms in Central Kentucky (2010–2011) ; *Parasitology Research*, v.108 (2), 569-574. Acedido em Janeiro, 2012, disponível em: <http://www.springerlink.com/content/l22m133m36453976/>.

Lyons, E.T., Tolliver, S.C. & Collins, S.S. (2011c). Reduced activity of moxidectin and ivermectin on small strongyles in young horses on a farm (BC) in Central Kentucky in two field tests with notes on variable counts of eggs per gram of feces (EPGs). *Parasitology Research*, 108 (5), 1315-9.

Lucena, R.B., Figuera, R.B., Barros, C.S.L. (2012). Mortalidade em potros associada ao parasitismo por *Strongyloides westeri*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32 (5)

Madeira de Carvalho, L.M. (2000). *Disciplina de parasitologia: notas de apoio às aulas práticas*. (pp. 58-88). Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa.

Madeira de Carvalho, L.M. (2001). *Epidemiologia e controlo da estrogilidose em diferentes sistemas de produção equina em Portugal*. Tese de dissertação de doutoramento. (pp. 128-373). Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa.

Madeira de Carvalho LM, Serra P, Afonso-Roque MM, Fazendeiro MI (2002). Ciatostomiose equina: atualização do seu conhecimento em Portugal. *Proceedings of the Veterinary Sciences Congress, Congresso de Ciências Veterinárias, 100 Anos da Sociedade Portuguesa de Ciências Veterinárias, Tagus Park, Oeiras, 10-12 de outubro de 2002*, 353-354.

Madeira de Carvalho, L.M. (2003a). Estrongilídeos dos equídeos – importância em produção equina, sistemática, taxonomia e biologia (I) *Medicina veterinária* (revista da AEFMV), 57, 16-36.

Madeira de Carvalho, L.M. (2003b). Estrongilídeos dos equídeos – importância em produção equina, sistemática, taxonomia e biologia (II) *Medicina veterinária* (revista da AEFMV), 58, 6-15

Madeira de Carvalho, L. M., Fazendeiro, M. I., & Afonso-Roque, M. M. (2004). Estudo morfométrico das larvas infectantes (L3) dos estrogilídeos (Nematoda: Strongyloidea) dos equídeos - 1. Género *Cyathostomum* s.l. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 11, 23-32.

Madeira de Carvalho, L.M., Fazendeiro, M.I. & Afonso-Roque, M.M. (2005). Estudo do padrão sazonal dos ovos e larvas de estrogilídeos do cavalo numa exploração do Ribatejo, através da contaminação de parcelas experimentais em pastagens espontâneas de sequeiro. *IX Congresso Ibérico de Parasitologia, Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, 25 a 28 de Outubro de 2005*. *Acta parasitológica portuguesa* 12 (1-2): 285.

Madeira de Carvalho, L.M. (2006a). Os equídeos em Portugal: de animais de produção a animais de companhia. I – Impacte nas doenças parasitárias. *Medicina veterinária* (revista da AEFMV), 62, 13-24.

Madeira de Carvalho, L.M. (2006b). Os equídeos em Portugal: de animais de produção a animais de companhia. II – Implicações no controlo das parasitoses gastrintestinais. *Medicina veterinária* (revista da AEFMV), 63, 4-20.



Madeira de Carvalho, L. M., Fazendeiro, M. I., & Afonso-roque, M. M. (2007a). Estudo morfométrico das larvas infectantes (L3) dos estrongilídeos (Nematoda: Strongylidae) dos equídeos - 2. Géneros *Gyalocephalus*, *Poteriostomum*, *Craterostomum*, *Oesophagodontus*, *Triodontophorus*, *Strongylus* e *Trichostrongylus*. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 14, 23-34.

Madeira de Carvalho, L.M., Gillespie, A.T., Serra, P.M., Bernardo, F.A., Farrim, A.P., Fazendeiro, I.M. (2007b). Eficácia do fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* no controlo biológico da estrongilidose equina no Ribatejo. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*. 102 (563-564), 233-247.

Madeira de Carvalho, L. M., Gomes, L., Cernea, M., Cernea, C., Santos, C.A., Bernardes, N., Rosário, M.A., Soares, M. J. & Fazendeiro, I. (2007c). Parasitismo gastrintestinal e seu controlo em asininos e híbridos estabulados. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*. 102 (563-564), 225-231.

Madeira de Carvalho, L. M., Fazendeiro, M. I., & Afonso-Roque, M. M. (2008). Estudo morfométrico das larvas infectantes (L3) dos estrongilídeos (Nematoda: Strongylidae) dos equídeos - 3. Conclusões, perspectivas futuras e proposta de chave de identificação de alguns *nemátodes* gastrintestinais mais comuns nos equídeos em Portugal. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 15, 59-65.

Marchand, C. (2000) – *Le Parasitisme digestif facteur de risque des coliques chez les Équidés: enquête cas-témoin réalisée auprès des écoles vétérinaires*. These pour le Doctorat Vétérinaire, N° 73 - 2000, Diplôme d'Etat, Ecole Nationale Veterinaire de Lyon, 140 pp.

Marley, S.E., Hutchens, D.E., Reinemeyer, C.R., Holste, J.E., Paul, A.J., Rehbein, S. (2004). Antiparasitic activity of an ivermectin and praziquantel combination paste in horses. *Veterinary Therapeutics*. 5(2), 105-119.

Martins, S., Sousa, S., Madeira de Carvalho, L.M. (2007) - A survey of parasite control methods used by horse owners in Portugal. *Proceedings of 21st International Conference of the WAAVP. From Epg to Genes, Gent, Belgium, (19 a 23 Agosto de 2007)*. Poster group 11: Helminth infections of horses, Abstract 508.

Matthews, J.B., Hodgkinson, J.E., Dowdall, S.M. & Proudman, C.J. (2004). Recent developments in research into the Cyathostominae and Anoplocephala perfoliata. *Veterinary Research*, 35 (4), 371-81.

Mercier, P., Chick, B., Alves-Branco, F., White, C.R. (2001). Comparative efficacy, persistent effect, and treatment intervals of anthelmintic pastes in naturally infected horses. *Veterinary Parasitology* .99, 29–39.

Merial Animal Health Ltd. (2012) *SMART- SIMPLY SMARTER WORMING*. Acedido em Setembro, 2011, disponível em: <http://www.smartworming.co.uk/>

Milillo, P., Boeckh, A., Cobb, R., Otranto, D., Lia, R.P., Perrucci, S., di Regalbono, A.F., Beraldo, P., von Samson-Himmelstjerna, G., Demeler, J., Bartolini, R. & Traversa, D. (2009). Faecal cyathostomin egg count distribution and efficacy of anthelmintics against cyathostomins in Italy: a matter of geography?. *Parasite & Vectors*, 2 (Suppl 2), S4 1-7.

Mohammad, K., Fariba K., Ahmad T., Shamsodin G., Khodadad P., Peyman R., Shahrokh N., Arash A., Fateme A. (2011). Comparison of helminth and hard tick

infestation between riding and work horses in Ahwaz, Iran. *Comparative Clinical Pathology*. 21, 333–336.

Molento, M.B. (2005). Resistência parasitária em helmintos de eqüídeos e propostas de manejo. *Ciência Rural, Santa Maria*. 35(6), 1469-1477.

Medica, D.L., Hanaway, M.J., Ralston, S.L., Sukhdeo, M.V.K. (1996). Grazing behavior of horses on pasture: Predisposition to strongylid infection? *Journal of equine veterinary science*. 16 (10), 421-427.

Molento, M.B., Nielsen, M.K., Kaplan, R.M. (2012). Resistance to avermectin/milbemycin anthelmintics in equine cyathostomins-Current situation. *Veterinary Parasitology*. 185(1). 16-24.

Monahan, C.M., Chapman, M.R., Taylor, H.W., French, D.D., Klei, T.R. (1996). Comparison of moxidectin oral gel and ivermectin oral paste against a spectrum of internal parasites of ponies with special attention to encysted cyathostome larvae. *Veterinary Parasitology*. 63, 225-235.

Monahan, C.M. (2000). Anthelmintic Control Strategies for Horses. Acedido em fevereiro de 2011, disponível em [http://www.ivis.org/advances/Parasit\\_Bowman/monahan\\_equine/IVIS.pdf](http://www.ivis.org/advances/Parasit_Bowman/monahan_equine/IVIS.pdf).

Mönnig, H.O. (1950). *Helminthology and Entomology*. (3ª edição). (pp.130-190). South Africa: The Williams & Wilkins Company.

Monteiro, J. (1983) - O Cavalo Lusitano - Contributo para o seu estudo. *Bolm.Pec.*, 49, 1 205.

Mota, M.A., Campos, A.K., Araújo, J.V. (2003). Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 23(3), 93-100.

Muñoz, J. L., Allen, P. L., Díaz, S. C. Identification and determination of gastrointestinal parasites in horses in the island of tierra del fuego, Chile (2009). *Proceedings of the 11th International Congress of World Equine Veterinary Association*. Guarujá, São Paulo, Brasil.

McCraw, B.M. & Slocombe, J.O. (1976). *Strongylus vulgaris* in the horse: a review. *The Love, S., Murphy, D. & Mellor, D. (1999). Pathogenicity of cyathostome infection. Veterinary Parasitology*, 85 (2-3), 113-121. *Canadian Veterinary Journal*. 17(6), 150-7.

Nielsen, M.K., Haaning, N. & Olsen, S.N. (2006a). Strongyle egg shedding consistency in horses on farms using selective therapy in Denmark. *Veterinary Parasitology*, 135 (3-4), 333-335.

Nielsen, M.K., Monrad, J. & Olsen, S.N. (2006b). Prescription-only anthelmintics – a questionnaire survey of strategies for surveillance and control of equine strongyles in Denmark. *Veterinary Parasitology*, 135 (1), 47-55.

Nielsen, M.K., Kaplan, R.M., Thamsborg, S.M., Monrad, J. & Olsen, S.N. (2007). Climatic influences on development and survival of free-living stages of equine strongyles: implications for worm control strategies and managing anthelmintic resistance. *Veterinary Journal*, 174 (1), 23-32.

Nielsen, M.K. & Kaplan, R.M. (2008). Evidence-based equine parasitology: It ain't the 60s anymore. *Proceedings des 36èmes journées annuelles de l'association vétérinaire équine française - Reims, France* (pp. 10-14) Acedido em novembro 15, 2011, disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/avef/2008/session2/1.pdf>.

Nielsen, M.K. (2009). Restrictions of anthelmintic usage: perspectives and potential consequences. *Parasites & Vectors*, 2 (2), S7 1-7.

Nielsen, M.K., Baptiste, K.E., Tolliver, S.C., Collins, SS & Lyons, E.T. (2010). Analysis of multiyear studies in horses in Kentucky to ascertain whether counts of eggs and larvae per gram of feces are reliable indicators of numbers of strongyles and ascarids present. *Veterinary Parasitology*, 174 (1-2), 77-84.

Nilsson, O.; Ljungström, B.L.; höglund, J.; Lundquist, H. (1995). *Anoplocephala perfoliata* in horses in Sweden: prevalence, infection levels and intestinal lesions. *Acta Veterinaria Scandinavia*, 36(3), 319-328.

Nogueira, C.E.W., Lima, N.A.P., Ruas, J., Jardim, A.L. (2002). Eficácia de vermífugos à base de avermectinas e milbemicinas utilizados há cinco anos em uma criação de equinos. *Ciência Rural, Santa Maria*. 32(4), 703-705.

Payne, P.A., Carter, G.R., (2007) Parasitic Diseases: Helminths, In: A Concise Guide to the Microbial and Parasitic Diseases of Horses, (Eds.). International Veterinary Information Service, Ithaca NY. Acedido a dezembro, 2011, disponível em: [http://www.ivis.org/advances/Carter\\_Equine/section3\\_helm/chapter.asp?LA=1](http://www.ivis.org/advances/Carter_Equine/section3_helm/chapter.asp?LA=1).

Pereira da Fonseca, I. (1991). *Introdução ao estudo dos gasterofilídeos: (Diptera:Gasterophilidae) de Portugal*. Provas de Aptidão Pedagógica, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa.

Pereira, J.R., Vianna, S.S.S. (2006). Gastrointestinal parasitic worms in equines in the Paraíba Valley, State of São Paulo, Brazil. *Veterinary Parasitology*. 140, 289–295.

Pickles, K.J., Mair, J.A., Lopez-Villalobos, N., Shaw, D.J., Scott, I., Powroy, W. (2010). Large intestinal mast cell count and proteinase expression is associated with larval burden in cyathostomin-infected horses. *Equine Veterinary Journal*. 42 (7), 652-657.  
Proudman CJ, Matthews JB: Control of Intestinal Parasites in Horses. *In Practice* 2000, 22(2), 90-97.

Radostitis O.M.; Gay, C.C.; Hinchcliff, K.W.; Constable, P.D. (2000). *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. (9th ed.). Philadelphia: Saunders Elsevier.

Ramsey, Y.H., Christley, R.M., Matthews, J.B., Hodgkinson, J.E., McGoldrick, J., Lovea, S. (2004). Seasonal development of Cyathostominae larvae on pasture in a northern temperate region of the United Kingdom. *Veterinary Parasitology*. 119, 307–318.

Reichmann, P., Lisboa, J.A.N., Balarin, M.R.S., Pereira, A.B.L. (2001). Valores hematológicos em equinos naturalmente infectados por estrongilídeos. *Semana de Ciência Agrária*. 22 (2), 179-181.

Reinemeyer, C.R., Smith, S.A., Gabel, A.A., Herd, R.P. (1984). The prevalence and intensity of internal parasites of horses in the U.S.A. *Veterinary Parasitology*. 15, 75-83.

Reinemeyer, C.R. (1986). Small strongyles. Recent advances. *Veterinary Clinic of North America Equine Practice*, 2(2), 281-312.

Reinemeyer, C.R.(1992). Equine small strongyles: Unanswered questions. *The Compendium – Equine Forum*, 816-881.

Reinemeyer, C.R. (1998). Practical and theoretical consequences of larvicidal therapy. *Equine Practice*, 20 (4), 10-13.

Reinemeyer, R., (2008a) Parasite Control Recommendations for Horses During the First Year of Life, in *Proceedings of the American Association of Equine Practitioners*. Acedido em dezembro, 2011, disponível em: <http://www.ivas.org/proceedings/aaepfocus/2008/Reinemeyer.pdf>.

Reinemeyer, R., (2008b), Anthelmintic resistance in non-strongylid parasites of horses – current situation, in *Proceeding International Equine Parasite Drug Resistance Workshop*.

Reinemeyer, C.R., (2009), Diagnosis and control of anthelmintic-resistant *Parascaris equorum*, *Parasites & Vectors*, 2(Suppl 2):S8 doi:10.1186/1756-3305-2-S2-S8

Reis, P.M.C. (2011). *Epidemiologia e controlo do parasitismo gastrintestinal em éguas e seus poldros numa exploração do Ribatejo*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa.

Rodrigues, A.C. (1996). *Aspetos de Gasterophilus nasalis (LINNAEUS, 1758) (DIPTERA: GASTEROPHILIDAE) na microregião fluminense do grande rio, RJ, no período de julho de 1994 a julho de 1996*. Tese para obtenção do grau de Magister Scientiae. Faculdade Ciência Sociais e Agrárias de Itapeva, São Paulo, Brasil.

Saeed, K., Qadir, Z., Ashraf, K., Ahmad, N. (2010). Rolde of intrinsic and extrinsic epidemiological factors on strongylosis in horses. *The Journal of Animal and Plants Sciences*. 20(4), 277-280.

Santos, C.P., Padilha, T., Rodrigues, M.L.A. (2001). Actividade Predatória de *Arthrobotrys oligospora* e *Duddingtonia flagrans* nos estádios larvares pré-parasíticos de cyathostominae sob diferentes temperaturas constantes. *Ciência Rural, Santa Maria*. 31(5). 839-842.

Sellon, DC, Long, MT. Eds. (2007) *Equine Infectious Diseases*. St.Louis: Elsevier.

Silva Leitão, J. (1978). *Parasitologia Veterinária – Volume I – Parasitas*. (pp. 15-26). 3ª edição. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.

Soulsy, E.J.L. (1986) - *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*. 4th Ed., Baillière Tindall, London, G.B., 809 pp.

Sousa, S.R., Martins S. (2005). Contribuição para o estudo parasitológico em asininos no distrito de Coimbra. *Albêitar*, 1 (4), p. 5.

Sousa, S.R., Mora, S., Nóvoa, M., Paz Silva, A., Madeira de Carvalho, L.M. (2011). Parasitismo intestinal numa população de asininos de raça de Miranda entre 2005 e 2011- Efeito de desparasitação semestral estratégica vs. Desparasitação trimestral

selectiva. *Ils Jornadas do Grupo de Trabalho de Investigação em Equídeos- "Panorama da investigação equina em Portugal"*.

Smets, K., Shaw, D., Deprez, D., Vercruyse, J. (1999). Diagnosis of larval cyathostomiasis in Belgium. *Veterinary Record*, 144, 665-668.

Spinosa H.S., Górnica S.L., Bernardi M.M. (2006). *Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária*. (4ª edição). (pp. 519-550). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Stoneham, S., Coles, G.C., (2006). Ivermectin resistance in *Parascaris equorum*. *Veterinary Record*, 158, 572.

Stratford, C.H., McGorum, B.C., Pickles, K.J., Matthews, B. (2011). An update on cyathostomins: Anthelmintic resistance and diagnostic. *Equine Veterinary Journal*. 43 (39), 133-139.

Swor, T.M., Whittenburg, J.L., Chaffin, M.K. (2008). Ivermectin Toxicosis in Three Adult Horses. *Proceedings of the 54th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*, 54,332, San Diego, California.

Tamara, M.S., Whittenburg, J.L., Chaffin, M.K. (2008). Ivermectin toxicosis in three adult horses. *Proceedings of the 54th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*. San Diego, California.

Tamzali, Y., Birague, M. (2006). Clinical signs, diagnosis and a prognosis in equids suffering from equine cyathostomiasis. *Proceedings of the 9th International Congress of World Equine Veterinary Association*. JanMarrakech, Morocco.

Tarazona Vilas, J.M. (1999). Estrongilidosis causadas por grandes y pequeños estrongilos. In M. Cordero del Campillo, F. A. Rojo Vázquez, A.R. Martines Fernández, C. Sánchez Acedo, S. Hernández Rodríguez, I. Navarrete López-Cozar, P. Díez Baños, H. Quiroz Romero & M. Carvalho Varela, *Parasitología Veterinária*. (pp.545-560). Madrid, España: McGraw-Hill-Interamericana de España, S. A. U.

Tavela, A.O. (2010). *Controlo biológico de ciatostomíneos de equinos resistentes a ivermectina e pamoato de pirantel com o fungo Monacrosporium thaumasium*. Dissertação para obtenção do título de *Magister Scientiae*. Minas Gerais. Faculdade de Medicina Veterinária-Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Taylor, M. A., Coop, R. L., Wall R.L., Wall R. (2007) *Veterinary parasitology*, Blackwell Pub..

Toguchi M., Chinone S. (2005). Evaluation of the efficacy of Oral Paste Formulations of Ivermectin against Gastrointestinal Parasites in Horses; *Journal of Equine Veterinary Science*. 16(4), 105-110.

Toit, N., McGorum, B.C., Pemberton, A.D., Brown, J., Dacre, K.J. (2007). The involvement of mast cells and mast cell proteinases in the intestinal response to equine cyathostomiasis infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 115, 35-42.

Toscan, G., Cezar, A.S., Pereira, R.C.F., Silva, G.B., Sangioni, L.A., Oliveira, L.S.S., Vogel, F.S.F. (2012). Comparative performance of macrocyclic lactones against large strongyles in horses. *Parasitology International*. 61, 550-553.

Thienpoint, D., Rochette, F. & Vanparijs, O.F.J. (1986). *Diagnóstico de las helminthiasis por medio del examen coprológico*. (2ª edição). (pp. 69-89). Beerse,Belgium: Janssen Research Foundation.

Traversa, D., Lorio, R., Petrizzi, L., Amicis, I., Brandt, S., Meana, A., Giangaspero, A., Otranto, D. (2007). Molecular diagnosis of equid summer sores. *Veterinary Parasitology*

Traversa, D., Milillo, P., Barnes, H., von Samson-Himmelstjerna, G., Schurmann, S., Demeler, J., Otranto, D., Lia, R.P., Perrucci, S., Frangipane di Regalbono, A., Beraldo, P.,

Amodie, D., Rohn, K., Cobb, R. & Boeckh, A. (2009). Distribution and species-specific occurrence of cyathostomins (Nematoda, Strongylida) in naturally infected horses from Italy, United Kingdom and Germany. *Veterinary Parasitology*, 168 (1-2), 84-92.

Traversa, D. (2009). Equine parasites: diagnosis and control. *Parasites & Vectors*.2(Suppl 2):11 doi:10.1186/1756-3305-2-S2-11.

Trotz-Williams L., Physick-Sheard P., McFarlane H., Pearl D.L., Martin S.W., Peregrine A.S. (2008). Occurrence of *Anoplocephala perfoliata* infection in horses in Ontario, Canada and associations with colic and management practices. *Veterinary Parasitology*, 153 (1-2), 73-84.

Uhlinger, C. (1990). Effects of three anthelmintic schedules on the incidence of colic in horses. *Equine Veterinary Journal*. 22(4), 251-254.

University of Liverpool (2012). *Diagnosteq - Solutions to Worm Control*. Acedido em Fevereiro, 2012, disponível em: <http://www.liv.ac.uk/diagnosteq/index.htm>

Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M. & Jennings, F.W. (1996). *Parasitologia veterinária*. (2ª ed.). (pp. 37-41). Oxford: Blackwell Science Limited

Urquhart, G. M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M. & Jennings, F.W. (2001). *Veterinary Parasitology*. (2th ed.). Oxford: Blackwell Science Ltd.

von Samson-Himmelstjerna, G., (2008), Anthelmintic resistance in equine parasites – potential clinical relevance and implications for control. *In Proceeding International Equine Parasite Drug Resistance Workshop*.

von Samson-Himmelstjerna, G., Traversa, D., Demeler, J., Rohn, K., Milillo, P., Schurmann,S., Lia, R., Perrucci, S., di Regalbono, A.F., Beraldo, P., Barnes, H., Cobb, R. & Boeckh, A. (2009). Effects of worm control practices examined by a combined faecal egg count and questionnaire survey on horse farms in Germany, Italy and the UK. *Parasite & Vectors*, 2 (Suppl 2), S3 1-7.

Von Witzendorff C., Quintana I., Siervers G., Schnieder T., von Samson-himmelstjerna G. (2003). Estudio sobre Resistencia frente a los bencimidazoles de pequeños estróngilos (Cyathostominae) del equino en el sur de Chile. *Arch.med.vet.* 35 (2), 187-194.

Xiao, L., Herd, R.P., Majewski, G.A. (1994). Comparative efficacy of moxidectin and ivermectin against hypobiotic and encysted cyathostomes and other equine parasites. *Veterinary Parasitology*. 53, 83-90.

## **Anexos**

### **Anexo 1- Atividades desenvolvidas durante o estágio curricular**

Durante o estágio curricular realizaram-se um conjunto de atividades para além das desenvolvidas no âmbito do projeto STOP, que de seguida são descritas.

Realizou-se a recolha de amostras de fezes de equinos e asininos do concelho de Sintra para avaliação do grau de parasitismo, prevalência de parasitas e eficácia de tratamento – cavalos de passeio, cavalos de escola de equitação, cavalos de lazer, asininos de uma reserva com fins educacionais; recolha de fezes dos cavalos do colégio militar de Mafra e avaliação de eficácia terapêutica; avaliação do grau de parasitismo dos cavalos e asininos dos estábulos da FMV/UTL; controlo/avaliação parasitológica de cavalos de raça Ardennais no âmbito do projeto “Adaptação de Ardennais ao microclima de Sintra” desenvolvido pela instituição Parques de Sintra Monte da lua (PSML). Nestes cavalos realizou-se raspagens cutâneas nos membros inferiores para pesquisa de ácaros (positivo para *Psoroptes equi*), esfregaços sanguíneos para pesquisa de hemoparasitas e de análises coprológicas antes e após administração do fármaco anti-helmíntico; Avaliação da viabilidade das coproculturas existentes no LPDP da FMV/UTL desde 2004; comunicação oral em escolas de ensino básico do concelho de Sintra sobre “Animais domésticos e a sua importância na sociedade”.

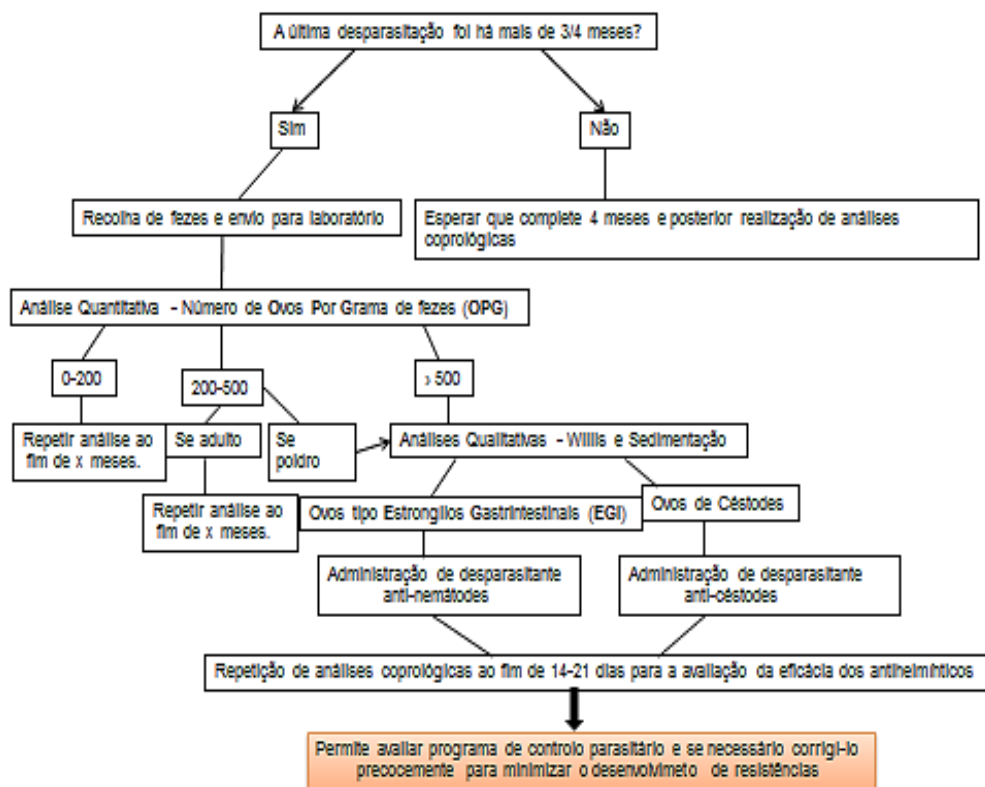
Através da Bolsa Luso-Brasileira Santander Universities, entre 21 de maio e 30 de setembro de 2012 foi realizado um estágio no Laboratório de Helminologia Veterinária da UNESP, Campus Botucatu, no total de 760 horas, sob a orientação do Prof. Dr. Alessandro F. T. Amarante, onde foi desenvolvida uma atividade experimental intitulada “Influência dos fatores climáticos no desenvolvimento dos estádios de vida livres dos strongilídeos de equinos”. Nesse período foram efetuadas colheitas de fezes de um equino com um intervalo de dois dias, realizando posteriormente técnicas parasitológicas como a de McMaster, a de Flutuação ou de Willis, a de Sedimentação, a Coprocultura e a de Baerman, assim como a identificação das larvas L3 encontradas nas amostras. Foi também efetuado um registo diário das condições climáticas durante o período do estudo (Tº mínima, Tº máxima e precipitação).

**Anexo 2- Medicamentos antiparasitários cuja utilização em equinos  
efetuada extra-indicação (off-label)**

<b>Classe</b>	<b>Substância ativa</b>	<b>Mecanismo de ação</b>	<b>Espectro de ação</b>	<b>Medicamento</b>
Lactonas Macroclínicas- Avermectinas (AVM)	Ivermectina (IVM)	Agonistas do GABA e do glutamato- ligam-se aos canais de cloro, hiperpolarizando as células nervosas e musculares	Eficácia sobre os estádios adultos e imaturos de nemátodes gastrintestinais e nas formas larvares da família Oestridae	Ivomec <sup>®**</sup> Noromectin <sup>®**</sup>
	Doramectina	Idem como a IVM	Idem como a IVM	Dectomax <sup>®</sup>
Lactonas Macroclínicas- Milbemicinas (MBM)	Moxidectina (MOX)	Idem como a IVM	Idem como a IVM mas apresenta alguma eficácia nas larvas enquistadas dos ciatostomíneos	Cydectin a 1%



### Anexo 3- Fluxograma de decisão baseado nos princípios do tratamento seletivo



## Anexo 4- Informações (dados) pedidos sobre o animal participante no Projeto STOP

A figura seguinte é um exemplar do autocolante colocado nos sacos de recolhas das fezes para a obtenção de informação do respetivo animal, do seu proprietário e do médico veterinário assistente.

1ª amostra

2ª amostra



### Dados do Animal:

Cavalo  Burro

Nome: \_\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_

Data da última desparasitação: \_\_\_\_\_

Produto com que desparasitou: \_\_\_\_\_

Data da colheita das fezes: \_\_\_\_\_

Tipo de alimentação: \_\_\_\_\_

Teve doenças anteriores? \_\_\_\_\_ Se sim, quais? \_\_\_\_\_

Vive com outros animais? \_\_\_\_\_ Se sim, quais? \_\_\_\_\_

Vive como? Ar livre  Estábulo  Misto

### Outras informações importantes:

Nome do Médico Veterinário Assistente: \_\_\_\_\_

Nome do proprietário: \_\_\_\_\_

Email de contacto: \_\_\_\_\_

Morada para envio de resultados: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

## Anexo 5- Exemplar do relatório dos resultados obtidos das técnicas parasitológicas realizadas



### RESULTADOS DAS ANÁLISES COPROLÓGICAS/PARASITOLÓGICAS

Relatório nº \_\_\_\_\_

#### Identificação do proprietário

Nome \_\_\_\_\_

Morada \_\_\_\_\_

Contacto \_\_\_\_\_

#### Identificação do animal

Nome \_\_\_\_\_

Idade \_\_\_\_\_

Sexo \_\_\_\_\_

#### Identificação do Médico Veterinário Assistente

Nome \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Contacto \_\_\_\_\_

Antes da desparasitação – Data \_\_\_\_\_

McMaster (OPG)	Willis / Flutuação	Sedimentação
Coprocultura		

Depois da desparasitação – Data \_\_\_\_\_

McMaster (OPG)	Willis / Flutuação	Sedimentação
Coprocultura		

Nota: Método de McMaster - quantifica o número de Ovos de parasita Por Grama de fezes do animal (OPG); Técnica de Willis/Flutuação e Técnica de Sedimentação - identificação do tipo de ovos encontrados. Coprocultura, após incubação em estufa durante 14 dias permite a identificação das larvas eventualmente presentes.

**RECOMENDAÇÕES** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

O Rastreio STOP – Simples Teste de Ovos Parasitários é um rastreio apoiado pela Merial Saúde Animal Portugal e em parceria com o Laboratório de Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa.

**Contactos do Laboratório de Doenças Parasitárias:** Tel. 21 3652800 Ext. 1334 **Emails:** Professor Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho – madeiradecarvalho@fmv.utl.pt | Professora Doutora Berta Fernandes Ferreira São Braz – bsaobraz@fmv.utl.pt  
**Contactos da Merial Portuguesa:** Tel. 21 916 9340

## **Anexo 6 – Método de McMaster**

(Thienpoint *et al.*, 1986; Madeira de Carvalho, 2001)

1. Homogeneizar as amostras de fezes.
2. Identificar os copos de plástico.
3. Diluir 2 gramas de fezes de cada amostra em 28 ml de solução saturada (medidos em proveta graduada).
4. Filtrar, homogeneizar e introduzir a suspensão nas câmaras de McMaster.
5. Deixar as lâminas repousar alguns minutos.
6. Observar ao microscópio ótico, focando a camada superior onde se encontram focadas as linhas da grade da câmara.
7. Proceder à contagem na totalidade das células da Câmara de McMaster e multiplicar o número obtido por 50 de modo a obter o número de ovos por grama de fezes (OPG).

## **Anexo 7 – Método de flutuação de Willis**

(Thienpoint et al., 1986; Madeira de Carvalho, 2001)

1. Atribuir a cada amostra um número.
2. Identificar os copos de plástico e os tubos de ensaio.
3. Homogeneizar as amostras.
4. Colocar, com a ajuda de uma espátula, cerca de 2 gramas de fezes em cada copo e adicionar a solução saturada de sacarose.
5. Emulsionar a mistura.
6. Passar o conteúdo de cada copo para o correspondente tubo de ensaio, através de um passador até obter um menisco convexo no topo do tubo de ensaio (lavar o passador a cada utilização para evitar contaminações cruzadas das amostras).
7. Cobrir cada tubo com as lamelas.
8. Esperar 15 a 20 minutos.
9. Cobrir as lâminas previamente identificadas com as lamelas obtidas anteriormente.
10. Observar ao microscópio

## **Anexo 8 – Método de sedimentação natural**

(Thienpoint *et al.*, 1986; Madeira de Carvalho, 2001)

1. Utilizar o sedimento do método de Willis (ver Anexo 1).
2. Deixar sedimentar o conteúdo dos tubos de ensaio do método de Willis e retirar o sobrenadante.
3. Se necessário proceder à lavagem do sedimento.
4. Adicionar algumas gotas de corante azul-de-metileno aos tubos de ensaio.
5. Com ajuda de pipetas Pasteur (uma para cada tubo) colocar uma gota da solução em cada uma das lâminas previamente identificadas.
6. Cobrir com lamelas e observar ao microscópio.

## **Anexo 9 – Coproculturas** (Madeira de Carvalho, 2001)

1. Homogeneizar as amostras de fezes.
2. Identificar os copos de plástico com uma caneta de acetato (número da amostra, data da colheita e dia a retirar a coprocultura da estufa).
3. Colocar uma quantidade de fezes previamente pesada (cerca de 50/ 60 gramas) registrar o peso correspondente.
4. Deixar as fezes não compactas e realizar um orifício no centro das mesmas com auxílio de uma vareta.
5. Cobrir os copos das coproculturas com papel de alumínio e perfurar o mesmo com uma pinça.
6. Colocar os copos de coprocultura num tabuleiro com água no fundo do mesmo.
7. Colocar na estufa a 26 °C.
8. Após 14 dias retirar as coproculturas da estufa.
9. Retirar o papel de alumínio de todos os copos e encher os mesmos com água até ao seu bordo superior.
10. Inverter os copos sobre placas de Petri e preencher o espaço restante das placas com água.
11. Deixar os copos repousar durante um período de 24 horas.
12. Colocar a suspensão remanescente nas caixas de Petri em tubos de ensaio previamente identificados.
14. Armazenar os tubos de ensaio cobertos com Parafilm® no frigorífico para posterior observação.

## Anexo 10- Chave de identificação de larvas L3 nas coproculturas

(Adaptado de Madeira de Carvalho, Fazendeiro, & Afonso-Roque, 2004; 2007; 2008)

1	Larvas sem bainha	2
	Larvas com bainha	3
2	Presença de boca visível, esófago rãbitiforme (com bulbo), presença de machos, fêmeas e ovos no mesmo campo, ficam hiper-corados pelo soluto de lugol  Esófago filariforme, > 1/3 do comprimento do corpo, cauda da larva termina em forma de “v” pequeno	Nemátodes de vida livre  <i>Strongyloides westeri</i>
3	Cauda da bainha muito curta, 80 a 115 µm do ânus a extremidade posterior da bainha, não apresentando forma de chicote, com comprimento total médio de 738 µm  Cauda da bainha comprida (<175 µm) e em forma de chicote	<i>Trichostrongylus axei</i>
4	. Larvas de tamanho médio com 6 a 9 células intestinais, com comprimentos totais médios de 773 a 886 µm . Larvas de tamanho pequeno a grande com mais de 9 células intestinais, comprimentos totais médios de 731 a 992 µm	4 5 8
5	. Larvas de tamanho médio com 8 células intestinais com organização e forma bem definidas, comprimentos totais médios de 812 a 848 µm ( <i>Cyathostomum sensu latum</i> tipos A, B, C e D) . Larvas de tamanho médio a grande com 6 a 9 células intestinais sem organização e forma definidas, comprimentos totais médios de 773 a 886 µm ( <i>Cyathostomum sensu latum</i> tipos E, F, G e H)	6 7
6	. Larvas de dimensão média com 8 células intestinais, em que as duas primeiras (triangulares ou retangulares) formam uma fila dupla e as restantes seis (trapezoidais ou retangulares) formam uma fila única; comprimento total médio de 812 µm ( <i>Cyathostomum</i> spp. tipo A)  . Larvas de dimensão média com 8 células intestinais triangulares ou pentagonais arranjadas em fila dupla; comprimento total médio de 828 µm ( <i>Cyathostomum</i> spp. tipo B)	<i>Cylicocyclus insigne</i> <i>Cylicoc. nassatus</i> <i>Cylicoc. radiatus</i> <i>Cylicostephanus minutus</i> <i>Cylicost. longibursatus</i> (?) <i>Cyathostomum catinatum</i> <i>Cyath. pateratum</i> <i>Petrovinema poculatum</i>  <i>Cylicoc. brevicapsulatus</i> <i>Cylicoc. ultrajectinus</i> <i>Cylicodontophorus bicoronatus</i>



	<p>. Larvas de dimensão média a grande com 8 células intestinais, em que as quatro primeiras formam uma fila dupla (pentagonais, triangulares ou retangulares) e as restantes quatro (trapezoidais) estão arranjadas em fila única; comprimento total médio de 848 µm (<i>Cyathostomum</i> spp. tipo C)</p> <p>. Larvas de dimensão média a grande com 8 células intestinais em fila única com forma trapezoidal ou triangular; comprimento total médio de 843 µm (<i>Cyathostomum</i> spp. tipo D)</p>	<p><i>Cylicost. calicatus</i> <i>Cylicost. hybridus</i> <i>Cylicost. longibursatus</i></p> <p>Espécies não determinadas</p>
7	<p>. Larvas de pequena dimensão com 6 células intestinais triangulares e/ou trapezoidais com arranjo diverso; em fila dupla ou única; comprimento total médio de 773 µm (<i>Cyathostomum</i> spp. tipo E)</p> <p>. Larvas de média dimensão com 7 células intestinais triangulares/trapezoidais e alongadas com arranjo diverso; 2-4 células em fila dupla e as restantes em fila única ou arranjo misto; comprimento total médio de 824µm (<i>Cyathostomum</i> spp. tipo F)</p> <p>. Larvas de média a grande dimensão com 8 células intestinais triangulares e/ou retangulares (alongadas e estreitas), trapezoidais (porção distal) com arranjo diverso; comprimento total médio de 848 µm (<i>Cyathostomum</i> spp. tipo G)</p> <p>. Larvas de grande dimensão com 9 células intestinais, triangulares e alongadas, as primeiras 6 em fila dupla e as restantes em fila única; comprimento total médio deste grupo 886 µm (<i>Cyathostomum</i> spp. tipo H)</p>	<p>Espécies não determinadas</p> <p>Espécies não determinadas</p> <p>Espécies não determinadas</p> <p>Espécies não determinadas</p>
8	<p>. Larvas com 12 células intestinais arranjadas em fila dupla (células com forma rectangular e pentagonal), ou 6-10 células emparelhadas e as restantes em fila única (trapezoidal e triangular); comprimento total médio de 731 µm</p>	<p><i>Gyalocephalus capitatus</i></p>
9	<p>. Larvas de dimensão média (comprimento médio de 786 µm e largura média de 28 µm), com 16 células intestinais rectangulares e pentagonais; proporção corpo da larva/porção distal (cl/pd) = 2,1:1</p> <p>. Larvas de grande dimensão (comprimento médio de 992 µm e largura média de 35 µm), com intestino longo (415 µm), com 16 células grandes e distintas, de forma triangular mas por vezes pentagonais alongadas; proporção cl/pd = 2,4:1</p> <p>. Larvas de grande dimensão (comprimento médio de 862 µm e largura média de 29 µm), com 16 células intestinais, rectangulares (nas células proximais e em fila dupla), pentagonais e/ou triangulares (nas células distais e em posição intermédia ou com uma única célula terminal); proporção cl/pd = 1,8:1</p>	<p><i>Poteriostomum</i> spp.</p> <p><i>Oesophagodontus robustus</i></p> <p><i>Craterostomum acuticaudatum</i></p>

	<p>. Larvas de grande dimensão (comprimento médio de 907 <math>\mu\text{m}</math> e largura média de 30 <math>\mu\text{m}</math>), com 16 células intestinais; as proximais são rectangulares alongadas e as restantes pentagonais.</p> <p>As duas células distais são assimétricas, uma com metade do comprimento da outra mas com terminação ao mesmo nível, proporção cl/pd = 1,7:1</p> <p>. Larvas de grande dimensão e finas (comprimento médio de 901 <math>\mu\text{m}</math> e largura média de 18 <math>\mu\text{m}</math>), com 16 células intestinais pouco diferenciadas; transição pouco distinta entre o esófago e o intestino; cauda da larva com um lobo na extremidade; cauda da bainha curta; proporção cl/pd = 4,1:1</p>	<p><i>Triodontophorus serratus</i></p> <p><i>Strongylus equinus</i></p>
12	<p>. Larvas de pequena a média dimensão e finas (comprimento médio de 789 <math>\mu\text{m}</math> e largura média de 23 <math>\mu\text{m}</math>), com 18 a 20 células intestinais triangulares, estreitas, alongadas e mal definidas; esófago curto; proporção cl/pd = 2,2:1</p> <p>. Larvas de média a grande dimensão, grossas (comprimento médio de 834 <math>\mu\text{m}</math> e largura média de 28 <math>\mu\text{m}</math>), com 18 a 20 células intestinais pentagonais (mais frequentes), rectangulares e triangulares. As células distais são justapostas ou em posição intermédia; esófago longo (cerca de 1/3 do comprimento do corpo da larva); proporção cl/pd = 2,1:1</p>	<p><i>Strongylus edentatus</i></p> <p><i>Triodontophorus spp.</i> (Excepto <i>Triodontophorus serratus</i>)</p>
13	<p>Larvas de grande dimensão e grossas (comprimento médio de 936 <math>\mu\text{m}</math> e largura média de 32 <math>\mu\text{m}</math>), com mais de 20 células intestinais, sendo pentagonais e/ou triangulares, bem definidas e com coloração muito escura; esófago curto; proporção cl/pd = 2,8:1</p>	<p><i>Strongylus vulgaris</i></p>