



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

FACULDADE DE MEDICINA

CONTROLO DA CIATOSTOMINOSE EQUINA:
UMA ABORDAGEM INTEGRADA

SOFIA GASPAR GERSÃO

TESE DE MESTRADO EM PATOLOGIA EXPERIMENTAL

ORIENTADOR

Professor Doutor António Silvério Cabrita – FMUC

CO-ORIENTADOR

Professor Doutor Luís Madeira de Carvalho – FMV-UTL

2010

COIMBRA



UNIVERSIDADE DE COIMBRA
FACULDADE DE MEDICINA

CONTROLO DA CIATOSTOMINOSE EQUINA:
UMA ABORDAGEM INTEGRADA

SOFIA GASPAR GERSÃO

TESE DE MESTRADO EM PATOLOGIA EXPERIMENTAL

ORIENTADOR

Professor Doutor António Silvério Cabrita – FMUC

CO-ORIENTADOR

Professor Doutor Luís Madeira de Carvalho – FMV-UTL

2010

COIMBRA

DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA TESE

Nome: Sofia Gaspar Gersão

Endereço electrónico: sofiagersao@gmail.com Telefone: 965686516

Número do Bilhete de Identidade: 11331819

Tese de Mestrado:

Controlo da ciatostominose equina: uma abordagem integrada

Orientador(es):

Professor Doutor Professor Doutor António Silvério Cabrita – FMUC

Professor Doutor Luís Madeira de Carvalho – FMV-UTL

Ano de conclusão 2010

Mestrado em Patologia Experimental

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, ___/___/2010

Assinatura: _____

Ao Nuno, meu marido e meu Amor, pelo apoio incondicional.

Individuality seems to be Nature's whole aim – and she cares nothing for individuals.

GOETHE, *Maxims and Reflections*, início séc. XIX

Nature, to be commanded, must be obeyed.

SIR FRANCIS BACON, *Novum Organum*, 1620

Agradecimentos

Ao Professor Doutor António Manuel Silvério Cabrita, Director do Instituto de Patologia Experimental da FMUC (Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra), Coordenador do Mestrado em Patologia Experimental e Professor Auxiliar na FMUC, orientador da minha tese, pelo acompanhamento, disponibilidade e revisão crítica durante as várias fases do meu trabalho.

Ao Professor Doutor Luís Madeira de Carvalho, Professor Associado com Agregação da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa (FMV – UTL), docente de Parasitologia e Patologia e Clínica das Doenças Parasitárias, co-orientador da minha tese de mestrado, pela coordenação na realização do desenho experimental, pelo acompanhamento atento do meu trabalho prático, pela disponibilidade e pelo inestimável apoio bibliográfico.

Ao Exército Português, Estado Maior do Exército, Direcção dos Serviços de Saúde e Comando de Instrução, e na pessoa do Ex.mo Coronel Paula Santos, Comandante do CMEFD (Centro Militar de Educação Física e Desportos), por terem autorizado e possibilitado a realização do meu trabalho de mestrado nas instalações do Centro.

Ao Director do Hospital de Equinos do CMEFD, Dr. José Carlos Sanches Ribeiro, (TEN COR MED VET), pela amabilidade com que me recebeu e pela prontidão com que me orientou nos procedimentos necessários e na prestação de informações relativas ao funcionamento do Hospital, ao maneio dos animais e ao historial clínico.

Aos meus colegas do CMEFD pela amizade, à Dr.^a Ana Teresa Silva (MAJ MED VET) que me acompanhou durante o trabalho prático no CMEFD e ao Dr. João Borges (TEN MED VET) pela partilha de experiências profissionais. Ao Enfermeiro de Veterinária Manuel Cristóvão (SCH) pela simpatia na transmissão de informação relativamente à história clínica dos animais do CMEFD e

aos procedimentos de rotina. Às estagiárias Alexandra Pinto e Luísa Loução que ajudaram durante a colheita de amostras e desparasitações efectuadas.

Ao Professor Doutor Rui Caldeira, Professor Catedrático da FMV – UTL, docente de Zootecnia Geral e Produção Animal, pela disponibilidade e pelo apoio prestados, nomeadamente na cedência de documentação referente à avaliação da condição corporal em equídeos. À Dr.^a Maria João Fradinho, Técnica Superior da DGV, doutoranda na FMV – UTL, pela possibilidade de acompanhar a avaliação corporal de equídeos nas saídas de campo, sem a qual não teria sido possível fazer avaliações a ¼ de ponto...

À Professora Doutora Isabel Neto, Professora Auxiliar na FMV – UTL, Docente de Bioestatística, Informática e Documentação, pela infindável paciência e pelo acompanhamento e revisão da análise estatística e metodologias utilizadas. O meu muito obrigada!

À Lídia Gomes, Técnica de do Laboratório de Doenças Parasitárias da FMV – UTL, pela amizade e pelo apoio no laboratório.

Ao meu pai, pelas longas conversas que resultaram em sessões de *brainstorming* inspiradoras.

À Isis Alonso e à Helena Castanhinha pela grande amizade, encorajamento e visão crítica!

À minha família: à avó Elvira, à Marisa e ao Manuel, às manas Catarina e Rita, às sobrinhas Inês e Miriam e à família Silva – por tudo!

À Sandra, à Paulinha e a todos os meus amigos, pela paciência e encorajamento.

Ciatostominose Equina: uma Abordagem Integrada

Palavras-chave: equídeo; parasitas nemátodes; *Strongyloidea*; *Cyathostominae*; stress; controlo anti-helmíntico selectivo; Portugal.

Resumo

O equilíbrio hospedeiro-parasita na ciatostominose equina e a eliminação fecal de ovos de estrongilídeo como indicador de stress foram avaliados em dois estudos de desparasitação selectiva (2004 e 2008/9) numa população de 80 equídeos, com o limiar de desparasitação de 500 ovos por grama de fezes (OPG).

Em ambos os estudos foram avaliados mensalmente os OPGs individuais e foram efectuadas coproculturas para avaliação da composição da população parasitária. No estudo de 2008/2009 foi ainda avaliada a evolução da condição corporal individual e no estudo retrospectivo de 2004 dois grupos expostos a um nível elevado de stress (poldros de desbaste e cavalos de desporto) foram submetidos mensalmente a recolha de sangue para determinação do hematócrito, proteínas totais e contagem diferencial de leucócitos.

Os resultados confirmam a desparasitação selectiva como uma abordagem segura e economicamente viável face à desparasitação estratégica (supressiva) tradicional realizada anualmente, diminuindo para cerca de metade o número de animais desparasitados. A influência do stress na eliminação de ovos de estrongilídeo foi patente nos animais jovens e a condição corporal mostrou-se relacionada com alterações na nutrição mas não com a eliminação individual de ovos. A eficácia da ivermectina foi de 100% ao dia 14 em ambos os estudos e os ciatostomíneos *sensu lato* apresentaram-se como a população parasitária predominante em todas as coproculturas.

A revisão bibliográfica incidiu sobre a epidemiologia, patologia, profilaxia e diagnóstico da ciatostominose, bem como sobre a evolução das resistências dos parasitas gastro-intestinais dos equídeos aos anti-parasitários comerciais. São ainda analisados temas menos abordados na parasitologia equina como a etologia e o stress, as eliminações de ovos em animais saudáveis, anti-parasitários alternativos e práticas veterinárias etnológicas.

São expostas medidas alternativas e complementares de controlo da ciatostominose equina (e das estrongilidoses em geral) que permitem evitar ou minimizar o recurso a anti-helmínticos químicos. É dada especial atenção às indicações práticas, que se pretendem objectivas e claras por forma a serem facilmente postas em prática no campo pelo clínico assistente no contexto de uma abordagem multidisciplinar.

Equine Cyathostomosis: a Comprehensive Approach

Key words: horse; nematode parasites; *Strongyloidea*; *Cyathostominae*; stress; targeted deworming; Portugal.

Abstract

The host-parasite equilibrium in equine cyathostomosis and the role of faecal egg output as a stress index were assessed in two periods (2004 and 2008/9) using a targeted approach to deworming in a population of 80 horses. The chosen threshold for individual deworming was of 500 eggs per gram of faeces (EPG).

In both studies the individual EPG was assessed monthly and coprocultures were made to estimate the composition of the parasite population present. Individual body scores were assessed at monthly intervals in the 2008/2009 study and blood samples were also taken monthly from two groups especially subject to stress in the 2004 study: 3 year old horses and sport horses. Haematocrit, total protein and WBC counts were determined.

Results in both studies show that selective deworming is a cost-effective and safe alternative to the annual traditional targeted (suppressive) deworming, reducing by half the number of animals dewormed. Stress showed a positive influence in the egg output of young animals and body scores were related to nutritional changes but not to individual egg counts. The efficacy of Ivermectin remained 100% (day 14) in both studies and *Cyathostomum sensu lato* were the predominant population in all coprocultures,

A review of the epidemiology, pathology, profilaxis and diagnosis of equine cyathostomosis was conducted, together with an overview of anthelmintic resistance phenomena. Other subjects seldom referred to in parasitological studies, such as ethology and stress, egg output in healthy animals, alternative dewormers and ethnological veterinary practices are also discussed.

Practical advice on alternative and complementary practices for the control of equine cyathostomosis (and strongylidosis in general) is given. The recommendations are simple and objective so as to be easily put to practice in the field by the attendant clinician within a multidisciplinary approach.

Índice

AGRADECIMENTOS	V
CIATOSTOMINOSE EQUINA: UMA ABORDAGEM INTEGRADA	VII
EQUINE CYATHOSTOMOSIS: A COMPREHENSIVE APPROACH	VIII
ÍNDICE	IX
LISTA DE IMAGENS	XIII
LISTA DE TABELAS	XIV
LISTA DE ABREVIATURAS	XV
GLOSSÁRIO	XIX
PARTE I: ESTADO DA ARTE	1
NOTA HISTÓRICA	3
A domesticação do cavalo: início de uma nova era	3
Literatura equestre e médica da antiguidade: pistas sobre o parasitismo equino	6
Renascimento: a luz após quase um milênio de trevas!	7
A Revolução Industrial: fim da “Era do Cavalo”?	10
A Revolução Industrial: impacto na produção animal moderna	11
ENQUADRAMENTO E OBJECTIVOS GERAIS	15
CONSIDERAÇÕES PRÉVIAS	17
Parasitismo: afecção subclínica ou portador assintomático saudável?.....	17
TAXONOMIA E SISTEMÁTICA DOS PARASITAS GASTRO-INTESTINAIS DOS EQUINOS	21
ASPECTOS DA BIOLOGIA DAS ESTRONGILIDOSES EQUINAS: IMPLICAÇÕES NA PATOGENIA E NA EPIDEMIOLOGIA	29
Ciclo biológico e prevalência das várias espécies de strongilídeos	29
Cargas parasitárias: estudos post mortem.....	31
Períodos pré-patentes.....	33
Hipobiose (<i>arrested development</i>) e <i>peri-parturient egg rise</i>	33
Fenómeno de refúgio.....	34
A ostertagiose nos bovinos e pequenos ruminantes: síndromes paralelas à ciatostominose equina.....	35
Ancilostomatose canina e humana: alguns dados sobre estímulos hormonais na transmissão e possíveis implicações na ciatostominose equina	35
Condicionantes ambientais e climáticas.....	37
Estudos epidemiológicos: um padrão de infecção para cada tipo de clima?.....	37
O fenómeno dos <i>roughs</i> and <i>lawns</i> : implicações na higiene do pasto	43
ANATOMO-PATOLOGIA , HISTOPATOLOGIA E IMUNOLOGIA	45
A imunidade na strongilidose do cavalo.....	45
Alterações macroscópicas: anátomo-patologia na infecção por <i>S. vulgaris</i>	46
Alterações microscópicas na ciatostominose	47
Estudos histopatológicos com enfoque sobre o papel das células inflamatórias.....	48
Estudos <i>post mortem</i> sobre imunidade na ciatostominose	49

Modelos estatísticos	50
PATOLOGIA CLÍNICA	51
O parasitismo por grandes estrôngilídeos: prevalência e abundância	51
Incidência da patologia causada pelas larvas de <i>S. vulgaris</i>	56
Ciatostomíneos: parasitas ubiqüitários	57
Apresentações clínicas da ciatostominose	59
Casos clínicos: pistas sobre a taxa de incidência na população equina	61
DIAGNÓSTICO	65
<i>Diagnóstico em vida</i>	66
Diagnóstico coprológico	66
Identificação de larvas infectantes: coproculturas e recolha de erva do pasto	67
Diagnóstico molecular: uma ferramenta de investigação epidemiológica	68
Diagnóstico sorológico: titulação de proteínas do soro	69
Diagnóstico sorológico imunológico: titulação de anticorpos	70
<i>Diagnóstico post mortem</i>	71
Quantificação de larvas enquistadas pelos métodos de iluminação transmural (TMI) e de digestão (DIG)	71
Resultados práticos dos estudos <i>post mortem</i>	72
PROFILAXIA E TRATAMENTO	77
Breve cronologia da utilização dos anti-parasitários modernos	77
Principais grupos de anti-parasitários comercializados e seus mecanismos de acção	78
Programas de desparasitação	81
As tentativas de “esterilização” dos animais: tratamento supressivo	85
Cargas parasitárias e limiares de OPG considerados na desparasitação individual ou de grupo	86
Utilização de AH na profilaxia e tratamento	87
MEDIDAS COMPLEMENTARES E ALTERNATIVAS DE CONTROLO PARASITÁRIO	91
Medidas de higiene na boxe	91
Medidas de higiene no pasto	92
Nutrição: utilização de pastagens alternativas	95
Utilização de fungos nematófagos (<i>Duddingtonia flagrans</i> e <i>Arthrobotrys oligospora</i>)	96
Anti-parasitários alternativos	97
Vacinas	100
ABORDAGENS ACTUAIS AO PARASITISMO EM EQUINO (INQUÉRITOS)	101
Reino Unido	101
França	102
Bélgica	102
Dinamarca	102
EUA (Tennessee)	103
África do sul	103
Irlanda	104
Portugal	105
IMPACTO ECONÓMICO	107
Cólica: qual o verdadeiro impacto do parasitismo?	107
O impacto económico da cólica parasitária vs gastos em anti-helmínticos químicos	109
PARÂMETROS INDICADORES DE SAÚDE NOS EQUÍDEOS COM POTENCIAL RELEVÂNCIA PARA O CONTROLO DA CIATOSTOMINOSE	113
1. <i>Taxa de eliminação de ovos</i>	113
Acerca do equilíbrio hospedeiro-parasita: o que acontece na Natureza	113
A eliminação parasitária normal em cavalos adultos	114
A eliminação parasitária nos poldros	116
A variação diária da eliminação de ovos	117
A ausência de sinais clínicos em animais com eliminações elevadas	117
O nível de eliminação de ovos como indicador de stress	117
2. <i>Condição corporal</i>	118
Índices zootécnicos em animais em crescimento	118
Avaliação da condição corporal (CC)	119
Condição corporal, saúde e parasitismo	120
3. <i>Etologia: sinais comportamentais indicativos de stress</i>	123
Stress, imunidade e parasitismo	124
AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA E FENÓMENOS DE RESISTÊNCIA DOS ANTI-HELMÍNTICOS	127
Recomendações internacionais da WAAVP	127
Parâmetros mensuráveis	130
Testes <i>in vitro</i> : <i>egg-hatch assays</i> (EHA) e <i>larval development assay</i> (LDA)	133
Cronologia do aparecimento de resistências aos anti-helmínticos modernos	134
A situação em Portugal	145
O advento das resistências às lactonas macrocíclicas (avermectinas/milbemicinas)	145
Influência dos estudos e recomendações no aparecimento de resistências	147
O problema das resistências nos ovinos e o paralelismo com a ciatostominose equina	149

PARTE II: TRABALHO PRÁTICO	151
OBJECTIVOS	153
MATERIAL E MÉTODOS	155
<i>Estudo 1 – CMEFD 2004 (Estudo Retrospectivo)</i>	<i>155</i>
1. Caracterização da População Estudada	155
2. Desenho Experimental.....	158
<i>Estudo 2 – CMEFD 2008/2009</i>	<i>161</i>
1. Caracterização da População Estudada	161
2. Desenho Experimental.....	163
RESULTADOS.....	167
1. <i>Avaliação da Eliminação Parasitária.....</i>	<i>167</i>
1.1 Evolução das contagens de ovos (OPG) durante os ensaios.....	167
1.2 Influência do clima na eliminação de ovos.....	170
1.2 Influência da idade na eliminação de ovos.....	174
2. <i>Avaliação da composição parasitária.....</i>	<i>182</i>
2.1 Colheita de larvas no pasto (CMEFD 2004).....	182
2.2 Coproculturas (CMEFD 2004 e CMEFD 2008/9).....	182
3. <i>Avaliação de parâmetros sanguíneos e níveis de stress em poldros de desbaste e cavalos de desporto (CMEFD 2004).....</i>	<i>184</i>
3.1 Stress no manejo e na colheita de sangue.....	184
3.2 Variação dos parâmetros sanguíneos.....	186
4. <i>Avaliação da condição corporal e da sua relação com as eliminações de SOPG (CMEFD 2008/9).....</i>	<i>189</i>
5. <i>Avaliação da eficácia do anti-helmíntico utilizado (CMEFD 2004 e 2008/9).....</i>	<i>195</i>
5.1 Taxa de Redução da Contagem de Ovos Fecais (TRCOF).....	196
5.2 Cálculo do Período de Reaparecimento de Ovos (PRO).....	197
6. <i>Avaliação do impacto do esquema de desparasitação selectiva no número de desparasitações efectuado.....</i>	<i>199</i>
6.1 Número de desparasitações efectuadas nos estudos CMEFD 2004 e CMEFD 2008/9.....	199
DISCUSSÃO.....	201
1. <i>Avaliação da Eliminação Parasitária.....</i>	<i>201</i>
2. <i>Avaliação da composição parasitária.....</i>	<i>203</i>
3. <i>Avaliação de parâmetros sanguíneos e níveis de stress em poldros de desbaste e cavalos de desporto (CMEFD 2004).....</i>	<i>204</i>
4. <i>Avaliação da condição corporal e da sua relação com as eliminações de SOPG (CMEFD 2008/9).....</i>	<i>205</i>
5. <i>Avaliação da eficácia do anti-helmíntico utilizado (CMEFD 2004 e 2008/9).....</i>	<i>206</i>
6. <i>Avaliação do impacto do esquema de desparasitação selectiva no número de desparasitações efectuado.....</i>	<i>206</i>
PARTE III: CONCLUSÃO.....	209
I. <i>Eliminação de ovos e patologia clínica: a desconstrução de um mito com base nos resultados de um esquema de desparasitação selectiva com limiar de 500 OPG.....</i>	<i>211</i>
II. <i>Guerra química vs guerrilha biológica: como vencer as batalhas do controlo das estrongilidose gastrointestinais em equinos.....</i>	<i>213</i>
III. <i>Perspectivas futuras na investigação da parasitologia equina.....</i>	<i>217</i>
BIBLIOGRAFIA.....	219
ANEXO I: CARACTERÍSTICAS DOS SUBTIPOS LARVARES DE CIATOSTOMÍNEOS.....	I
ANEXO II: IDENTIFICAÇÃO DE LARVAS DE ESTRONGILÍDEOS DOS EQUINOS.....	V
ANEXO III: MAPA MUNDO ACTUALIZADO COM A CLASSIFICAÇÃO CLIMÁTICA DE KÖPPEN-GEIGER.....	XI
ANEXO IV: ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	XXI
ANEXO V: ESTUDOS COM DADOS ACERCA DA ABUNDÂNCIA E PREVALÊNCIA DAS ESPÉCIES DE ESTRONGILÍDEOS DOS EQUINOS.....	XXXI
ANEXO VI: NÍVEIS DE ELIMINAÇÃO PARASITÁRIA.....	XLIX

Lista de Imagens

Fig. 1 Gravura de cavalo em V.N. Foz Côa com cerca de 20 000 anos – Paleolítico Superior (Cavalo Alado, 2008).....	3
Fig. 2 Cavalo selvagem de Prezwalskii descoberto em 1870 nas estepes da Mongóia (Nigel Bean, sd).....	5
Fig. 3 Esq.: O cavalo Sorraia com a típica pelagem rato (Olsen, 2010) Dir.: O cavalo Garrano no Gerês (Elaneobrigo, 2010).	5
Fig. 4 Mestre Nuno Oliveira e <i>Euclides</i> , 1967 (Raposo, 2005).....	6
Fig. 5 Pormenor de friso do Partenon, construído entre 447 e 438 AC (Swindale, 2010).	6
Fig. 6 Folha de rosto da magistral obra de Manoel Carlos de Andrade, com dedicatória ao Rei D. João VI.	7
Fig. 7 Pormenor da p.56 da obra de Andrade, onde na segunda linha se pode ver a referencia aos vermes ou “guzanos”.	9
Fig. 8 Exibição da Escola Portuguesa de Arte Equestre no Palácio de Queluz (Matias, 2008).	10
Fig. 9 Éguas a pasto no Centro Miliytar de Educação Física e Desporto. (Original, 2004).	13
Fig. 10 Evolução sazonal das contagens de ovos em poldros de ano e de L3/Kg de erva seca em pastagens de sequeiro (Madeira de Carvalho <i>et al</i> , 2007c).....	39
Fig. 11 Evolução sazonal das contagens de ovos em poldros de ano e de L3/Kg de erva seca em pastagens de de regadio (Madeira de Carvalho <i>et al</i> , 2007c)	40
Fig. 12 Eliminação de ovos de strongilídeo (SOPG) no estudo CMEFD 2004	167
Fig. 13 Eliminação de ovos de ascarídeo (POPG) no estudo CMEFD 2004.	168
Fig. 14 Eliminação de ovos de strongilídeo (SOPG) no estudo CMEFD 2008/9.	169
Fig. 15 Variação de SOPG de animais em pastoreio (CMEFD 2004).	170
Fig. 16 Variação de SOPG de animais jovens e adultos estabulados (CMEFD 2004 e 2008/9).....	171
Fig. 17 Variação de SOPG de animais jovens estabulados (CMEFD 2004 e 2008/9).....	172
Fig. 18 Variação de SOPG de animais não desparasitados estabulados (CMEFD 2004 e 2008/9).173	
Fig. 19 Médias marginais de SOPG para diferentes grupos etários (n=42) (CMEFD 2008/9)	181
Fig. 20 Parâmetros sanguíneos em poldros de desbaste (CMEFD 2004)	187
Fig. 21 Parâmetros sanguíneos em equinos de desporto (CMEFD 2004)	187
Fig. 22 Contagens (SOPG) em poldros de desbaste e equinos de desporto (CMEFD 2004).....	188
Fig. 23 Variação da distribuição da população estabulada (n=42) de acordo com as notas de condição corporal (CMEFD 2008/9).....	189
Fig. 24 Variação mediana da condição corporal (CC) em animais estabulados (n=42) (CMEFD 2008/9).....	190
Fig. 25 Variação da distribuição da população estabulada (n=42) de acordo com as contagens (SOPG) (CMEFD 2008/9).....	191

Lista de Tabelas

Tabela 1 Quadro comparativo dos métodos de cálculo da TRCOF avaliados por Craven, Bjørn, Henriksen, Nansen, Larsen e Lendal (1998).	132
Tabela 2 Valores de referência para concentrações letais e mínimas inibitórias de três anti-parasitários em Larval Development Assays.	134
Tabela 3 Número e percentagem de animais por classe etária.....	174
Tabela 4 Variáveis dependentes.....	175
Tabela 5 Variáveis independentes.....	175
Tabela 6 Estatística descritiva de SOPG para as diferentes classes etárias.....	176
Tabela 7 Teste de Box para a igualdade das matrizes de co-variação.....	177
Tabela 8 Teste de Maulchy para a esfericidade.	177
Tabela 9 Resultados da correcção de Greenhouse-Geisser aplicada à análise inter-individual de SOPG e classe etária.....	178
Tabela 10 Teste de Levine para a igualdade do erro associado à variância.....	179
Tabela 11 Teste de comparação inter-individual.....	179
Tabela 12 Resultados do teste Dunnett C para comparações multiplas.....	180
Tabela 13 Divisão dos subgrupos etários com contagens SOPG significativamente diferentes	181
Tabela 14 Abundância relativa (%) das L3 dos diferentes géneros/espécies de strongilídeo em animais jovens e adultos, em regime de estabulação e pastoreio (CMEFD 2004)	182
Tabela 15 Abundância relativa (%) das L3 de diferentes géneros/espécies de strongilídeo em animais jovens e adultos em regime de estabulação (CMEFD 2008/9)	183
Tabela 16 Variáveis dependentes (contagens de SOPG).....	192
Tabela 17 Teste de Maulchy para a esfericidade.....	192
Tabela 18 Resultado da correcção de Greenhouse-Geisser.....	193
Tabela 19 Relação entre os vários pares de medições (contagens de SOPG).....	193
Tabela 20 Período de reaparecimento de ovos (PRO) nas fezes (média aritmética de SOPG, CMEFD 2004).....	197
Tabela 21 Período de reaparecimento de ovos (PRO) nas fezes (média aritmética de SOPG, CMEFD 2008/9).....	198

Lista de Abreviaturas

a – anos

A. perfoliata – *Anoplocephala perfoliata*

AA – Anglo-árabe

Abr – Abril

Ago – Agosto

AH – Anti-helmíntico

arit. – aritmética

AVM – Avermectinas

BZD – Benzimidazóis

C – controlo (grupo controlo)

C – Grupo C ou grupo Controlo

CAP – Capitão

CC – Condição Corporal

CCT – Teste Crítico de Controlo (*Critical Control Test*). Teste de eficácia do AH em que se compara a eliminação de parasitas de um grupo tratado com um grupo controlo, após necrópsia dos animais.

CMEFD – Centro Militar de Educação Física e Desportos

COR – Coronel

CT – Teste crítico (*Critical Test*). Teste de eficácia do AH baseado na eliminação parasitária verificada à necrópsia.

d – dias

Dez – Dezembro

DL4 – Larva L4 em desenvolvimento (“*Developing*”)

DRM – Doramectina

EHA – “*Egg-hatch assay*” ou teste de eclosão de ovos (*in vitro*)

EL3 – Larva Inicial (“*Early*”) de 3º estágio

FBT – Febantel

FBZ – Fenbendazole

Fev – Fevereiro

FMUC – Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

FMV – Faculdade de Medicina Veterinária

geom. – geométrica

IVM – Ivermectina
Jan – Janeiro
Jul – Julho
Jun – Junho
L3 – Larva de 3º estágio
L4 – Larva de 4º estágio
L5 – Larva de 5º estágio
LDA – "*Larval development assay*" ou teste de desenvolvimento larvar (*in vitro*)
LL3 – Larva Tardia ("*Late*") de 3º estágio
LM – Lactonas macrocíclicas
m – meses
ma – média aritmética
Mai – Maio
MAJ – Major
Mar – Março
MBZ – Mebendazole
MED VET – Médico Veterinário
mg – média geométrica
mod. – modificado
MOR - Morantel
MOX – Moxidectina
Nov – Novembro
O. equi – *Oxiurus equi*
OPG – Ovos por Grama de Fezes (*FEC – Faecal Egg Count*)
Out – Outubro
OXB – Oxbendazole
past. – pastagem
PIR – Pirantel
POPG – Ovos de *Parascaris equorum* por Grama de Fezes
pp. – Precipitação
PPZ – Piperazina
PRO – Período de Reaparecimento de Ovos nas fezes (*ERP – Egg Reappearing Period*)
PSA – Puro Sangue Árabe
PSI – Puro Sangue Inglês
PSL – Puro Sangue Lusitano

S. edentatus – *Strongylus edentatus*

S. equinus – *Strongylus equinus*

S. westeri – *Strongyloides westeri*

SCH – Sargento-Chefe

sd – sem dados

Set – Setembro

SF – Sela francês

SOPG – Ovos de Estrôngilo (Fam. *Strongylidae*, Subfam. *Strongylinae* e *Cyathostominae*) por Grama de fezes

Temp. – Temperatura

TEN – Tenente

Tmax – Temperatura máxima

Tmin – Temperatura mínima

TRCOF – Taxa de Redução da Contagem de Ovos nas Fezes (*FECRT – Faecal Egg Count Reduction Test*)

Triod – *Triodontophorus spp*

UTL – Universidade Técnica de Lisboa

WAAVP – *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology* (Associação Mundial para o Desenvolvimento da Parasitologia Veterinária)

Glossário

As definições apresentadas são as contantes da 2ª edição do Saunders Comprehensive Veterinary Dictionary (1999). Para definições extraídas de outras fontes, a referência é citada em cada entrada. As observações práticas da autora da tese encontram-se entre parêntesis e em itálico no final das respectivas entradas.

Clínico 1. Relativo a uma clínica ou ao local onde se encontra um animal doente, e por isso levado a cabo no animal vivo. 2. Relativo a ou baseado na observação directa e tratamento de pacientes, distinguindo-se de teórico ou experimental. 3. Que produz sinais clínicos, distinguindo assim doença clínica de subclínica.

Doença tradicionalmente definida como uma anormalidade finita na estrutura ou função, com uma base patológica ou clinico-patológica identificável e com um síndrome reconhecível ou uma constelação de sinais clínicos. Esta definição desde há muito tem sido alargada por forma a abranger **doenças subclínicas** em que não há nenhum síndrome clínico tangível, mas que são identificáveis com recurso a meios de análise, química, hematológica, biofísica, microbiológica ou imunológica. O termo doença é utilizado ainda mais amplamente ao incluir a falta de resposta nos níveis esperados quando existem níveis considerados normais de nutrição e qualidade ambiental.

Hospedeiro 1. Animal ou planta que acolhe e sustenta outro organismo (o parasita). **H. acidental** aquele que acolhe um organismo que não é um parasita habitual para a espécie em causa. **Hospedeiro definitivo** ou primário – hospedeiro em que o agente infeccioso sofre a mudança para o estágio adulto e sexuado da sua reprodução. **H. intermediário** ou secundário – especialmente em parasitologia, é um hospedeiro em que o parasita sofre uma mudança de estágio durante o seu desenvolvimento, geralmente larval ou não sexuado. Este hospedeiro pode ser um insecto vector que também age como veículo de transporte ou um outro insecto ou animal em que esta evolução se dá passivamente, sendo a transmissão efectuada por outros meios. **Hospedeiro reservatório** - animal (ou espécie) infectada por um parasita e que serve como fonte de infecção para humanos ou outras espécies.

Médico 1. Relativo a ou derivado do estudo ou disciplina da medicina, no contexto da ciência veterinária em Medicina Veterinária. 2. Classe de doenças tradicionalmente tratadas com medicação em detrimento da cirurgia (doenças do foro médico e doenças do foro cirúrgico).

Parasitas planta ou animal que vive em ou dentro de outro organismo vivo, às custas do qual obtém determinada vantagem. Dos muitos parasitas na natureza, alguns alimentam-se de hospedeiros animais, provocando doenças que vão das ligeiramente incomodativas a severas ou até mesmo

fatais. Os parasitas incluem seres unicelulares e multicelulares, compreendendo bactérias, fungos e animais. Os vírus são ocasionalmente considerados parasitas. No entanto, a utilização comum da palavra refere-se a parasitas multicelulares, tal como helmintes, crustáceos e artrópodes.

Parasitologia estudo científico dos parasitas e do parasitismo.

Patogenia desenvolvimento de doença ou condições mórbidas; mais especificamente, as reacções e eventos celulares e outros mecanismos patológicos que ocorrem no desenrolar de da doença. Inclui o estudo da relação entre a causa, as lesões e os sinais clínicos.

Patologia 1. Ramo da ciência veterinária que trata (versa sobre) a natureza essencial da doença, nomeadamente as alterações tecidos e órgãos que provocam a doença ou são provocadas por ela. 2. Manifestação estrutural e funcional da doença. 3. o estudo e diagnóstico da doença através do exame de órgãos, tecidos, fluidos corporais e cadáveres, englobando as disciplinas de estudo científico relacionadas na chamada patologia geral (ponto 3: Wikipedia, 2010a).

P. Geral A patologia geral é uma especialidade médica que se divide em dois grandes ramos, a anátomopatologia e a patologia clínica (Wikipedia, 2010a). **Anátomo-patologia** especialidade médica que estuda o diagnóstico da doença com base nos exames macroscópicos, microscópicos, químicos ou imunológicos de órgãos, tecidos e cadáveres. é uma especialidade médica que se divide em várias subespecialidades, como a histopatologia, a patologia cirurgica ou a patologia forense (Wikipedia, 2010a). **P. clínica** exame de tecidos, fluidos e outros materiais biológicos alterados pela doença e provenientes de um paciente vivo, através da utilização de todas as técnicas disponíveis (bioquímica, hematologia, enzimologia, citologia, microbiologia, parasitologia, protozoologia, imunologia e histopatologia). 2. Especialidade médica que estuda o diagnóstico de uma doença com base na análise laboratorial de fluidos e tecidos corporais utilizando as ferramentas da química, microbiologia, hematologia e patologia molecular (Ponto 2: Wikipedia, 2010a). **Patologia comparada** aquela que considera os processos da doença humana em comparação com os de outros animais (considerados inferiores ou não racionais). Nota: actualmente e no decorrer da crescente defesa de direitos dos animais no mundo, fala-se cada vez mais em seres sensientes e não sensientes, tendendo estes termos a cair em desuso. **P. experimental** estudo de processos patológicos induzidos artificialmente. **Patologia de Investigação** estudo científico da doença e seus mecanismos através da análise microscópica ou molecular de órgãos, tecidos, células ou fluidos corporais de organismos com doença. Mais, encontra-se intimamente relacionada a nível histórico e nos meios académicos modernos, com a patologia médica ou clínica (Wikipedia, 2010b). **P. cirúrgica** patologia ligada aos processos da doença que são acessíveis cirurgicamente para diagnóstico e tratamento.

Portador 1. Animal que alberga no organismo um agente de doença sem sinais manifestos, actuando assim como um portador ou distribuidor de doença (portador assintomático). 2. Heterozigoto, animal portador de gene recessivo, autossómico ou ligado aos cromossomas sexuais, juntamente com o alelo normal.

Saúde estado físico e psicológico de bem-estar e produtividade, incluindo a actividade reprodutiva.

Índices de s. parâmetros facilmente observados que podem ser utilizados como referência para avaliação do estado de saúde do animal ou do grupo. Os mais óbvios são a quantidade de alimentação consumida e a quantidade de fezes excretadas. Em animais de produção, utilizam-se outros parâmetros, como o peso corporal, a produção de leite ou ovos, a eficiência de conversão energética, etc.

Maneio sanitário sistema de medicina preventiva que considera o animal como um todo, integrando não apenas a influência dos factores ambientais que afectam a saúde (como a nutrição, o exercício, as condições de alojamento, o evitar da sobrepopulação e do aborrecimento, assim como da crueldade física ou psicológica) mas também a influência de factores sociais (etológicos) e psicológicos.

(Nota: em Portugal o maneio sanitário é considerado sobretudo da perspectiva da prevenção e controlo de doença, apenas considerando o bem-estar animal quando este tem impacto directo no aparecimento ou manutenção da doença. A este propósito, veja-se a distinta divisão de serviços de veterinária do estado Português a nível regional, havendo um desfazamento prático entre as intervenções na área do bem-estar animal (a nível das Divisões e Núcleos de Intervenção Veterinária) e as intervenções de natureza sanitária, asseguradas pelas Organizações de Produtores Pecuários (OPP) locais).

Saúde pública veterinária o campo da medicina veterinária que se dedica à salvaguarda e melhoria da saúde da comunidade humana como um todo, através do controlo das doenças animais transmissíveis aos humanos (zoonoses) ou das doenças que afectam a cadeia alimentar humana com detrimento da saúde dos consumidores.

(Nota: em Portugal a inspecção sanitária de carne, peixe e produtos de origem animal é tarefa exclusiva de Médicos Veterinários, que são os únicos profissionais habilitados a estas tarefas inspectivas com vínculo legal. A respeito do controlo de zoonoses e salvaguarda da saúde pública veterinária a nível concelhio, essa tarefa é incumbida no presente aos Médicos Veterinários Municipais, que são a Autoridade Sanitária Veterinária Concelhia. No entanto, a salvaguarda da Saúde Pública deve ser sempre uma prioridade no âmbito de actuação de qualquer médico veterinário).

Síndrome conjunto de sinais clínicos derivados de uma única causa ou que ocorrem simultâneamente com elevada frequência, consituindo um quadro clínico distinto.

Vector 1. Animal portador que transfere um agente infeccioso de um hospedeiro para outro (pe cão ou raposa no caso da raiva, mosca tsé-tsé que veicula triponossomas dos animais ao homem). Frequentemente trata-se de um artrópode. 2. Em biologia molecular, uma molécula de DNA que é utilizada para transferir DNA para uma célula hospedeira.

Zoonose ou doença zoonótica: doença transmissível dos animais ao homem

Parte I: Estado da Arte

Nota Histórica

A domesticação do cavalo: início de uma nova era

A relação do cavalo com o Homem remonta ao Paleolítico, como atestam as pinturas e gravuras rupestres em Portugal, Espanha e França (Fig. 1). Desde há cerca de 300 000 anos (Paleolítico Médio e Superior) que o cavalo é caçado pelo Homem pela sua carne, mas não são encontradas evidências da sua domesticação até ao final do período Neolítico e início da idade do Bronze.



Fig. 1 Gravura de cavalo em V.N. Foz Côa com cerca de 20 000 anos – Paleolítico Superior (Cavalo Alado, 2008).

Anthony e Dorcas publicaram em 2007 um estudo sobre a revolução secundária dos produtos [uso dos produtos secundários à carne: leite, lã, tracção e transporte], a equitação e a guerra montada, esclarecendo à luz das descobertas mais recentes algumas das questões civilizacionais relativas ao uso do cavalo. De acordo com os autores, a domesticação do cavalo terá ocorrido entre 5000 e 4500 AC na estepe ocidental (Médio Oriente), onde foram também domesticados os bovinos e ovinos. Na região do Volga os cavalos constituíam a fonte principal de carne e eram utilizados em sacrifícios,

sendo encontrados os seus restos mortais em túmulos, juntamente com os de ovinos e caprinos (estes rituais excluía animais selvagens). A este indicador de domesticação junta-se outro, o facto de em 4200 AC aparecerem no Danúbio clavas com cabeça de cavalo, objectos de prestígio ligados a uma utilização simbólica do cavalo que neste local não era uma fonte importante de alimento (os ossos de cavalo constituíam menos de 6% dos ossos encontrados). Em 3500 AC começaram a aparecer no vale do Danúbio, na Europa central e ocidental, no Cáucaso e na Anatólia oriental ossos de cavalos de maior dimensão, provavelmente de cavalos da estepe. Simultaneamente a cultura Botai aparece nas estepes do norte do Kazaquistão. Esta cultura montava a cavalo para caçar equídeos entre 3600 e 3000 AC e 99% das ossadas de animais encontradas pertenciam a cavalos. Descobertas recentes indicam que na cultura Botai se retirava o leite a éguas (claramente demonstrando a domesticação) e que os cavalos eram montados: os dentes dos cavalos demonstraram desgaste provocado por embocaduras e os Botai não dispunham de veículos com rodas. A utilização de carros puxados a cavalo na guerra ocorreu entre 2100 e 1700 AC nas estepes Urais, próximo de Botai. A cavalaria, como força especializada de arqueiros a cavalo, só apareceu depois de 1000 AC e coincidiu com a associação entre o arco curto e recurvado inventado na China e o fabrico em massa de pontas de seta com tamanhos standardizados na estepe. No entanto e de acordo com os autores supracitados, esta evolução não teria sido possível sem a mudança de mentalidade ideológica da sociedade: um modelo de guerra apropriado para um estado, sob a liderança de um general, impôs-se aos cavaleiros tribais e tornou a cavalaria numa arma nova e eficaz que substituiu a carruagem no campo de batalha. A eficácia dos cavalos no campo de batalha apenas foi superada com o aparecimento das armas de fogo no século XVI (Idade da Pólvora) embora a sua utilização na guerra tenha permanecido indispensável até à Primeira Guerra Mundial (1914-1918).

Ainda a propósito da domesticação do cavalo, estudos recentes do DNA mitocondrial (mtDNA) presentes em várias raças equinas modernas levam a concluir que a domesticação do cavalo ocorreu em várias populações de equinos distintas em diversos locais do mundo, o que contrasta com a opinião generalizada de que a domesticação foi um processo complexo limitado a uma área e respectiva cultura. A diversidade genética apresentada por 652 animais de 25 diferentes raças de cavalos, orientais e ocidentais, demonstrou a existência de 17 agregados filogenéticos distintos, dos quais um (D1) é representado pelas raças ibéricas (cavalos Lusitano e Andaluz) e pelo cavalo Barbo do Norte de África (Janse, Foster, Levine, Oelke, Hurler, Renfrew, Weber e Olek, 2002). A necessária variabilidade genética das éguas ancestrais levou os autores a concluir que várias populações distintas estiveram envolvidas no processo de domesticação. Vilà e outros corroboram

esta opinião com base em estudo das zonas de controlo do mtDNA em 191 cavalos e acrescentam que terá sido a transferência de tecnologia, e não a criação selectiva, o motor da domesticação e uso generalizado do cavalo (Vilà, Leonard, Götherström, Marklund, Sandberg, Liden, Wayne e Ellegren, 2001). A clássica hipótese da origem do cavalo doméstico ($2n=64$) na linhagem do cavalo selvagem de Prezwalskii ($2n=66$) foi também contrariada por estudos de mtDNA que colocam o cavalo de Prezwalskii em ramificação posterior à de outras raças na árvore evolutiva (Ishida, Oyunsuren, Mashima, Mukoyama e Saitou, 1995).



Fig. 2 Cavalo selvagem de Prezwalskii descoberto em 1870 nas estepes da Mongóia (Nigel Bean, sd).

Também os cavalos de raça Sorraia e Garrana, considerados possíveis antepassados do Lusitano, apresentam posições divergentes na árvore filogenética (Jansen e tal, 2002; Luís, Bastos-Silveira, Cothran e Oom, 2006).



Fig. 3 Esq.: O cavalo Sorraia com a típica pelagem rato (Olsen, 2010) Dir.: O cavalo Garrano no Gerês (Elaneobrigo, 2010).

Literatura equestre e médica da antiguidade: pistas sobre o parasitismo equino

Outros testemunhos da importância do cavalo ao longo dos tempos chegam-nos através da literatura: vários autores ao longo da história deixaram documentos sobre o ensino do cavalo de guerra e sobre as artes de caça, atestando uma clara preocupação com o bem-estar dos animais que inclui também o tratamento de afecções parasitárias. O ateniense Xenofonte (430-354 AC) escreveu o mais antigo tratado conhecido sobre a arte da equitação e deixou uma vasta bibliografia que testemunha a sua vida como historiador, soldado e mercenário. Na sua obra sobre ensino do cavalo de guerra (Xenofonte, *The Art of Horsemanship*, 2007) é evidente a sua preocupação com o bem-estar físico e psicológico do cavalo: advoga o uso de dois tipos de embocadura (à semelhança do uso moderno do freio e do bridão), exorta a delicadeza de mão, condena qualquer tipo de violência e aconselha o cavaleiro a tratar bem do cavalo e a fazer dele um amigo. Nos cuidados do cavalo aconselha, entre muitos outros considerados eficazes actualmente, a recolha diária de fezes do estábulo para benefício do cavalo (embora não mencione directamente uma preocupação com os parasitas). Xenofonte é considerado o pai da equitação clássica ou académica que perdura nos nossos dias (Loch, 1994). Tal não será difícil de compreender se levarmos em conta que descreve claramente na sua obra o “cavalo ligeiro e feliz que se delicia no seu movimento”, que quase 1800 anos depois é redescoberto e traduzido por La Guêrinière na famosa expressão “*Le cheval qui se plait dans son air*”, retomada por todos os mestres desde então para descrever o cavalo montado que parece mover-se sem intervenção do cavaleiro, como se estivesse livre em estado selvagem.



Fig. 5 Pormenor de friso do Partenon, construído entre 447 e 438 AC (Swindale, 2010).



Fig. 4 Mestre Nuno Oliveira e *Euclides*, 1967 (Raposo, 2005)

Apesar de Xenofonte não referir como importante a infecção por parasitas, as afecções parasitárias nos animais e no Homem eram já reconhecidas e descritas na Grécia Clássica, nomeadamente pelo médico Hipócrates (470 a 365 AC). Relatos anteriores consistentes com a descrição de síndromes parasitárias no Homem são descritos na medicina egípcia entre 3000 a 400AC, e relatos de várias doença ou “febres” que podem ou não ter tido origem parasitária, aparecem na China entre 3000 e 300AC, na Índia de 2500 a 200AC, em Roma de 700AC a 400DC e no Mundo Árabe na segunda parte do primeiro milénio. As descrições tornaram-se mais detalhadas e precisas com o passar do tempo e dois médicos Árabes, Rhazes (850-923DC) e Avicenna (980-1037DC), escreveram importantes obras que contém informação clara sobre doenças parasitárias (Cox, 2002).

Renascimento: a luz após quase um milénio de trevas!

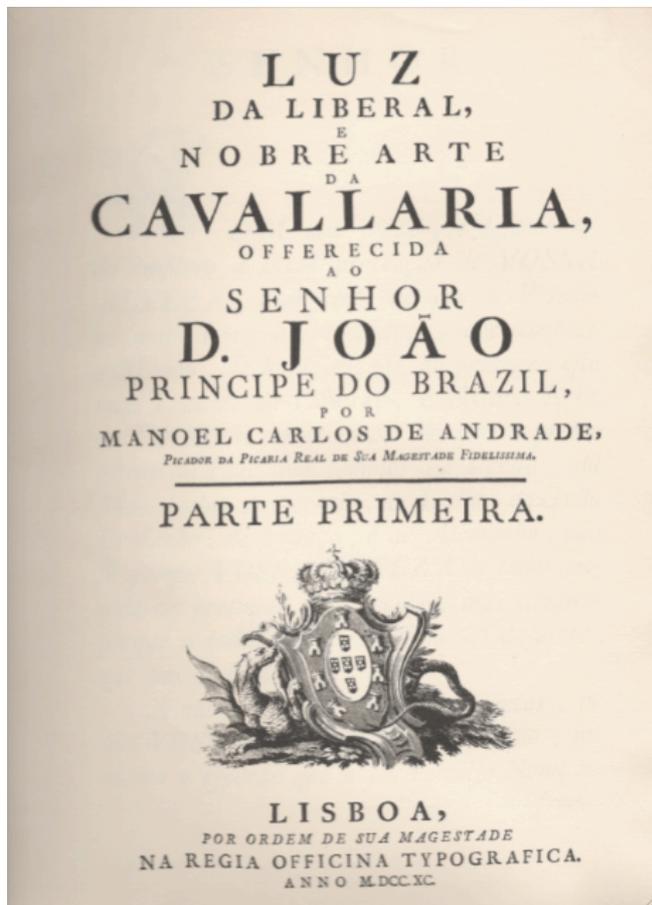


Fig. 6 Folha de rosto da magistral obra de Manoel Carlos de Andrade, com dedicatória ao Rei D. João VI.

académico, e começam a surgir as Academias de Equitação pela Europa que atingem o expoente máximo nos séculos XVII e XVIII (em Portugal é mandado construir por D. João V em 1726 o Picadeiro Real do Palácio de Belém).

Com o fim do Império Romano (476 DC), perdeu-se a equitação como arte na sequência do abandono das influências filosóficas e morais fundamentais da cultura greco-romana. Durante a idade média na Europa continuou-se a utilizar o cavalo na guerra mas as batalhas constantes, aliadas à utilização de cavalos mais pesados (e menos ágeis) para suportar cavaleiros mais pesados devido às armaduras, fizeram com que a equitação como arte desaparecesse quase por completo. A arte renasce, ironicamente, com o aparecimento das armas de fogo no séc. XV: já não são necessários animais pesados e lentos, interessam agora animais mais pequenos, ágeis e de “sangue quente” para utilizar as armas de fogo ligeiras. Urge então sistematizar o ensino do cavalo de guerra, torná-lo científico ou

Com o renascimento da Arte de bem cavalgar, aparecem os tratados sobre a equitação e sobre a caça onde são igualmente abordados os cuidados a ter com os animais. Em 1616, Diogo Fernandes Ferreira vê publicada a sua “Arte da Caça Altaneira”, tratado da caça com aves de rapina onde são abordados não só a escolha e o treino das aves, mas também as doenças os cuidados de saúde a ter. No cap. XII, “Do falcão que tem lombrigas” (p.104), o autor enumera vários tratamentos, entre os quais o uso de açafraão, “erva lombrigueira” (*Spigelia anthelmia L.*) ou “pílulas de azebre” (*Aloe arborescens*). Esta preocupação é também demonstrada pelo picador Manoel Carlos de Andrade na sua “Luz da Liberal e Nobre Arte da Cavalaria”, publicada em 1790. Na sua extensa e completa obra descreve detalhada e extensivamente questões da selecção, criação e maneio das várias raças de cavalos, anatomia do cavalo, descrição das “enfermidades visíveis” e seu tratamento, e por fim todas as fases do ensino do cavalo, do desbaste à Alta Escola. As enfermidades com maior destaque são as afecções na pele (fleimões, abcessos, sarna...) e as ósteo-articulares. No capítulo dedicado ao maneio dos cavalos no pasto, faz referência com naturalidade ao incómodo provocado pelas várias espécies de moscas sem entrar em grandes detalhes (p.31), o mesmo se passando com os parasitas gastro-intestinais: “*Alguns criadores (...) não dão aos seus potros outro sustento, quando os recolhem, que não seja palha, ou feno (...) para lhes dissipar os guzanos*” (pp55-56). É curioso observar que os parasitas gastro-intestinais não são abordados por Andrade no capítulo das enfermidades, sendo considerados uma afecção sazonal normalmente esperada e aparentemente sem consequências de maior que não o emagrecimento dos animais. La Guerinière publica a sua obra mais conhecida (*École de Cavalerie*, 1733) apenas alguns anos antes de Andrade. Também ele descreveu a anatomia do cavalo e teceu considerações sobre o seu maneio, mas de modo bastante menos detalhado que Andrade. Nas suas recomendações sobre a alimentação, La Guerinière é contra a ideia de que não se deve limpar o estábulo ou baia do cavalo quando este come erva ou alimentos ricos como fruta e cenouras (“*carne verde*”), achando que a higiene é do benefício do cavalo. Também refere que “*para prevenir os parasitas que vêm com a carne verde, deve-se dar a cada animal 2 galões de feno, aos quais uma libra de antimónio em pó foi previamente misturada.*” (p.69). No capítulo dedicado às afecções do cavalo, este autor inclui a afecção por parasitas e menciona uma série de tratamentos que incluem aloes, antimónio, flor de enxofre, opiáceos e licopódio. No seguimento fala também das cólicas e classifica-as em três tipos: espasmódicas, por impactação e por íleo paralítico, uma classificação assaz moderna. Tal como Andrade, não menciona no entanto nenhuma afecção específica originada pelos “vermes” gastro-intestinais.

À semelhança do que se passou com a Arte Equestre na Europa durante a Idade Média, também a Medicina sofreu grande estagnação até ao Renascimento, consequência da religiosidade e

superstição características desse período. [A Medicina Veterinária, praticada por homens de cavalos, soldados, ferradores ou alveitares desde a antiguidade e sempre muito ligada ao cavalo, sofreu da mesma estagnação.] A literatura médica da Idade Média é limitada e não obstante as referências frequentes ao parasitismo, os escritos reflectem a cultura vigente, com os seus credos e consequente ignorância. A ciência da Helmintologia nasce assim nos séculos XVII e XVIII com a re-emergência da ciência e do ensino durante a Renascença, dando origem a uma actividade científica que culminaria com as grandes descobertas que caracterizaram o fim do século XIX e o início do século XX: a abolição da teoria da geração espontânea, a teoria dos germes e a demonstração das bactérias como agentes causadores de doença por Pasteur, a descoberta dos vírus por Roux, a introdução da prevenção de doença provocada por microorganismos por Koch e a demonstração de vectores de parasitas por Manson. Estas descobertas marcaram tanto o início da Microbiologia como da Parasitologia modernas (Cox, 2002).

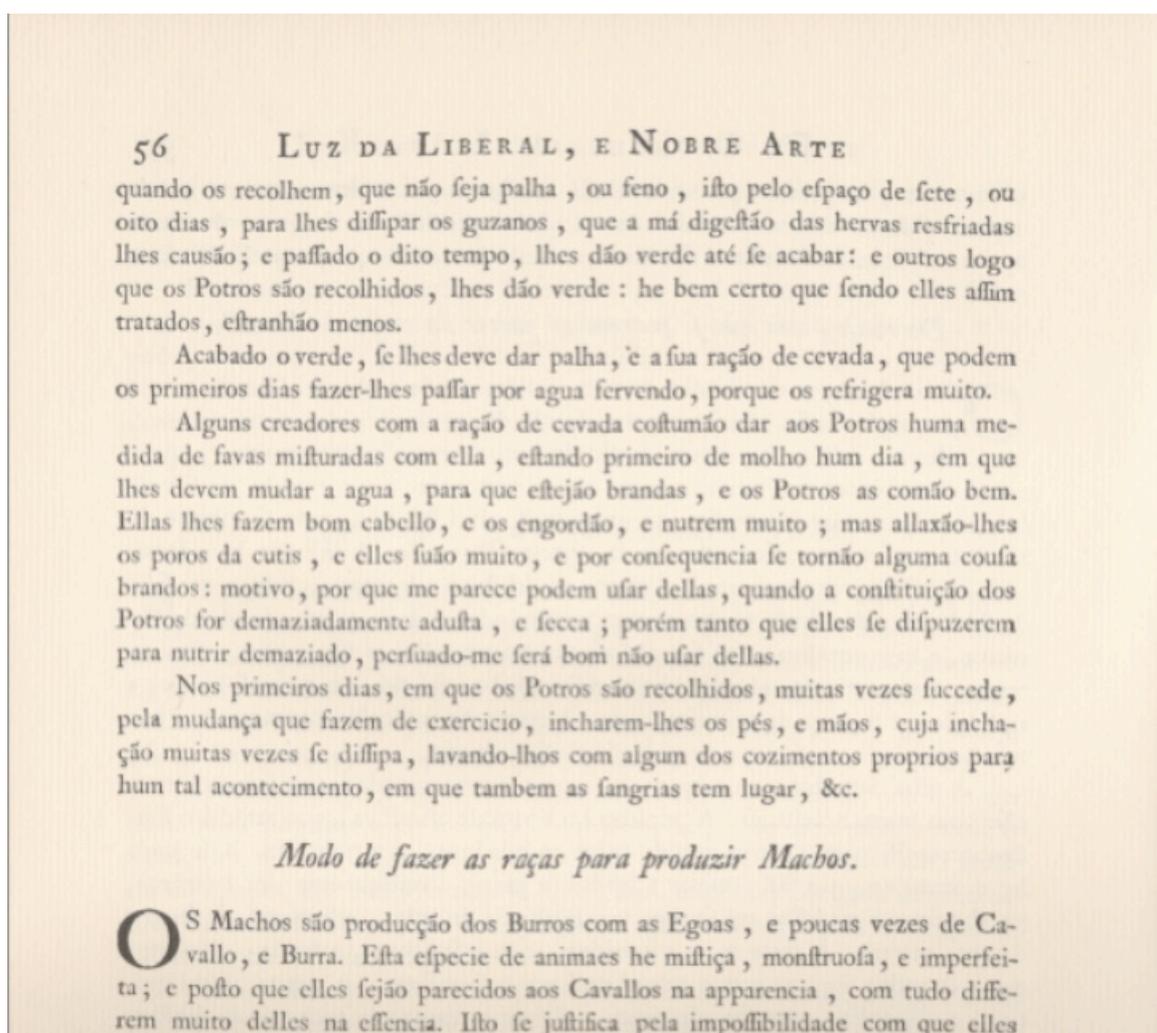


Fig. 7 Pormenor da p.56 da obra de Andrade, onde na segunda linha se pode ver a referencia aos vermes ou “guzanos”.

A Revolução Industrial: fim da “Era do Cavalo”?

A Revolução Industrial é também consequência dos fenómenos subsequentes ao renascimento que conduziram a grandes descobertas no plano científico. A utilização do comboio a vapor e dos automóveis, assim como toda a maquinaria agrícola, tornam obsoleto o papel do cavalo como animal de trabalho, transporte de pessoas e mercadorias. O papel militar do cavalo acaba com a última carga da cavalaria polaca no início da 2ª Guerra Mundial e o advento das poderosas armas de fogo modernas fez com que a sua criação e utilização para a guerra desaparecesse. Actualmente ainda são preservadas as tradições associadas ao ensino do cavalo de guerra nalgumas academias militares: dois dos exemplos na Europa são a famosa Escola de Saumur (Escola Nacional de Equitação em França) e o Centro Militar de Educação Física e Desportos de Mafra (antiga Escola Militar de Equitação). Este último beneficiou da sabedoria de um dos mais notáveis cavaleiros do século passado, o português Mestre Nuno Oliveira (Sylvia Loch, *Histoire de L'Équitation Classique*, 1994) e nele se destacaram grandes cavaleiros em provas equestres a nível mundial no século XX. Também as academias reais de equitação que proliferaram no renascimento e que visavam o ensino da Arte Equestre, revisitando os escritos e princípios clássicos do ensino do cavalo de guerra, foram convertidas em Academias Militares ou deixaram de existir. Não obstante, e apesar das guerras e das revoluções, ainda permanecem as mundialmente conhecidas Escola Espanhola de Viena e Escola Portuguesa de Arte Equestre.



Fig. 8 Exibição da Escola Portuguesa de Arte Equestre no Palácio de Queluz (Matias, 2008).

A domesticação do cavalo e a utilização do cavalo no transporte e na guerra foram o motor das grandes mudanças que ocorreram a partir da Idade do Bronze, possibilitando a rápida expansão de populações, o comércio à escala continental, o intercâmbio cultural e a conquista do mundo pelos povos que montavam a cavalo. A sociedade moderna como a conhecemos não teria sido possível sem a domesticação desse animal extraordinário, cuja nobreza e vontade natural de agradar ao Homem o tornam objecto de enorme devoção e admiração: nenhum outro animal reúne as características do cavalo, que é simultaneamente belo, imponente, útil e domesticável, permanecendo nobre e altivo mesmo quando montado (Morris, 2006). E mesmo com a perda das funções que desempenhou por mais de 5000 anos, a admiração por este animal evitou o seu desaparecimento e o cavalo passou a ser criado a partir do século XIX apenas pelo prazer que dá ao Homem nas variadas actividades de desporto ou lazer.

A Revolução Industrial: impacto na produção animal moderna

A Revolução Industrial, principal responsável pelas mudanças na utilização do cavalo, introduziu também os actuais conceitos de produtividade e rendimento da produção industrial, com a lógica repercussão na produção animal (que passou a ser “industrial”!). Passou-se a encarar o animal (e o Homem...) como uma máquina da qual se tenta extrair o máximo de rendimento possível, descurando as necessidades de bem-estar essenciais e seleccionando cegamente os animais com base em índices de produtividade. Este modo de pensar prevalece ainda hoje em dia na criação cavalares de desporto (ligada a uma forte actividade económica) e muitos efeitos perversos deste tipo de selecção animal podem ser facilmente constatados: o Puro-Sangue Inglês, sistematicamente seleccionado pela sua velocidade, em detrimento do carácter e da robustez física, é um animal com elevada incidência de múltiplas patologias do foro músculo-esquelético e metabólico; a vaca Frísia é uma excelente produtora de leite mas os seus índices de fertilidade têm vindo a diminuir progressivamente; os varrascos de raças mais pesadas e seleccionadas pelo seu rápido crescimento (com excelentes índices de conversão...) não são capazes de cobrir as porcas naturalmente; as galinhas de aviário são muito susceptíveis a qualquer alteração nas suas condições de alojamento, sobretudo se comparadas com a galinha criada em casa. São inúmeros os exemplos e a parasitologia não é excepção: é amplamente reconhecido o facto de as raças rústicas de pequenos ruminantes, ditas “não melhoradas geneticamente” e com “baixos índices de produção”, serem resistentes ao parasitismo gastro-intestinal (American College of Veterinary Internal Medicine, 2006). Nos equídeos, um estudo na raça autóctone Murguese, criada em zona endémica de hemoparasitismo, apresenta resultados interessantes ao constatar que apenas 5% dos animais parasitados exibem

sinais clínicos de hemoparasitismo e que os restantes apresentam valores dos parâmetros bioquímicos sanguíneos testados equivalentes aos dos animais não infectados (Rubino, Cito, Lacinio, Bramante, Caroli, Pieragostini e Petazzi, 2006). No que concerne o parasitismo gastro-intestinal não existem ainda estudos específicos sobre a resiliência das raças autóctones de equinos, mas há muitos estudos parasitológicos realizados em inúmeras raças que nos podem fornecer alguns dados acerca deste tema e que serão oportunamente apresentados.

Actualmente o parasitismo gastro-intestinal é já principal causa de morbidade e mortalidade de pequenos ruminantes em vários continentes (Estados Unidos da América, África do Sul, Nova Zelândia) e até foi criado em 2006 no sul dos Estados Unidos um comité de emergência com membros de vários países: o “Southern Consortium for Small ruminant Parasite Control” (SCSRPC). Curiosamente os animais afectados são animais de raças melhoradas sistematicamente, amplamente desparasitadas e com as melhores condições de manejo demonstradas cientificamente. Face a este quadro, surge a ideia que a causa da morbidade e mortalidade actuais é de dupla origem: seleccionam-se animais melhores produtores descurando-se a sua imunidade e ao mesmo tempo com a excessiva desparasitação seleccionam-se parasitas resistentes aos anti-parasitários e não se estimula devidamente o sistema imunitário dos animais. Esta situação não ocorre de forma tão importante nos bovinos porque tradicionalmente são desparasitados apenas uma ou duas vezes durante a vida (geralmente aquando do desmame). No entanto, o maior receio actual é que ocorra uma situação semelhante à dos pequenos ruminantes na produção equina com o advento de resistências dos ciatostomíneos (pequenos strongilos, família Strongilidae, subfamília Cyathostominae) aos anti-helmínticos de última geração, tal como acontece para os géneros *Haemonchus* e *Ostertagia* dos pequenos ruminantes (que apresentam estádios hipobióticos, tal como os ciatostomíneos).

Consequência da falta de espaço e da necessidade de obtenção de rendimentos na criação cavalar, não é difícil perceber que a produção equina actual seja levada a cabo em espaços mais pequenos com maior concentração de animais, alterando-se em pouco mais de um século as condições de manejo tradicionalmente empregues desde há pelo menos dois mil anos. As eguadas e os poldros deixam de estar em campo aberto com vastas áreas de pastoreio e encabeçamento baixo e passam a estar confinadas em boxes e em pequenos pastos ou *paddocks* com elevada densidade de animais. Em Portugal, Espanha e França existem ainda coudelarias que mantêm as condições tradicionais de criação cavalar (Costa-Ferreira, Henriques, Matias, Bettencourt, Ferreira e Duarte, 2001; Heleno, 2006), mas são uma excepção no panorama global da produção equina. Até que ponto esta alteração de manejo para uma situação intermédia entre o campo aberto e a estabulação terá influenciado a

susceptibilidade ao parasitismo, não será tão fácil de determinar como à partida se poderia supor: a elevada pressão de selecção e consaguinidade nas raças de desporto modernas aliada à desparasitação sistemática são factores que confundem a interpretação dos resultados dos estudos. Para além disso, muitos proprietários de equídeos não estão alertados para os problemas parasitários ou não relevam a sua importância, o que poderá contribuir juntamente com o maior densidade de cavalos por hectare para uma prevalência elevada de parasitoses e dificuldades acrescidas no seu controlo (Madeira de Carvalho, 2006).

É urgente estudar alternativas ao maneio na produção equina antes que o panorama do parasitismo gastro-intestinal se aproxime da situação dos pequenos ruminantes, o que seria uma tragédia insuperável se considerarmos os números de animais envolvidos, muito inferiores ao de qualquer outra espécie de produção, com a agravante da importância económica e social do cavalo na sociedade moderna.



Fig. 9 Éguas a pasto no Centro Militar de Educação Física e Desporto. (Original, 2004).

Enquadramento e objectivos gerais

A patologia experimental estuda processos patológicos induzidos artificialmente (Blood e Studdert, 1999), o que é geralmente concretizado com recurso a animais de laboratório. No entanto, com o passar dos anos tem vindo a ser também conhecida como patologia de investigação, que é o estudo científico da doença e seus mecanismos através da análise microscópica ou molecular de órgãos, tecidos, células ou fluidos corporais de organismos com doença. Mais, encontra-se intimamente relacionada a nível histórico e nos meios académicos modernos, com a patologia médica ou clínica (Wikipedia, 2010b). Veja-se a título de exemplo as duas linhas de investigação prioritárias do Instituto de Patologia Experimental da FMUC: Regeneração de Tecidos e Oncologia Experimental. Apesar do trabalho que deu origem a esta tese se centrar num estudo de parasitologia equina, o propósito não foi o de estudar a taxonomia ou a epidemiologia da ciatostominose equina mas o de abordar globalmente a questão do controlo da carga parasitária e da patogenia associada, tendo sempre presente a problemática das actuais resistências aos anti-helmínticos modernos. É portanto um estudo experimental de campo em que se pretendem estudar métodos de controlo anti-parasitário alternativos aplicáveis à clínica em produção equina.

Adicionalmente, este trabalho pretende introduzir algumas questões relativas à caracterização da ciatostominose como doença e propor abordagens de controlo sustentáveis a longo prazo, com base nos estudos práticos realizados e no actual conhecimento científico. No trabalho prático não é induzida infecção artificial nem são levados a cabo estudos *post mortem* devido ao elevado valor económico dos animais, mas são em compensação avaliados no estudo parâmetros directos e indirectos, macro- e microscópicos, relacionados com a infecção parasitária natural. O estudo da infecção em laboratório também não é viável: tentativas de infecção artificial com larvas infectantes

de ciatostomíneos em ratos macho BALBc, cobaias e esquilos da Mongólia (*Meriones unguiculatus*) foram levadas a cabo por Klei e Chapman até 1999 sem sucesso (Klei e Chapman, 1999).

Por forma a preencher esta e outras eventuais lacunas, procurar-se-há enquadrar nos capítulos seguintes os estudos publicados sobre as várias temáticas abordadas. No entanto, face à crescente multidisciplinaridade associada ao estudo moderno da parasitologia será inevitável a sobreposição de diferentes disciplinas em vários estudos ou ensaios e por isso são referenciados, sempre que possível, aspectos diferentes do mesmo estudo em capítulos diferentes para uma melhor compreensão e comparação de resultados.

Por último, são mencionados ao longo do trabalho outros parasitas comuns do aparelho digestivo dos equídeos pela sua relevância e prevalência mas sobretudo pelo facto de o parasitismo gastro-intestinal ser um complexo de infecções mistas (várias espécies dentro de várias famílias e até classes diferentes de parasitas). Torna-se assim importante esclarecer brevemente acerca do diagnóstico e patologia clínica de outros parasitas que não os estrôngilos, para que se destrincem melhor os efeitos patogénicos claramente atribuíveis a uns e outros e para que o controlo do parasitismo, embora focado na ciatostominose, não descure o parasitismo gastro-intestinal na sua globalidade.

Considerações prévias

Parasitismo: afecção subclínica ou portador assintomático saudável?

A saúde nos animais é definida por Blood e Studdert (1999) como o “estado físico e psicológico de bem-estar e produtividade, incluindo a actividade reprodutiva.”. A definição mais actual da Organização Mundial de Saúde para o Homem data de 1984 e apresenta pontos comuns:

“A state of complete physical, social and mental well-being, and not merely the absence of disease or infirmity.

Within the context of health promotion, health has been considered less as an abstract state and more as a means to an end which can be expressed in functional terms as a resource which permits people to lead an individually, socially and economically productive life.

Health is a resource for everyday life, not the object of living. It is a positive concept emphasizing social and personal resources as well as physical capabilities.”

(World Health Organization, 1998)

Apesar de ambas as definições colocarem ênfase na “produtividade” (mais uma evidência sociológica da influência da revolução industrial na sociedade actual!), elas enquadram os princípios essenciais de bem-estar para o Homem e mamíferos em geral: o bem-estar fisiológico e o bem-estar etológico, que dependem tanto do indivíduo como do ambiente.

A fisiologia e a etologia dos mamíferos e dos vertebrados em geral são indissociáveis e interdependentes (vejam-se por exemplo a influência do stress na imunidade e a influência da dor no comportamento) e do mesmo modo influenciadas de maneira complexa pelo ambiente (ecossistema em que os animais se integram).

Até aqui o consenso será geral... o grande problema reside no entanto na quantificação do bem-estar a que chamamos saúde! Esta é uma questão quase filosófica que novamente nos leva aos conceitos da sociedade actual, baseada na economia: a saúde é medida com base em “parâmetros” ou “índices de produtividade”. E aqui o Homem e o animal são também vistos sob a mesma perspectiva independentemente da nomenclatura, sendo usados inúmeros “índices de saúde” (WHO, 1998) como as “taxas de crescimento”, “taxas de mortalidade infantil”, “taxas de fertilidade”, “taxas de mortalidade por doença” e muitas outras.

Estes índices podem ser interessantes para avaliarmos a nossa actuação no maneio dos animais de produção, mas outro problema que surge é: qual é a nossa referência? Que parâmetros devemos considerar? E quantos são suficientes para uma boa avaliação?

Com a evolução exponencial do conhecimento científico e a crescente capacidade de diagnóstico ao nível molecular, nomeadamente sorológico e por análise de DNA, conseguimos detectar inúmeras infecções parasitárias passadas, latentes ou activas: mas não sabemos o que seria esperado em equilíbrio ecológico ou evolutivo nem que valores devemos esperar numa situação sustentável. Esta falta de valores de referência “de equilíbrio” faz com que o parasitismo gastro-intestinal seja considerado pela generalidade dos clínicos de produção um fenómeno sub-clínico generalizado pois embora não existam sintomas de parasitismo evidentes, há pelo menos um índice de saúde alterado: os animais não ganham o peso desejado (índice de conversão inferior àquele conseguido em condições ideais de maneio). Adicionalmente, para além das perdas no ganho de peso (!), há a prova visível da detecção dos ovos dos famigerados parasitas nas fezes dos hospedeiros!

Mais uma vez, a origem dos valores de referência da produção animal teve como base as investigações científicas decorrentes da massificação e industrialização da produção animal que visavam a obtenção do máximo rendimento possível (em características biológicas muito limitadas pela perspectiva de lucro rápido). No caso dos parasitas gastro-intestinais, o desenvolvimento dos compostos anti-parasitários modernos originou taxas de crescimento para além de quaisquer expectativas, tornando-os “indispensáveis” para qualquer criador que se prezasse, não fossem os animais ficar gravemente doentes ou morrer sem eles, com as consequentes perdas económicas. Nasce assim a utilização intensiva dos anti-helmínticos nos países mais desenvolvidos (economicamente falando), em detrimento de outros cuidados de bem-estar que devem ser sempre complementares a uma desparasitação, como os associados à qualidade e variedade nutricional das fontes alimentares e ao fornecimento de espaço suficiente para a demonstração dos comportamentos naturais.

Perguntamo-nos então: será um animal parasitado um animal doente subclínico ou poderá ele ser um portador assintomático saudável?

A resposta não é fácil, mas se considerarmos os utópicos valores esperados ou desejados para os índices de saúde, então o animal é sempre um doente clínico ou subclínico. No entanto, se considerarmos que todos os seres vivos albergam parasitas (Poulain e Morand, 2000 *cit in* Araújo *et al*, 2003) a resposta sensata será a de que as diferenças entre os vários conceitos residem apenas no grau de equilíbrio hospedeiro-parasita. Araújo, Jansen, Bouchet, Reinhard e Ferreira (2003) fazem uma revisão acerca do parasitismo, da biodiversidade e da paleoparasitologia. Neste estudo o parasitismo *sensu lato* é apresentado como “qualquer tipo de associação inter-específica com um grau de interdependência”, o que torna o comensalismo, o mutualismo e a simbiose apresentações distintas de um mesmo fenómeno: o parasitismo. Sendo o parasitismo um fenómeno ecológico e

evolutivo, define-se o parasita como “qualquer forma de vida – ou composto orgânico capaz de se replicar – que encontra o seu nicho noutra forma de vida”. A patogenicidade ou a capacidade de induzir morbidade e mortalidade numa população hospedeira são deste modo uma característica da relação parasita-hospedeiro e não apenas do parasita. Sabe-se que os parasitas desenvolvem mecanismos evasivos face ao sistema imunitário do hospedeiro e que o sucesso ou fracasso do subsistema parasita-hospedeiro depende do resultado da competição entre os mecanismos de defesa do hospedeiro e de evasão do parasita. Entre as variáveis que ditam o futuro deste subsistema podemos enumerar algumas das mais estudadas: a composição da população parasitária, a presença de outras espécies (infecções múltiplas) que podem competir ou cooperar entre si e a resposta imunitária do hospedeiro. Os autores realçam que será também necessário avaliar as respostas imunitárias qualitativas e quantitativas e os custos e consequências da esterilização *versus* tolerância a infecções baixas.

Controvérsias à parte, cremos que será altura de reflectir sobre estas questões com algum distanciamento, ponderando sobre o equilíbrio parasita-hospedeiro-ambiente e sobre a sustentabilidade dos actuais sistemas de produção. Em particular e face ao exposto acima, deverão ser sempre ponderadas as actuações no sentido da erradicação de doenças parasitárias, não somente pelos custos económicos ou ecológicos, mas também pela sensatez da sua exequibilidade.

Depois da quasi erradicação dos Grandes Estrôngilos na primeira metade do século XX, a Ciatostominose promovida pelos Ciatostomíneos ou Pequenos Estrongilídeos apareceu como síndrome clínica individualizada da estrogilidose, sendo grave em animais jovens e sistematicamente abordada como uma parasitose dramática a evitar a todo o custo. Ou seja, apesar da sua ubiquidade e da impossibilidade de erradicação, tem sido sistematicamente “suprimida” através do uso intensivo de anti-parasitários desde a mais tenra idade dos animais. No entanto, na produção moderna de equinos (e não só) ninguém fez (nem faz) as contas ao que gastou (ou gasta) a mais com a desparasitação sistemática onerosa, face aos resultados que teria sem usar os anti-parasitários tão intensivamente...!

Esta atitude cultural face ao uso dos “eficazes e indispensáveis” anti-helmínticos, generalizada também na classe médica, acabou finalmente por mostrar os seus efeitos deletérios: o aparecimento de síndromes clínicas de parasitismo mais graves e de resistências aos anti-helmínticos modernos.

A abordagem “natural” ou que visa o “equilíbrio” parasita-hospedeiro é assim proposta não apenas como ideal filosófico mas porque existem evidências científicas de que funciona e deverá ser caminho a seguir para uma produção animal sustentável a longo prazo.

Taxonomia e Sistemática dos parasitas gastro-intestinais dos equinos

A classificação dos animais e plantas em espécies de acordo com as suas características morfológicas e reprodutivas remonta à Grécia antiga. Esta tradição persistiu na Europa do norte com a classificação das plantas pelos herbalistas durante a Idade Média e cerca de 1600 surgiu um dos primeiros herbários em língua inglesa, que descrevia as plantas e a sua utilidade para os povos donde provinham. No entanto, era então patente o problema da utilização de nomes comuns facilmente deturpados com o uso e que dificultaram a transmissão de conhecimentos. No final do século XVI com o início do movimento científico e escolar surgem assim os longos nomes científicos polinomiais em Latim que descreviam as características das plantas, mas surge então um outro obstáculo na identificação das plantas: os nomes eram difíceis de memorizar e por isso de difundir correctamente. No início do século XVIII os estudiosos de animais e plantas tentaram atribuir nomes formais e usá-los consistentemente, mas volta a surgir novo problema de sistematização com o aumento da diversidade de espécies subsequente à actividade de exploração de outros continentes. A classificação de animais e plantas apenas teve uma resposta eficaz quando o sueco Lineu, médico e botânico como o eram todos os médicos da altura devido ao uso de plantas no tratamento das doenças, introduziu com as suas obras *Species Plantarum* (1753) e *Systema Naturae* (1759) a nomenclatura de animais e plantas que deu origem à taxonomia actual: a utilização de uma nomenclatura binomial por Lineu foi amplamente aceite e utilizada, perdurando até aos nossos dias (Knapp, 2010). Surgiram várias correntes de classificação taxonómica com base em diferentes características dos seres analisados, mas sem dúvida que o fenótipo é de longe a característica mais estudada e difundida, juntamente com o tipo de reprodução, pois ambas são facilmente observáveis e quantificáveis. A publicação em 1859 da obra de Charles Darwin *A Origem das Espécies* e a subsequente aceitação geral da teoria evolutiva fizeram com que a taxonomia e a biologia evolutiva se fundissem num campo de estudo comum: a Sistemática, que pretende classificar os organismos de acordo com as suas relações evolutivas ou filogenéticas (Ganter, 2009). A sistemática tem tido reflexos evidentes na definição das divisões dos grandes grupos de seres vivos, sucessivamente alteradas face a novas descobertas: hoje em dia são considerados 6 reinos, por contraposição aos 2 reinos originais (Animalia e Plantae). Actualmente coexistem ambos os métodos de classificação e embora a Taxonomia com base no fenótipo se

imponha de forma dominante pela sua sólida e completa sistematização, a Sistemática tem vindo gradualmente a complementá-la graças às novas ferramentas da Biologia Molecular de que dispomos actualmente e que nos permitem estimar as relações genéticas, que nem sempre estão relacionadas com semelhanças ou diferenças morfológicas ou reprodutivas.

Os parasitas conhecidos dos equídeos pertencem a várias classes: protozoários, riquetsias, artrópodes e helmintas (incluindo os estrombilídeos). Embora a sua descrição não seja do âmbito deste trabalho, apresentarei brevemente os dos parasitas helmintas e artrópodes presentes no tracto gastro-intestinal dos equídeos de acordo com a sua localização, para uma melhor compreensão do fenómeno parasitário multi-específico no cavalo, de acordo com Urquhart, Armour, Duncan, Dunn e Jennings (1996):

- **Estômago:**

- **Insectos:** “bernes” ou larvas de terceiro estágio de *Gasterophilus spp* (Filo Arthropoda, Classe Insecta, Ordem Díptera, Subordem Cyclorrhapha, Família Oestridae). Larvas de grandes dimensões com 8mm largura e 16 a 20mm de comprimento, que irritam a mucosa do estômago e são encontradas em grandes números (cada espécie tem o seu local preferido), podendo provocar hiperplasia da mucosa e úlceras não perfurantes. Considera-se geralmente pouco patogénico, mas não se sabe qual a sua verdadeira importância (possivelmente por serem muito susceptíveis aos desparasitantes modernos).
- **Nemátodes** (na literatura anglo-saxónica são chamados “thread worms”):
 - *Trichostrongylus axei* (<1cm comprimento) (Classe Nematoda, Superfamília Trichostrongyloidea, Ordem Strongilida, Família Trichostrongylidae). Este parasita de ciclo directo é geralmente um parasita de pequenos ruminantes e bovinos e o seu achado em equinos considera-se ocasional. A prevalência varia bastante entre os estudos: 80,9% (Pandey, Ouhelli e Elkhalfane, 1981), 51% (Buckner, Gasser e Beveridge, 1995) 12,4% (Collobert-Laugier, Lamidey, Brisseau, Moussu e Hamet, 2000). Esta espécie parece estar a sofrer um declínio, possivelmente pela sua susceptibilidade aos anti-helmínticos modernos utilizados nos cavalos estabulados a partir dos 4 anos. Collobert-Laugier *et al* (2000) comparam estudos e referem que a prevalência é mais elevada em animais não desparasitados (como no estudo marroquino) e nos animais desparasitados que efectuam pastoreio misto com bovinos (caso francês). A abundância relativa também é muito variável (baixa no caso

francês, com 2 a 30 parasitas por animal), mas sabe-se que em infecções ligeiras apenas provoca hiperplasia da mucosa considerando-se sem grande importância patogénica. Apresenta hipobiose e ocorrência sazonal com padrão semelhante ao dos pequenos estrôngilídeos (ver adiante) e da *Ostertagia spp* (tricostrongilídeo de ruminantes).

- *Habronema spp* e *Draschia megastoma* (1 a 2,5cm comprimento) (Ordem Spirurida, Superfamília Spiruroidea) As espécies de *Habronema* podem provocar gastrite hemorrágica em grandes infecções mas geralmente são bem toleradas e apenas provocam hiperplasia da mucosa. A *Draschia megastoma* pode provocar lesões nodulares fibrosas no fundo do estômago, mas geralmente sem grande significado clínico dada a muito baixa prevalência e abundância relativa. As espécies de *Draschia* e *Habronema* apresentam significado clínico (apenas a nível cutâneo) nos países quentes, onde as larvas L1 nas fezes são ingeridas pelo hospedeiro intermediário (muscídeo) e este o deposita em feridas na pele onde as larvas não completam o desenvolvimento mas causam as chamadas “feridas de Verão”.

- **Intestino delgado:**

- **Nemátodes:** “lombriga” ou “ verme redondo” *Parascaris equorum* (Filo Nematelmintes, Classe Nematoda, Ordem Ascaridida, Família Ascaridae) e *Strongyloides westeri* (Ordem Rhabditida, Superfamília Rhabditoidea, Família Strongyloididae). O *P. equorum* apresenta ciclo evolutivo directo e é um nemátode que pode atingir os 40cm, não se confundindo com nenhum outro no cavalo. O seu significado patogénico ocorre geralmente em poldros com menos de 1 ano de idade, que podem desenvolver infecções maciças, com perda de peso acentuada e obstruções intestinais ocasionais. Já o *S. westeri* é capilariforme, com menos de 1cm de comprimento. Apenas as fêmeas são parasitas, reproduzindo-se por partenogénese, e pode apresentar tanto ciclo parasitário directo como gerações de vida livre. A sua transmissão ocorre por via transcutânea, geralmente sem grande importância clínica, e pelo leite, provocando por vezes enterite severa em poldros até duas semanas de idade. [A infecção com *S. stercoralis* no Homem ocorre em climas tropicais e subtropicais e também raramente apresenta sintomatologia clínica, a não ser que o hospedeiro se encontre imunocomprometido (Viney e Lok, 2007).]

- **Céstodes:** *Anoplocephala magna* (até 80cm de comprimento), *A. perfoliata* (3 a 8cm) e *Paranoplocephala mamilliana* (menos de 3cm) (Classe Cestoda, Ordem Cyclophyllidea, Família Anoplocephalidae – o escólex desta família não apresenta rostro nem ganchos). Apresentam ciclo de vida indirecto, sendo os ácaros da pastagem (Fam. Oribatidae) os hospedeiros intermediários. A *A. perfoliata* é o céstode mais comum e sintomatologia clínica ocorre geralmente em animais até aos 3 anos de idade. Os animais podem sofrer de cólica, enterite e raramente perfuração intestinal fatal.
- **Intestino grosso:**
 - **Céstodes:** *A. perfoliata*. Um estudo em 130 cavalos no matadouro revelou que 38,5% dos animais tinha *A. perfoliata* no intestino, e a localização preferencial era de 81% no ceco e 17% na junção ileocecal, zona onde a gravidade das lesões está relacionada com o número de parasitas fixados à mucosa, provocando ulceração e eosinofilia locais (Williamson, Gasser, Middleton e Beveridge, 1997). Não há ainda provas conclusivas da sua relação com cólicas mas a intensidade da infecção está relacionada com a incidência de cólicas espasmódicas e por impactação (Proudman, French e Trees, 1998). Outro estudo em 160 cavalos adultos de matadouro entre Outubro de 1997 e Fevereiro de 1998 em Inglaterra revelou a sua presença em 48% dos animais, 12% com mais de 100 parasitas, sendo que nestes havia extensiva ulceração ileocecal (Lyon, Stebbings e Coles, 2000).
 - **Nemátodes:**
 - *Oxyuris equi* e *Probstmayria vivipara* (Ordem Ascaridida, Superfamília Oxyuroidea) As fêmeas adultas de *O. equi* atingem os 10cm de comprimento e os machos apenas 1cm. As L4 com 5 a 10mm de comprimento fixam-se oralmente à mucosa intestinal, provocando pequenas erosões da mucosa mas geralmente sem importância clínica, provocando inflamação intestinal apenas em infecções maciças. A sintomatologia mais importante é a irritação perineal provocada pelas fêmeas durante a ovopostura (prurido e autotraumatismo na região peri-anal, na zona da inserção da cauda e na pele sobre as tuberosidades isquiáticas). *P. vivipara* (2 a 3mm) é um parasita incomum: é um parasita perpétuo que vive de geração em geração no ceco e cólon. As fêmeas são vivíparas e adultos e larvas podem ser eliminados pelas fezes (transmissão por coprofagia). Podem estar presentes milhões de

parasitas que nunca provocam sintomatologia clínica. Ambas as espécies são sensíveis aos anti-helmínticos modernos.

- **Estrôngilídeos dos equídeos** (Strongylidae: Nematoda) classificados segundo a Sistemática mais recente (Lichtenfels, Kharchenko e Dvojnos, 2008). Os parasitas da família strongylidae apresentam cápsula bucal bem desenvolvida com duas coroas radiadas (externa e interna) na extremidade cefálica e bolsa copulatória de tipo estrôngilóide nos machos (comum à Superfamília Strongyloidea). Outras características comuns incluem a produção de ovos morulados de casca fina, o facto de viverem no intestino grosso do hospedeiro e o de apresentarem ciclos de vida directos.
 - **Grandes estrôngilídeos:** 14 espécies englobadas em 5 Géneros: *Strongylus* (14,5 a 46mm comp.), *Triodontophorus* (8,1 a 20,1mm), *Craterostomum* (5,7 a 10,6mm), *Oesophagodontus* (15 a 24mm), e *Bidentostomum* (8 a 10mm) (Subfam. Strongylineae, denominação comum: estrôngilíneos). Historicamente apenas os géneros *Strongylus* e ocasionalmente o *Triodontophorus* eram considerados neste grupo, catalogando-se os restantes como “pequenos estrôngilos”. Os membros da subfamília Strongylineae apresentam tamanho médio a grande e uma cápsula bucal globular ou afunilada e são de relativamente fácil identificação. Apenas os do género *Strongylus* apresentam ciclo de vida com migrações somáticas extensas, apresentando os demais ciclo de vida com migração limitada à mucosa e submucosa intestinais.
 - **Pequenos estrôngilos:** 50 espécies englobadas em 14 Géneros: *Gyalocephalus*, *Caballonema*, *Cylindropharynx*, *Tridentoinfundibulum*, *Cylicocyclus*, *Cyathostomum*, *Coronocyclus*, *Petrovinema*, *Cylicostephanus*, *Skrjabinodentus*, *Cylicodontophorus*, *Hsiungia*, *Poteriostomum* e *Parapoteriostomum* (Subfam. Cyathostominae, denominação comum: ciatostomíneos). Os membros da subfamília Cyathostominae apresentam tamanho pequeno a médio com uma cápsula bucal cilíndrica, sendo a sua diferenciação mais difícil que nos da subfamília Strongylineae. O ciclo de vida é directo e não-migratório.

A infecção dos equinos pelos estrôngilos é conhecida há vários séculos pela sua patologia, sendo a forma larvar de *S. vulgaris* nas artérias mesentéricas uma das primeiras formas conhecidas e descritas no início do século XVII. A forma adulta só foi descrita cerca de 100 anos depois, não associada ainda à forma larvar. O *S. equinus* (Mueller, 1790) foi a primeira espécie de estrôngilo a ser classificada, e durante o século XVIII os estrôngilos descritos foram provavelmente *S. vulgaris* e *S. equinus*. Rudolphi (1771-1832), considerado o pai da Helminologia pelo seu trabalho pioneiro na taxonomia parasitária, descreveu a existência de espécimes mais pequenos entre os vermes de grande estrôngilo que observara. Em 1836 foi descrita pela primeira vez por Knox a presença de formas larvares de pequenos estrôngilos na mucosa do intestino grosso. Pouco tempo depois, Molin (1861) estabelece *Cyathostomum* como tipo específico e Looss em 1902 publica um estudo taxonómico abrangente sobre os estrôngilos, descrevendo e identificando várias espécies de pequenos estrôngilos. (Lyons e Drudge, 2000)

Ao longo dos últimos anos têm sido descobertas cada vez mais espécies de ciatostomíneos, apresentadas por diferentes designações em várias zonas do globo (Lichtenfels, Kharchenko, Krecek e Gibbons, 1998). Tolliver publica em 2000 um útil guia prático para a identificação de 33 espécies de ciatostomíneos encontradas no Kentucky, de acordo com a nomenclatura mais actual, mas sem novas contribuições para a sistemática. Em 1998 havia 51 espécies reconhecidas de ciatostomíneos, designadas por 93 nomenclaturas diferentes, e foi então feito o primeiro trabalho internacional cooperativo no sentido de recomendar os nomes para as espécies reconhecidas e atribuir sinónimos para as designações supranumerárias existentes, de acordo com os conhecimentos de sistemática de então (Lichtenfels *et al*, 1998). Na continuação desse esforço, nasceu em 2008 um trabalho sistemático completo de documentação que será certamente o guia prático de identificação dos strongilídeos nos próximos anos: o tratado “*Illustrated identification keys to strongylid parasites (Strongylidae: Nematoda) of horses, zebras and asses (Equidae)*”, da autoria de Lichtenfels, Kharchenko e Dvojnjos (2008). Actualmente, os parasitas nemátodes do cavalo pertencem a 12 famílias, 29 géneros e 83 espécies. A grande maioria destes pertence à família Strongylidae, que inclui os parasitas nemátodes mais comuns e patogénicos: 64 das 83 espécies pertencentes a 19 dos 29 géneros de parasitas nemátodes (Lichtenfels *et al*, 2008). Este guia faz assim a identificação de adultos (machos e fêmeas) da família Strongylidae (ciatostomíneos e strongilíneos), o que permite a identificação dos mesmos à necrópsia ou aquando da sua eliminação após a desparasitação. No entanto, a maioria das espécies de larvas infectantes de terceiro estágio (L3) que são obtidas a partir das coproculturas são indistinguíveis ao nível do género, e por isso não é feita qualquer tentativa de diferenciação no guia supramencionado.

Ogbourne descreve em 1971 larvas de primeiro e segundo estádios de *S. edentatus*, *S. vulgaris*, *S. equinus* e *C. nassatum*, assim como das larvas recém-eclodidas de *C. catinatum* e *T. Serratus* e conclui que apenas as larvas de *Strongylus spp* se distinguem entre si e das restantes. Em 1974, Duncan diferencia os pequenos estrôngilos (antigo género *Trichonema spp*) do *Strongylus vulgaris* (grande estrôngilo) através do número de células intestinais dos estádios infectantes das suas larvas (L3): 8 a 12 para *Trichonema spp* e 28 a 32 para *S. vulgaris*. A partir de 1990 outros autores correlacionam também algumas espécies de *Cyathostomum sensu lato* com larvas de 8 células intestinais com configurações diferentes, embora essa distinção não seja inequívoca. Madeira de Carvalho, Cernea e Cozma (2008) descrevem no seu “Atlas de Diagnóstico da Estrongilidose Equina” as características que permitem distinguir as L3 de vários géneros e espécies da família strongylidae (Anexo I). Esta informação, juntamente com a chave de identificação de Madeira de Carvalho (2001, Anexo II), tornam mais fácil a distinção das 3 espécies do género *Strongylus* encontradas no cavalo (*S. vulgaris*, *S. equinus* e *S. edentatus*), assim como dos géneros *Triodontophorus*, *Oesophagodontus* (*O. robustus*) e *Craterostomum* (*C. acuticaudatus*). No que concerne a subfamília *Cyathostominae*, permite a distinção da espécie *Gyalocephalus capitatus* e o género *Poteriostomum*. Os restantes tipos larvares são classificados de A a H de acordo com a distribuição das células intestinais, apenas se encontrando ligação estabelecida entre os tipos A, B e C e espécies dos géneros *Cyathostomum*, *Cylicocyclus*, *Cylicodontophorus* e *Cylicostephanus* (Anexo I). Estes autores vêm assim contribuir para o preenchimento de uma lacuna de natureza prática no que concerne à identificação de estrongilídeos *in vivo* através da análise de L3 obtidas através de coproculturas, permitindo a identificação de tipos larvares que nos podem fornecer pistas importantes para efeitos de diagnóstico e identificação de eventuais estirpes de parasitas resistentes. Como podemos constatar, muitos autores têm contribuído para a evolução da sistemática desde o final do século XIX. A utilização de tecnologias modernas e cada vez mais acessíveis como a análise de DNA e a utilização da microscopia electrónica de varredura serão certamente decisivos no estabelecimento de novas relações filogenéticas e a sua implicação no diagnóstico e terapêutica. Costa, Silva e Guimarães (2002) constituem disso exemplo, ao descreverem novos aspectos da morfologia de *Cylicocyclus brevicapsulatus* através da microscopia electrónica de varredura.

Aspectos da biologia das estrogilidoses equinas: implicações na patogenia e na epidemiologia

Ciclo biológico e prevalência das várias espécies de estrogilídeos

O ciclo biológico dos estrogilídeos é um ciclo directo, ou seja, sem hospedeiro intermediário. Os vários estádios são: ovo, larvas de primeiro a quinto estádios (L1 a L5) e parasitas adultos. Os adultos vivem no lúmen do intestino grosso e as fêmeas depositam ovos que são eliminados nas fezes do cavalo. Em condições ambientais favoráveis o ovo embrionado desenvolve-se, dá-se a formação da L1 e ocorre a eclosão. A L1 desenvolve-se e muda para L2 e esta para L3, larva infectante que mantém a bainha da L2 (achado característico que a diferencia claramente das larvas de vida livre que não têm bainha). A L3 migra para a vegetação que circunda a massa fecal num raio máximo de cerca de 30cm e a um máximo de 10 cm de altura, em função da humidade e da temperatura (English, 1975a e 1975b; Madeira de Carvalho, 2001). Os cavalos infectam-se com a ingestão das L3 na vegetação ou material contaminado. (Lyons e Drudge, 2000)

A principal diferença entre pequenos e grandes estrogilídeos reside na extensão da migração das larvas no organismo do hospedeiro: ao passo que os estádios larvares dos pequenos estrogilídeos (larvas iniciais de 3º estágio EL3, larvas tardias LL3 e L4) se limitam à mucosa e submucosa do cólon e do cego, nos grandes estrogilídeos (género *Strongylus*) as larvas realizam extensa migração parenteral. No caso de *S. vulgaris* as L3 penetram na mucosa, transformam-se em L4 na submucosa, entram em pequenas artérias e migram no endotélio até à artéria mesentérica cranial e ramos principais. Após cerca de 6 a 7 meses transformam-se em L5, migram através da luz das artérias até à parede do cego e do cólon, formando-se à sua volta nódulos que ao romper libertam os jovens adultos no lúmen intestinal. As L3 de *S. edentatus* seguem pelo sistema portal até atingirem o parênquima hepático, efectuam muda para L4 em cerca de duas semanas e continuam a sua migração no fígado até às 6-8 semanas pós-infecção, sendo nesta altura encontradas em volta do ligamento hepato-renal. As larvas migram sob o peritoneu para muitos locais, com predilecção pela zona peri-renal e ligamentos hepáticos. A muda final ocorre 4 meses após a infecção e as L5 migram sob o peritoneu para a parede do intestino grosso, local onde se forma nódulo purulento que ao romper liberta o parasita adulto no lúmen intestinal 10 a 12 meses após a infecção. *S. equinus* é a espécie menos prevalente e a migração larvar ainda não está completamente descrita. Aparentemente as L3 penetram na parede do cólon e do cego ventral, provocando numa semana enquistamento na mucosa e subserosa, onde ocorre a muda para L4. As larvas seguem pela

cavidade peritoneal para o fígado, onde migram por 6 ou mais semanas. As L4 e L5 são seguidamente encontradas no pâncreas e ao seu redor antes de voltarem à luz do intestino grosso, 8 a 9 meses após a infecção. As restantes espécies de grandes estrôngilídeos, como o *Triodontophorus spp* e os outros géneros da família Strongylinae, parecem ter um ciclo migratório semelhante ao dos pequenos estrôngilídeos. (Urquhart, Armour, Duncan, Dunn e Jennings, 1998)

A baixa prevalência de *S. equinus* face ao *S. vulgaris* e ao *S. edentatus* é patente: em 55 estudos analisados apenas 4 mencionam a sua presença em coproculturas e 3 em animais eutanasiados. As prevalências são baixas nas coproculturas: inferior a 2% (Eydal e gunnarsson, 1994), 1% (Muñoz, García-Perez, Povedano e Juste, 1994), 2,2% (Paulrud, Pedersen e Eydal, 1997) e 0,05% (Langrovà, 1998). As prevalências mais elevadas são encontradas em animais pouco desparasitados: até 30% em poldros com mais de 3 anos (Eydal e Gunnarsson, 1994), 14% em 50 animais de matadouro (Gawor, 1995), 21% em 10 cavalos de matadouro (Slocombe e McCraw, 1973). Um estudo recente em 150 animais de matadouro na Austrália onde a desparasitação é intensiva por se tratarem de animais de criação para desporto mostra uma prevalência mais baixa: apenas 3% (Bucknell, Gasser e Beveridge, 1995). Como existem poucos estudos sobre as prevalências das várias espécies apenas podemos concluir que a tendência é para a diminuição de prevalência dos grandes estrôngilídeos e consequentemente da patologia associada: cólica por trombose e isquémia de ramos da artéria mesentérica cranial e claudicação intermitente provocadas pela migração arterial das larvas de *S. vulgaris*, e raramente problemas hepáticos devidos à migração das larvas de *S. edentatus* ou pancreatite e diabetes mellitus provocados por *S. equinus* (Urquhart *et al*, 1998).

Quanto aos pequenos estrôngilídeos, as L3 penetram a parede intestinal e aí permanecem enquistados durante um período de tempo em que se desenvolvem até L4 e por vezes até L5 antes de emergir no lúmen. As larvas das espécies que apenas penetram a mucosa (como *Cylicostephanus longibursatus*) demoram 6 a 12 dias na muda para L4 e podem emergir no lúmen após 1 a 2 meses de enquistamento. Outras espécies, como *Cylicocyclus spp* e *Gyalocephalus capitatus* enquistam na submucosa e podem iniciar a quarta muda (para L5) antes de emergir no lúmen (Lyons e Drudge, 2000). A prevalência de *Cyathostomum sensu lato* é sempre de 100% a partir dos 6-7 meses de idade, pois todos os animais os têm enquistados na mucosa e submucosa e/ou no lúmen intestinal, embora a prevalência das várias espécies varie para cada grupo de animais e zona geográfica, conforme podemos observar na tabela do anexo V. A abundância relativa encontra-se geralmente acima dos 90%, excepto em estudos mais antigos ou em estudos de animais pouco desparasitados e/ou em sobrepastoreio, e atinge os 100% após a desparasitação, o que nos sugere que são eliminados os adultos dos parasitas (tal como comprovado pelas necrópsias) mas que graças ao seu

PPP muito mais curto, os ciatostomíneos enquistados na mucosa emergem rapidamente e começam a produzir ovos (e eventualmente alguns dos milhares de adultos presentes resistem ao anti-parasitário e começam a produzir e eliminar ovos mais cedo).

Cargas parasitárias: estudos *post mortem*

Os grandes estrôngilídeos apresentam prevalências variáveis que dependem directamente das condições de manejo, sendo mais prevalentes em animais de pastagem, e os pequenos estrôngilídeos apresentam elevadas prevalências no seu conjunto, embora estas sejam muito variáveis para cada espécie individual da subfamília Cyathostominae (cf. anexo V). Importa no entanto saber quais as cargas parasitárias associadas às várias espécies para que possamos melhor compreender o seu potencial patogénico.

Assim, e embora actualmente a prevalência dos grandes estrôngilídeos seja baixa, podemos estimar as cargas parasitárias individuais com base em estudos de matadouro: num estudo de 1973 com 100 cavalos no Canadá, na sua maioria estabulados e desparasitados, Slocombe e McCraw constataram altas prevalências de *S. edentatus* (94%), *S. vulgaris* (85%) e *S. equinus* (21%) com abundâncias relativas de 1440, 1047 e 131 adultos no intestino, em média. Estes números dão-nos uma ideia do que poderão ser as cargas de adultos apesar de não sabermos qual o manejo dos animais, embora já naquela altura a criação de animais para desporto fosse bastante importante, como de resto na maioria dos países anglófonos, o que poderá significar que o manejo predominante terá sido em condições de estabulação e sobrepastoreio em “paddocks”. Noutro estudo realizado em 1995 por Bucknell, Gasser e Beveridge na Austrália com 150 cavalos, as prevalências eram mais baixas mas os números de adultos não diferiam significativamente dos do estudo anterior: 23% de *S. vulgaris* (410±50), 23% *S. edentatus* (1150±114) e 3% *S. equinus* (adultos na ordem das dezenas). No estudo de Gawor (1995) em 50 animais de trabalho não desparasitados na Polónia verificou-se uma elevada prevalência das várias espécies: 74% para *S. vulgaris*, 40% para *S. edentatus* e 14% para *S. equinus*, mas o número de adultos encontrado era significativamente mais baixo para as duas primeiras espécies: 2 a 124 adultos de *S. vulgaris* (média de 23), 1 a 52 adultos de *S. edentatus* (média de 13), e 1 a 36 adultos de *S. equinus* (média de 8). Este último trabalho é interessante porque nos dá uma ideia do que será o parasitismo “natural” para as condições de manejo e clima dos cavalos de trabalho na Polónia, mas é difícil de comparar com os anteriores porque as condições geográficas (climáticas) e de manejo são muito diferentes. Apesar disso, uma coisa podemos inferir: os animais criados para desporto, mais desparasitados, apresentam maiores cargas de adultos no intestino que animais nunca

desparasitados, o que não deixa de ser curioso. Os restantes estudos analisados foram feitos no contexto de ensaios críticos de controlo para avaliação da eficácia de desparasitantes e por isso em animais muito jovens que não apresentavam infecções patentemente por grandes estrôngilídeos. Relativamente às larvas presentes no sistema arterial, apenas o estudo de Bucknell *et al* (1995) refere uma prevalência de 10% de larvas de *S. vulgaris* no sistema arterial, e Slocombe, Valenzuela e Lake (1987) referem a presença de 53 adultos no intestino de um poldro com 6,5 meses de idade e de 31 L4 e 3 L5 no sistema arterial (Artéria Mesentérica Cranial, Artéria Ileo-cólica e Artéria Cólica Direita).

No que respeita aos pequenos estrôngilídeos, a maioria dos estudos foi realizada em poldros pelos motivos já expostos, mas temos também alguns dados sobre a sua abundância em animais adultos. Assim temos: 12 poldros de pasto com 10 a 12 meses de idade com 3532 a 57244 parasitas adultos no intestino (Duncan, 1974); 10 poldros com 200 a 2340 parasitas luminais (adultos e L4) e 8 cavalos adultos com 25200 a 139050 parasitas luminais (Eydal, 1983); 6 poldros de 1 ano com 3400 a 27000 adultos e 5900 a 71000 L4 no lúmen, bem como 143000 a 460000 L3 na mucosa (Eysker, Boersema, Kooyman e Berghen, 1988); 2 poldros de 4 meses sem parasitas no intestino grosso e 1 poldro de 6,5 meses com 1580 adultos no cego e 15180 no cólon dorsal (Slocombe, Valenzuela e Lake, 1987). Podemos daqui inferir que a infecção por pequenos estrôngilídeos depende da idade do poldro, estabelecendo-se após a contaminação por L3 infectantes no pasto resultantes da contaminação pelas mães e que só depois dos 6 meses de idade se estabelecem infecções e que a partir do ano de idade elas se tornam equiparáveis em número às de animais adultos. Um estudo em 50 cavalos de matadouro na Polónia (Gawor, 1995) em animais de trabalho não desparasitados com idades entre 4 e 25 anos de idade (mediana 8,5 anos) revela a presença de 23 espécies de ciatostomíneos, com prevalências até 80% por espécie. Este estudo ilustra bem as diferenças de prevalência e de abundância relativa das várias espécies: *C. catinatum*, com 80% de prevalência, apresenta 110 a 44880 parasitas adultos, com uma média de 3900; *C. nassatus* com 72% de prevalência, 150 a 61380 adultos, média 4786; *C. goldi* com 60% prevalência, 20 a 2400 adultos, média 1165. Outro estudo em 150 cavalos de matadouro na Austrália em cavalos de menos de 2 anos a mais de 15 anos revelou uma prevalência de 95% de larvas enquistadas (113000 ± 19000) e de 93% para adultos (55800 ± 5590), o que mostra uma maior consistência devido à inclusão de um número maior de animais distribuídos por várias faixas etárias e ao facto de considerar conjuntamente as cargas parasitárias das várias espécies. As maiores cargas parasitárias foram registadas por Dowdal, Mathews, Mair, Murphy, Love e Proudman em 2002: 2500 a 117000 parasitas no lúmen e 723 a 3595725 na mucosa em 23 animais de matadouro.

De tudo o que foi exposto podemos concluir que são necessários mais estudos para compreender melhor a dinâmica da infecção pelos ciatostomíneos e para explicar as diferenças individuais encontradas, que diferem significativamente em duas ordens de grandeza. É necessário utilizar um maior número de animais e averiguar o papel da idade e do maneio nas cargas totais bem como na abundância e distribuição dos estádios das várias espécies.

Períodos pré-patentes

O período pré-patente é o período de tempo que medeia entre a infecção por L3 e a excreção de ovos pelas fêmeas dos parasitas adultos que resultaram do desenvolvimento dessas L3. Round em 1969 determinou alguns dos períodos pré-patentes (PPP) de estrôngilídeos com base em infecções naturais e experimentais em cerca de 16 pôneis entre os 10 e os 30 meses de idade. Utilizou 4 animais para determinar experimentalmente o PPP de *Poteriostomum spp* (63 a 85 dias), o de *Triodontophorus spp* (63 a 99 dias) e o de *Cyathostomum sensu lato* (43 a 57 dias). Para o *S. vulgaris*, utilizou 8 animais (PPP 149 a 201 dias), tendo tratado dois deles com uma dose de 100mg/Kg de tiabendazol para remover as formas parasitárias antes de nova re-infecção. O autor inferiu estes períodos com base no aparecimento de larvas e ovos nas fezes, mas limitou-se a um número reduzido de animais e não realizou necrópsias para testes críticos de controlo. No entanto estes períodos estão de acordo com os já citados previamente e geralmente aceites para *S. vulgaris* (6 a 7 meses), *S. edentatus* (10 a 12 meses) e *S. equinus* (8 a 9 meses). Já o período pré-patente mais curto determinado com base em infecções naturais por diferentes espécies de ciatostomíneos é de 6 a 12 semanas (Ogbourne, 1978 *cit in* Lyons e Drugde, 2000), o que vai ao encontro do observado por Round (1969) e Eydal (1983). Ainda não se conhecem no entanto os PPP individuais para as diferentes espécies de ciatostomíneos, dada a dificuldade de realizar estudos *post mortem* pelo seu custo e dado o grande número de espécies envolvidas em infecções naturais. As análises de DNA, como veremos adiante, poderão contribuir para a realização de mais estudos em vida, com identificação específica dos ovos eliminados (indistinguíveis morfológicamente) ou das larvas infectantes obtidas por coprocultura.

Hipobiose (*arrested development*) e peri-parturient egg rise

Ogbourne (1971) sugere a hipótese de que os ciatostomíneos retomam o seu desenvolvimento após um período de inibição e cita os resultados de Poynter (1954) como apoio para esta hipótese: um número reduzido de adultos e a presença de grandes números de larvas bem desenvolvidas de ciatostomíneo nas mucosas de dois pôneis eutanasiados em Janeiro e Fevereiro, que estariam

prestes a emergir para o lúmen intestinal, contrapõem-se ao número reduzido de larvas enquistadas e maior número de adultos num pónei eutanasiado em Abril (Anexo V). A manutenção da hipobiose resume-se geralmente ao período de Inverno em climas temperados, mas a maior duração registada foi de 2 anos (Lyons e Drudge, 2000). Ogbourne afirma não serem claras as causas do retomar do desenvolvimento das larvas no inverno mas compara o fenómeno ao da ostertagiose de inverno nos bovinos estabulados. O estudo da fecundidade das fêmeas de *S. vulgaris*, *S. edentatus*, *C. nassatum* e *C. catinatum* vem confirmar que a *spring rise* (aumento súbito das contagens de ovos na Primavera) observada por outros autores se deve ao aumento da carga parasitária e da fecundidade das fêmeas das várias espécies de estrogilídeos (a eliminação de ovos é mínima durante o inverno). O estudo da fecundidade de fêmeas de *S. vulgaris*, *S. edentatus*, *C. nassatum* e *C. catinatum* realizado por Ogbourne (1971, cf. Anexo IV) demonstrou que a percentagem de fêmeas com ovos viáveis era maior entre Maio e Novembro para *C. nassatum* (40 a 100%) e *C. catinatum* (40 a 85%) e entre Abril e Outubro para *S. vulgaris* (40 a 90%) e *S. edentatus* (50 a 100%).

Todd *et al* (1949 *cit in* Ogbourne, 1971) menciona o aumento da contagem de ovos fecais pós-parto em éguas e Ogbourne questiona a possibilidade de se tratar de um fenómeno idêntico ao do que ocorre em ovelhas devido ao aumento da carga de parasitas resultante do retomar do desenvolvimento de formas inibidas e ligado aos eventos fisiológicos que acompanham a lactação. Duncan (1974) questiona o fenómeno da elevação de ovos ligada ao parto com base em duas éguas que pariram em Janeiro e Fevereiro e apenas apresentaram a subida de ovos em Março (ver Anexo IV). No entanto o número de animais do estudo era baixo (apenas 9 éguas) e esta foi uma observação esporádica que não descarta uma ligação entre o ciclo reprodutivo, a sazonalidade e a epidemiologia parasitária.

Fenómeno de refúgio

A população em refúgio é a população parasitária que é susceptível aos desparasitantes, isto é, a população que não está exposta à acção dos anti-helmínticos e por isso não está sujeita a pressão de selecção de fenómenos de resistência (Kaplan e Mathews, 2004). Este conceito interessa-nos na medida em que quanto maior for esta população, mais se consegue atrasar o aparecimento de resistências ao diluir-se a população resistente que sobrevive às administrações de anti-parasitários. Assim, a população em refúgio consiste: 1) ovos e larvas no pasto; 2) todos os estádios em animais não desparasitados e 3) estádios enquistados dos parasitas na mucosa e submucosa (no caso da moxidectina ou do fenbendazol em dose larvicida apenas as EL3 parecem não ser

significativamente afectados, como veremos adiante). Daqui se depreende o interesse de uma desparasitação selectiva em que apenas alguns animais são desparasitados face à abordagem tradicional em que se desparasitam todos os animais do grupo.

A ostertagiose nos bovinos e pequenos ruminantes: síndromes paralelos à ciatostominose equina

Nos ovinos e caprinos (pequenos ruminantes), assim como nos bovinos, ocorrem em climas temperados duas síndromes provocados pela *Ostertagia spp*, parasita gástrico da família Trichostrongylidae com ciclo de vida directo e que apresenta hipobiose nas glândulas gástricas. A ostertagiose tipo I ocorre no final do Verão e início do Outono, resultando da ingestão e penetração na mucosa de grande número de L3 ingeridas no pasto e a de tipo II no final do Inverno e início da Primavera, com a emergência síncrona das L4 das glândulas da mucosa para o lúmen do estômago. Estes síndromes ocorrem essencialmente em animais jovens em pastoreio intensivo e o sinal clínico mais frequente é a perda de peso acentuada, podendo ocorrer diarreia intermitente. As fezes líquidas típicas do síndrome nos bovinos raramente são observadas em ovinos e caprinos. No tipo I as contagens fecais de ovos são geralmente superiores a 1000 OPG, sendo que no tipo II podem ser negativas. Nas regiões subtropicais com chuvas de inverno a ostertagiose ocorre principalmente no final do Inverno. A imunização é lenta e requer exposição durante duas épocas consecutivas de pastoreio, sendo que as ovelhas adultas eliminam mais ovos durante o período pèri-uerperal (Urquhart *et al*, 1998). Como veremos adiante, existem muitas semelhanças entre estas síndromes e aquelas que têm vindo a ser encontradas e descritas para a ciatostominose equina.

Ancilostomatose canina e humana: alguns dados sobre estímulos hormonais na transmissão e possíveis implicações na ciatostominose equina

Cerca de mil milhões de pessoas em zonas tropicais e subtropicais do Mundo são afectadas pela ancilostomatose, parasitose responsável por anemia crónica (ferropriva) em adultos e crianças e por síndromes mais graves em crianças no período puerperal, sendo provocadas essencialmente por *Ancylostoma duodenale* e *Necator americanus* (Loukas e Prociw, 2001). A Ancilostomatose infantil, descrita na China desde 1960, caracteriza-se por sangue em natureza nas fezes, melena, anorexia, apatia, edema e ocorre a partir do 1º dia pós-parto até aos três meses de idade. Os ovos encontrados nas fezes e os adultos expulsos após quimioterapia são de *A. duodenale* e os autores acreditam que a transmissão se faça por via transplacentária e/ou transmamária tal como ocorre no *A. caninum* (Sen-Hai, Ze-Xiau e Long-Qi, 1995). O ciclo de vida é directo (embora possa utilizar

hospedeiro paraténico), com a eliminação de ovos nas fezes que se desenvolvem até à L3 infectante mas a transmissão faz-se por várias vias: transcutânea a partir das L3 no meio, por via oral e por via lactogénica (Loukas e Prociv, 2001). O ciclo mais bem conhecido é o de *A. caninum* e o ciclo que ocorre no Homem com *A. duodenale* é em tudo semelhante, embora os autores frisem que a resistência associada à idade, e consequentemente a hipobiose e transmissão lactogénica são menos proeminentes no Homem. Já o *N. americanus* parece não apresentar hipobiose e talvez por isso também seja encontrado em zonas tropicais e não em zonas temperadas, pois não dispõe nestas de clima que possibilite a sobrevivência das larvas infectantes. O estudo das respostas imunitárias associadas à infecção por ancilostomas é difícil dadas as infecções intercorrentes e à obtenção de material do hospedeiro. À semelhança de outros nemátodes, a resposta celular típica às L3 nos tecidos envolve eosinófilos e se existirem números suficientes pode ocorrer eosinofilia (Loukas e Prociv, 2001). Os autores concluem que apesar da importância da infecção em Saúde Pública, pouco se sabe acerca das interações entre o parasita e o hospedeiro, quer pela falta de modelos animais adequados quer pela dificuldade em obter material dos hospedeiros. Neste estudo não são abordados os mecanismos da hipobiose no Homem dadas as dificuldades já explanadas, mas existem dados interessantes resultantes de um estudo laboratorial com *A. caninum* que podem fornecer-nos algumas pistas acerca dos mecanismos da hipobiose e lançar novos rumos na pesquisa. O estrogéneo e a prolactina associadas à lactação provocam a excreção de larvas de *A. caninum* no leite das fêmeas com infecções latentes mas estudos laboratoriais mostram que esse efeito é indirecto, pois nenhuma das hormonas estimula *in vitro* L3 hipobióticas (Arasu, 2001). O autor conclui que existe alguma resposta dos parasitas em hipobiose nos tecidos ao factor de crescimento tissular β (TGF β), para o qual existem receptores tal como noutros nemátodes, como *C. elegans*, mas não há qualquer resposta das formas infectantes pré-parasitárias. São necessários mais estudos para esclarecer os mecanismos de resposta ao TGF β na hipobiose e para averiguar que outros estímulos estão envolvidos na migração somática dos parasitas nemátodes para os locais de eliminação (útero, glândula mamária). Como existem respostas semelhantes noutros parasitas nemátodes durante a lactação com aumento das eliminações fecais de ovos pelas mães (*S. westeri*, *P. equorum*, *Cyathostomum sensu lato*...) e eventualmente ocorre alguma eliminação transmamária (*P. equorum*, *S. westeri*) estes estudos podem e devem ser considerados na investigação da hipobiose parasitária nas várias espécies hospedeiras. Para finalizar, à semelhança do que tem vindo a ocorrer para nemátodes de ovinos, caprinos e equinos, também já foi detectada resistência do *Ancylostoma duodenale* ao Pirantel numa comunidade aborígene em zona endémica da Austrália (Reyboldson, Behnke, Pallant, Macnish, Gilbert, Giles, Spargo e Andrew Thompson, 1997). Mais

uma vez é importante frisar que é urgente fazer um correcto controlo das parasitoses sem comprometer as armas químicas existentes com a sua sobreutilização.

Condicionantes ambientais e climáticas

No Anexo I podem ser consultados mapas actualizados com a classificação Köppen-Geiger (Peel, Finlayson e McMahon, 2007), que considera essencialmente as variações e amplitudes anuais de temperatura e precipitação na definição dos tipos e subtipos climáticos. Apesar da classificação originalmente proposta por Wladimir Köppen e modificada pelos seus colaboradores e sucessores ter mais de 100 anos, continua a ser utilizada regularmente por investigadores nas mais variadas disciplinas como forma de regionalização climática das variáveis. Por esse motivo a caracterização climática das zonas onde se realizaram os estudos epidemiológicos será parte integrante na análise dos mesmos apresentada neste capítulo, dada a possível utilidade na interpretação e extrapolação dos dados fornecidos pelos estudos epidemiológicos das strongilidoses dos equinos e da ciatostominose em particular. Para situar cada local de estudo no mapa climático, foi utilizado o software Google Earth, através da utilização de uma “GoogleEarth layer” (*.kml), disponibilizada para o efeito pela Universidade de Melbourne. O risco de transmissão parasitária varia de forma sazonal e o conhecimento dos padrões de transmissão torna-se particularmente importante no controlo parasitário, devendo o mesmo incidir nos períodos que antecedem os de máxima transmissão (Herd, Willardson e Gabel, 1985) Este tipo de controlo, denominado estratégico, pode contribuir para um menor recurso à utilização de anti-helmínticos e consequentemente reduzir o aparecimento de resistências aos mesmos.

Estudos epidemiológicos: um padrão de infecção para cada tipo de clima?

Da análise dos vários estudos (ver Anexo IV) podemos concluir que nos climas temperados se observam eliminações baixas ou nulas durante o Inverno, observando-se uma elevação acentuada na Primavera (a chamada *spring rise*) e que pode ser seguida por outro pico de eliminação no final do Verão ou no Outono, cuja intensidade depende das condições de temperatura e pluviosidade. Os picos de larvas infectantes no pasto seguem-se aos picos de ovos com um desfasamento de duas a quatro semanas, pelo que o segundo pico de Outono é associado ao acumular de mais formas adultas no intestino grosso como resultado da contaminação começada na Primavera. No estudo de Duncan (1974) o primeiro pico de ovos na Primavera foi provocado pelas éguas e o segundo pico, de Outono, pelos respectivos poldros. A maior contaminação do pasto ocorre cumulativamente no Outono e o número de L3 diminui significativamente no Inverno. Duncan, Arundel, Drudge,

Malczewsky e Slocombe (1988), a propósito da testagem da eficácia de AH em larvas de pequenos estrôngilos em desenvolvimento na mucosa, concluem que se deve considerar que em climas temperados as larvas adquiridas na pastagem no Outono sofrem uma inibição no desenvolvimento durante o Inverno e emergem maciçamente na primavera, num fenómeno semelhante ao da ostertagiose tipo II nos bovinos (padrão típico dos climas temperados).

Em climas tropicais secos existe eliminação parasitária durante todo o ano com picos no período seco (Mfitildoze e Hutchinson, 1988) ou no período húmido (Bezerra, Machado do Couto, Moura de Souza, Bevilaqua, Anjos, Sampaio e Rodrigues, 2007). Consequentemente existe contaminação da pastagem durante todo o ano devido às temperaturas favoráveis ao desenvolvimento e sobrevivência das L3 na pastagem (Bezerra, Machado do Couto, Moura de Souza, Bevilaqua, Anjos, Sampaio e Rodrigues, 2007).

Os padrões de transmissão em climas temperados podem no entanto ser alterados por vários factores: 1) desparasitação – éguas desparasitadas regularmente e só colocadas na pastagem em Maio não apresentaram *spring rise* e o período de transmissão pela contaminação da pastagem com L3 ocorreu no Outono (Craig, Bowen e Ludwig, 1983); 2) uso de pastagens limpas – picos de contaminação do pasto que ocorrem geralmente no Outono e Inverno ocorreram apenas na Primavera quando os animais foram colocados num parque limpo (Baudena, Chapman, French e Klei, 2000); 3) alterações na pluviosidade e temperatura que limitem ou possibilitem uma maior sobrevivência de L3 no pasto (English, 1979a). Hutchinson, Abba e Mfitildoze (1989) apontam para a influência das diferenças microclimáticas, nomeadamente maiores amplitudes térmicas e precipitação na migração e sobrevivência larvar: precipitações tão baixas como 25mm possibilitam o desenvolvimento larvar e influenciam a migração larvar positivamente. Os autores concluem que a irrigação ou a presença de áreas pantanosas ou com lagoas no pasto podem fornecer humidade suficiente para a migração larvar, o que pode alterar significativamente a epidemiologia.

Em Portugal o clima é classificado como mediterrânico (Cs), ou seja, clima temperado húmido com Verão seco, dividindo-se o Norte e o Sul em 2 subtipos: Csb no Norte, com Verão seco e temperado e Csa no Sul, com Verão seco e quente. No entanto, e como procuramos estabelecer relações epidemiológicas entre os grandes tipos climáticos, não serão consideradas as subdivisões entre norte e sul.

A zona de produção extensiva do cavalo Lusitano em Portugal situa-se essencialmente ao longo do rio Tejo, em terras da Estremadura, Ribatejo e Alentejo (Cordeiro, 2005) e é nas coudelarias desta região que a maioria dos trabalhos de estudo epidemiológico têm sido feitos, com destaque para a Coudelaria Nacional no Vale de Santarém (Agrícola, Jorge, Gillespie, Barbosa, Fazendeiro e

Madeira de Carvalho, 2003), para a Coudelaria Alter Real em Alter do Chão (Caeiro, 1998; Pais Caeiro, 1999) e para a Coudelaria da Companhia das Lezírias, com pastagens na zona de Samora Correia (Madeira de Carvalho, Fazendeiro e Afonso-Roque, 2005; Madeira de Carvalho, Gillespie, Serra, Bernardo, Farrim e Fazendeiro, 2007b; Madeira de Carvalho, Afonso-Roque, Gomes e Fazendeiro, 2007c).

Um estudo levado a cabo durante quatro anos (1994 a 1996 e 1999) em pastagens de sequeiro e regadio numa coudelaria ribatejana, com éguas e poldros a pasto e cavalos estabulados, permitiu estabelecer padrões de infecção para os diferentes sistemas de manejo (Madeira De Carvalho, Afonso-Roque, Gomes e Fazendeiro, 2007c). Assim, em pastagens de sequeiro, podemos observar picos de ovos das éguas e poldros em Abril (5000 OPG), seguidos de um decréscimo até cerca de 2000 OPG em Julho e de um aumento em Agosto, Setembro e Outubro (3500-4500 OPG em poldros de ano e 2000 a 3000 em éguas com poldros de mama) que declinam para valores baixos no Inverno (valores de cerca de 500 OPG em Janeiro e Fevereiro).

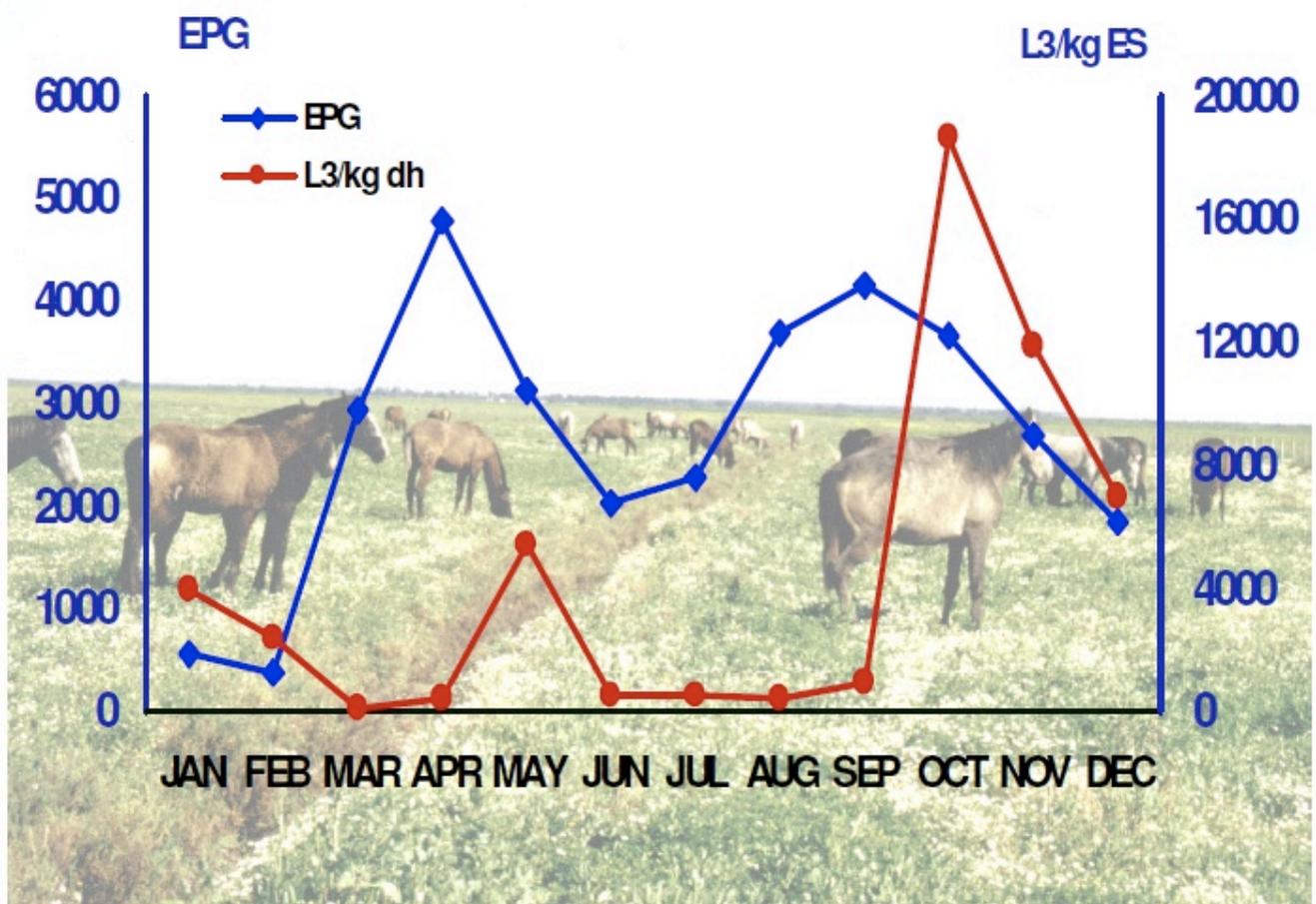


Fig. 10 Evolução sazonal das contagens de ovos em poldros de ano e de L3/Kg de erva seca em pastagens de sequeiro (Madeira de Carvalho *et al*, 2007c)

Os picos de L3 no pasto ocorrem em Maio (5400L3/Kg erva seca) e em Outubro (18600 L3/Kg erva seca) declinando rapidamente em Novembro e Dezembro para valores abaixo das 8000 L3/Kg, atingindo valores quase nulos em Março e de Junho a Setembro (Verão). Podemos assim observar que em condições de sequeiro a eliminação de ovos é importante da Primavera ao Outono, mas a contaminação do pasto ocorre essencialmente na Primavera e de maneira significativa no Outono, situação correlacionada positivamente com a precipitação verificada nos meses de maior contaminação. Esta observação vai ao encontro dos estudos em pastagens de sequeiro realizados em climas temperados (cf. Anexo IV), pelo que pelo menos na situação Ribatejana, Portugal enquadra-se na epidemiologia típica de climas temperados. Relativamente à epidemiologia em pastagens de regadio, Madeira De Carvalho, Afonso-Roque, Gomes e Fazendeiro (2007c) observaram que a situação se alterava, passando a ser em Julho o mês com contaminação do pasto mais elevada (cerca de 4500 L3/Kg), seguindo-se Maio e Outubro com cerca de 1000 L3/Kg e permanecendo baixa durante o resto do ano. Neste caso a contaminação do pasto por L3 encontra-se positivamente relacionada com a temperatura e não com a pluviosidade (o que faz todo o sentido visto haver humidade relativa elevada durante todo o ano).

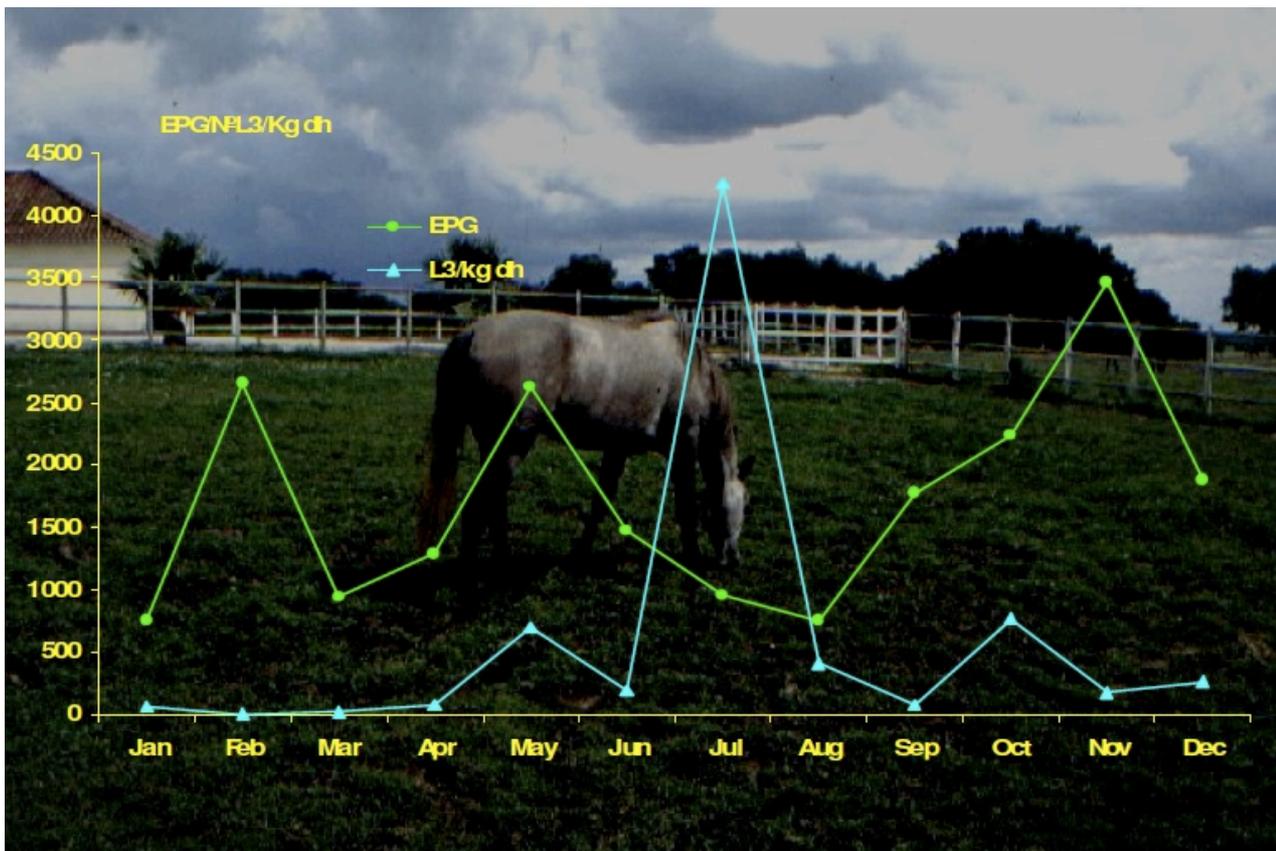


Fig. 11 Evolução sazonal das contagens de ovos em poldros de ano e de L3/Kg de erva seca em pastagens de regadio (Madeira de Carvalho *et al*, 2007c)

O padrão de eliminação de ovos também se altera ligeiramente, com picos em Fevereiro e Maio (2500-3000) e Novembro (3500). Os autores sublinham que em ambos os tipos de pastagem há contaminação por ovos todo o ano com o subsequente risco de infecção, sendo os períodos mais importantes a Primavera e o Outono em pastagens de sequeiro e o Verão em pastagens de regadio. A nível dos animais estabulados, verificam-se eliminações altas durante todo o ano. Os ciatostomíneos foram o grupo parasitário mais prevalente e abundante em todos os animais: prevalências 72 a 97% e abundâncias relativas 90 a 98%. Face aos resultados obtidos e nomeadamente à elevada prevalência de L3 durante o Inverno em pastagens de sequeiro, os autores alertam para a necessidade da actualização de estudos epidemiológicos da ciatostominose a nível regional de forma a melhorar os protocolos de desparasitação dos animais.

Num estudo em asininos estabulados, Madeira de Carvalho, Gomes, Cernea, Santos, Bernardes, Rosário, Soares e Fazendeiro (2008d) observaram um padrão sazonal de eliminação de ovos, com picos na Primavera (Maio), Verão (Agosto) e Outono (Novembro), sendo o pico de Verão o mais elevado (2000 OPG) face aos outros com cerca de 1200 OPG. Estes dados vêm reforçar os dados do estudo anterior que reporta eliminações altas em animais estabulados durante o ano, pelo que os autores alertam para a importância da monitorização e controlo do parasitismo nos animais estabulados e não apenas em animais em pastoreio.

Madeira de Carvalho, Fazendeiro e Afonso-Roque (2005) estudaram a contaminação experimental em pastagens espontâneas de sequeiro. Os valores mais elevados de L3 no pasto foram assinalados para as amostras colocadas em Março e em Dezembro de 1996, meses que coincidiram com períodos de elevada pluviosidade. Os picos de ovos mais elevados foram em Janeiro e Setembro e 99,8% das L3 eram de *Cyathostomum* *sl.* Estes dados vêm corroborar as variações sazonais observadas nas pastagens de sequeiro na mesma zona geográfica.

A propósito das variações de contaminação do pasto em função dos regimes de produção, Dorchies, Clement, Mazaud, Flochlay e Blond-Riou (1997, França, clima mediterrânico quente) avaliaram a eficácia da IVM e da MOX em 58 éguas em sobrepastoreio (encabeçamento superior a 1 animal/ha) e consideraram a importância da contaminação do pasto com base na estimativa da evolução cumulativa da média aritmética das contagens de ovos ao longo do tempo. Face ao que já vimos, e pese embora a eliminação poder influir na contaminação do pasto, esta conclusão pode não ser válida em alturas em que a sobrevivência das L3 seja menor e pode ser dramaticamente alterada conforme o regime de manejo. Mais uma vez, realça-se a importância de estudos actualizados a nível regional que neste caso deverão contemplar a situação de sobrepastoreio (não se deverá

compensar o sobrepastoreio com uma administração mais frequente de AH, sob pena de seleccionar resistências com maior rapidez).

Em conclusão, os estudos epidemiológicos analisados alertam-nos para os factores ligados ao micro-ecossistema do pasto cuja contaminação por L3 não é apenas determinada pelo clima dominante da região mas também de maneira importante por outros factores:

1. A existência de um microclima local que confira características climáticas distintas das zonas adjacentes;
2. A existência de microclima artificial, como por exemplo o pasto de regadio todo o ano, que em zonas temperadas poderá simular um clima tropical;
3. O tipo de plantas cultivadas;
4. A existência ou não de rotação de pastos, alternando com cultivo ou com o pastoreio de outras espécies;
5. A inexistência de cultivo adequado do pasto e a prática de sobrepastoreio, mesmo com complementação adicional de feno, palha ou concentrados, pois as L3 encontram-se até um máximo de 10cm de altura no pasto (Fusé, Castillo e Saumell, 1992);
6. A higiene que é dedicada ao pasto (o desenvolvimento até L3 pode ocorrer em 4 a 9 dias durante a Primavera e o Verão em clima temperado subtropical (English, 1979a e 1979b) e numa semana em clima temperado oceânico (Ogbourne, 1972).

Do que foi exposto se depreende que cada situação de exploração tem as suas especificidades e que não devemos tomar como garantido o padrão epidemiológico estudado em zona distinta do país com diferentes condições de manejo, devendo sempre proceder-se a uma avaliação da veracidade do modelo na exploração de interesse, seja através da contagem de larvas no pasto, seja por um método mais económico como a avaliação da eliminação fecal de ovos, individual ou de grupo, e do recurso a outras medidas para assegurar que essa eliminação seja diminuída (higiene do pasto, cultivo, rotação, encabeçamento correcto) antes de recorrer a uma desparasitação estratégica dos animais.

O fenómeno dos *roughs and lawns*: implicações na higiene do pasto

Herd e Willardson (1985a) avaliaram o comportamento de 10 éguas em 24ha de pasto e constataram que os cavalos evitam pastar em zonas onde se encontram as fezes (*roughs*) e preferem pastar nas outras zonas (*lawns*) tal como constatado em 1954 por Taylor (*cit in* Herd e Willardson 1985a). A concentração de L3 no pico de Novembro era marcadamente diferente para as duas zonas, com menos de 50000 L3 nas zonas de pasto e cerca de 200000 L3/Kg erva seca nas zonas em torno das massas fecais. No entanto, este efeito comportamental protector desaparece com a sobrepopulação ou com a colocação em *paddocks* pequenos em que o animal se vê forçado a comer tudo o que está disponível (Herd e Willardson, 1985a). Como já foi referido, as condições climáticas podem influenciar significativamente a disponibilidade de larvas no pasto, nomeadamente a ocorrência de precipitação (ou a realização de pastos de regadio). Estes dados são importantes porque a amostragem deve ter em conta a ocorrência destas zonas por forma a fornecer uma melhor estimativa da infectividade. Normalmente esta área não pastada ocupa 60 a 50% da área total (Herd e Willardson, 1985a) e vai diminuindo de acordo com a escassez de alimento que acompanha a época de pastoreio, conforme demonstrado por Herd (1986), que verificou que num paddock com 1,7ha onde foi colocado em Abril um grupo de 10 pôneis, a 1 de Agosto o pasto já tinha sido totalmente consumido e os animais tiveram de ser colocados noutra paddock. O mesmo autor constatou que a remoção bi-semanal de fezes num parque de 2ha com 10 animais aumentou a área de pastoreio em 50% devido ao facto de não ocorrer separação entre as zonas com fezes e as zonas de pasto.

Anátomo-Patologia , Histopatologia e Imunologia

A imunidade nas strongilidoses do cavalo

A imunidade a *S. vulgaris* é adquirida e completa: a vacinação com duas doses de L3 irradiadas fornece uma protecção superior a 90% , prevenindo lesões arteriais e sinais clínicos associados à migração arterial inicial. Infecções secundárias subsequentes originam eosinofilia anamnésica, pois apenas eosinófilos activados demonstram actividade *in vitro* (Klei e Chapman,1999). Os anticorpos que medeiam esta resposta são específicos para a espécie e estágio parasitário de *S. vulgaris*. Esta imunidade mediada por resposta celular também ocorre nos linfócitos de pôneis imunes que produzem factores quimiotáticos para eosinófilos *in vitro* como resposta à exposição ao antigénio somático solúvel de *S. vulgaris* (Klei, 2001). Já os ciatostomíneos , que ao contrario do *S. vulgaris* continuam a ser encontrados em explorações com bom maneio e apresentam resistências a todas as classes de AH, apresentam uma imunidade adquirida com a idade: é necessária a exposição aos parasitas durante duas épocas de pastoreio nos poldros para desencadear resposta imunitária e a imunidade parece apenas influenciar a fecundidade dos parasitas, pois os números de parasitas adultos são semelhantes em animais de todas as idades mas em animais mais velhos a eliminação de ovos nas fezes é significativamente menor (Klei e Chapman, 1999). De acordo com os autores a resposta imunitária é adquirida lentamente e é incompleta, sendo que a exposição a extratos somáticos de parasitas não está correlacionada com a imunidade protectora e a infecção com L3 induz eventos não específicos que levam à expulsão dos adultos do lúmen (este fenómeno de “auto-cura” ocorre em várias espécies de helmintas GI). Algumas observações indicam que a expressão de IL4 está associada à expulsão dos adultos (Klei e Chapman 1999), mas existe ainda necessidade de estudar este e outros modelos para caracterizar a resposta imunitária a estes parasitas.

Um estudo sobre a influência da administração diária de tartarato de pirantel em 18 pôneis sujeitos a infecção experimental mostrou com base nos resultados das necrópsias que parece existir uma resistência dependente da idade à infecção em animais tratados e não tratados: pôneis mais velhos apresentavam menores cargas parasitárias face aos pôneis jovens (1 a 4 anos) do mesmo grupo, e face a um grupo de 4 pôneis SPF (1 a 4 anos) (Monahan, Chapman, Taylor, French e Klei, 1998). Estes estudos vêm corroborar a complexidade das relações parasita-hospedeiro na infecção multi-específica pelos ciatostomíneos, evidenciando a necessidade de um melhor conhecimento dos fenómenos imunitários associados, indispensável ao controlo adequado da infecção... Como veremos adiante, um dos modos de equilibrar a relação parasita-hospedeiro é o de melhorar a resposta imunitária do hospedeiro através do maneio nutricional (embora os mecanismos também ainda não se encontrem bem esclarecidos).

Alterações macroscópicas: anátomo-patologia na infecção por *S. vulgaris*

As alterações macroscópicas detectadas em animais assintomáticos à necrópsia estão geralmente associadas ao parasitismo por *S. vulgaris*, sendo as lesões provocadas pela infecção com ciatostomíneos de carácter difuso e geralmente observadas microscopicamente. As lesões provocadas pelas L4 de *S. vulgaris* são de arterite e trombose severas nas artérias abdominais principais (Artéria Mesentérica Cranial, Artéria Íleo-Cólica, Artéria Cólica Direita, Aorta Abdominal, Artéria Ilíaca Interna e Artéria Celíaca). Estas lesões foram observadas em 2 poldros com 4 meses de idade, e eram provocadas pelas migrações larvares de L4 e L5 (Slocombe, Valenzuela e Lake, 1987). Estes poldros ainda não apresentavam parasitismo por pequenos estrôngilos porque foram retirados do pasto e eutanasiados antes da altura de maior transmissão e quantidade L3 pasto, de acordo com os autores. Noutro estudo Craig, Bowen e Ludwig (1983) observaram que 2 poldros de 5 meses que estiveram no pasto com as mães (desparasitadas regularmente antes do estudo) não apresentavam lesões provocadas por *Strongylus vulgaris*, mas tinham larvas de *S. edentatus* na gordura retro-peritoneal. Estes animais tinham nascido em Maio e foram eutanasiados em fim de Setembro/início de Outubro, logo antes do pico de L3 no pasto que ocorreu em Outubro. Este estudo mostra que a desparasitação das mães poderá diminuir o risco de infecção com *S. vulgaris*, mas o achado de larvas de *S. edentatus* coloca-nos a questão do papel da eventual contaminação prévia do pasto por L3 de *S. edentatus* e das variações sazonais na eliminação de ovos pelas fêmeas adultas de *S. vulgaris* (pois não sabemos se a desparasitação eliminou todas as formas adultas das éguas). Um estudo mais actual (Bucknell, Gasser e Beveridge, 1995) em 150 animais de matadouro revelou a prevalência de lesões arteriais em 10% dos animais.

Estes dados são significativos se considerarmos que os animais estão distribuídos por vários escalões etários e provêm de várias origens da área de Victoria, na Austrália. De acordo com os autores, esta prevalência é bastante mais baixa que a encontrada por Arundel em 1978, em que 89% dos animais apresentava larvas de *S. vulgaris* no sistema arterial. Estes dados sugerem claramente uma diminuição da prevalência de *S. vulgaris* e das lesões associadas em consequência do aumento da frequência de desparasitação nas quintas de criação de animais para desporto. Actualmente os relatos destas lesões constituem achado ocasional, pois devido à diminuição da prevalência ao longo dos últimos anos as larvas de *S. vulgaris* não são procuradas nos testes críticos de controlo de eficácia de AH (Anexo V) em que apenas são contabilizados os parasitas localizados no tubo digestivo. A título de exemplo, temos o relato de um caso em 2001 (Martins, Sant'Anna e Scott) em que durante a necrópsia de um cavalo de 13 anos foi encontrada uma lesão de 14 cm de diâmetro na aorta abdominal que continha 65 formas larvares: 32 L4, 27 adultos jovens e 6 formas degradadas.

Alterações microscópicas na ciatostominose

Num estudo de eficácia da moxidectina realizado no sudoeste dos EUA com 40 animais vindos pasto, com 1 a 25 anos de idade, divididos por 3 grupos de tratamento com dosagens diferentes e um grupo controlo, foi feita a avaliação clínica *post mortem* da inflamação intestinal associada à infecção com ciatostomíneos (Bello e Laningham, 1994). Os autores concluíram que os cavalos não tratados com moxidectina apresentavam reacções inflamatórias acentuadas na mucosa do ceco e do cólon (inflamação, edema e reactividade generalizadas), apresentando os grupos tratados uma inflamação moderada, sendo a redução da inflamação avaliada em 62.6%. Foi também assinalada uma diferença significativa entre animais com menos de três anos e animais com três ou mais anos: os cavalos mais novos do grupo controlo exibiam maior inflamação intestinal que os mais velhos, e eram também os mais novos nos grupos de tratamento aqueles em que havia maior diminuição da inflamação. Ao exame microscópico era patente o infiltrado inflamatório constituído por eosinófilos, linfócitos e plasmócitos, tendo sido observadas adicionalmente quatro úlceras na mucosa relacionadas com dano parasitário prévio, uma cicatriz mucosal e uma criptite aguda. Dois espécimes apresentavam hiperplasia focal benigna da mucosa e granulomas constituídos por histiócitos (sem focos de necrose) foram observados em todos os grupos, com maior proeminência na submucosa.

Esta reacção inflamatória intensa observada no intestino de animais jovens é corroborada por um estudo de Chapman, French, Taylor e Klei (2002), em que animais expostos a pasto contaminado

sujeitos a infecção posterior apresentam maiores números de estádios enquistados que animais não expostos previamente. O tecido das biópsias intestinais do cólon ventral e cego destes animais apresenta um peso significativamente superior ao do tecido intestinal de animais sem exposição prévia (primo-exposição), denunciando uma reacção inflamatória associada à presença dos parasitas na mucosa e submucosa com o consequente acúmulo de fluidos e células inflamatórias.

Estudos histopatológicos com enfoque sobre o papel das células inflamatórias

Collobert-Laugier, Hoste, Sevin, Chartier e Dorchies (2002) colheram entre Dezembro de 1998 e Março de 2000 o ceco e o cólon ascendente (ventral e dorsal) de 42 cavalos infectados naturalmente com ciatostomíneos em matadouro ou durante necrópsias de rotina. Os autores analisaram as amostras através de técnicas histoquímicas e registaram as alterações nos números de mastócitos da mucosa e da submucosa (MM e MSM) e dos eosinófilos intraepiteliais, da mucosa e da submucosa (EI, EM e ESM) face às cargas parasitárias dos animais. O efeito da idade foi examinado em três subgrupos: animais de 6 a 24 meses (grupo 1); animais de 2 a 10 anos (grupo2) e animais com mais de 10 anos (grupo 3). Não foram detectados leucócitos globulares e não se observaram variações nas contagens celulares relacionadas com a raça ou com o sexo. As variações de interesse foram nas contagens mais elevadas de eosinófilos nos grupos 2 e 3 e um aumento acentuado nos MM nos cavalos mais velhos (grupo 3). Os números de larvas, adultos e carga parasitária total estavam relacionados com algumas das contagens de eosinófilos e as EL3 com as densidades de mastócitos. As relações entre as contagens celulares e as cargas parasitárias variaram com a idade: no grupo 1 observaram-se relações significativas entre contagens de eosinófilos EI e ESM e as contagens de larvas e de adultos; no grupo 2 observou-se entre todos os tipos de eosinófilos e as cargas totais de parasitas; no grupo 3 observou-se hiperplasia dos MM e correlação destes com cargas totais e EL3. Este estudo vem apoiar a hipótese que a infiltração celular de mastócitos e eosinófilos no intestino grosso pode estar associada à infecção por ciatostomíneos. Du Toit, McGorum, Pemberton, Brown e Dacre (2007) estudaram o papel das proteinases dos mastócitos na resposta intestinal à infecção por ciatostomíneos. Para tal conceberam e utilizaram uma coloração imunohistoquímica específica em secções de intestino grosso fixadas em formol provenientes de cavalos positivos e negativos para ciatostomíneos, de acordo com a contagem de parasitas adultos à necrópsia (animais negativos foram possivelmente desparasitados e os autores pressupõem que tivessem estado previamente infectados com parasitas no lúmen). Foram usados anticorpos policlonais anti-triptase e anti-proteinase equinas de coelho e foi feita análise quantitativa da coloração, verificando-se um aumento na triptase dos mastócitos da mucosa e submucosa intestinais de animais positivos. O

número de mastócitos também estava aumentado na mucosa e submucosa de animais positivos face aos negativos, mas sem significado estatístico. Os autores concluem que o tipo de fixação não é o ideal e que são necessários mais estudos para estabelecer o papel das proteinases dos mastócitos na infecção por ciatostomíneos.

Estudos *post mortem* sobre imunidade na ciatostominose

Estudos de campo com infecção experimental

Chapman, French, Taylor e Klei (2002) expuseram pôneis de 2 e 3 anos de idade livres de parasitas (criados em condições semelhantes às de animais SPF ou *specific pathogen free*), a três situações diferentes durante 4 meses: pastagem contaminada onde previamente pastaram animais com ciatostomíneos; pastagem não contaminada; e o terceiro grupo manteve-se em condição livre de parasitas. Os dois grupos no pasto foram seguidamente estabulados e desparasitados com IVM e OXB por forma a libertarem o maior nº de parasitas enquistados (facto verificado com a necrópsia de 5 animais 17 dias depois). Os pôneis remanescentes foram infectados *per os* com 100000 L3 (por animal) três semanas depois da desparasitação. 7 semanas depois desta exposição, os animais foram necropsiados e os autores constataram que embora não existissem diferenças significativas entre os grupos no que concerne ao número total de ciatostomíneos (estádios luminais e enquistados) havia uma percentagem significativamente maior de EL3 hipobióticas e menos adultos nos pôneis expostos ao pasto contaminado. Este estudo apoia a hipótese de que a resistência adquirida aos ciatostomíneos através da exposição promove a hipobiose, ou seja, que a hipobiose é um mecanismo resultante da aquisição de imunidade pelo hospedeiro.

Estudos de campo com infecção natural

Craig, Bowen e Ludwig (1983) estudaram o impacto da contaminação do pasto nas cargas parasitárias de ciatostomíneos através da eutanásia de 2 poldros de 5 meses que se encontravam no pasto com as mães. O primeiro poldro foi eutanasiado a 28 de Setembro e exibia significativamente menos L4 enquistadas que o poldro eutanasiado a 22 de Outubro, após o pico de contaminação do pasto com L3: 27354 vs 189004. Já o número de ciatostomíneos adultos presentes no intestino era equiparável (92592 vs 117158). Este estudo vai ao encontro às conclusões de Chapman, French, Taylor e Klei (2002) e sugere que a primeira exposição do poldro nos primeiros meses de vida a níveis moderados de L3 infectantes é o suficiente para que na exposição mais intensa do Outono ocorra uma hipobiose de número significativo de parasitas.

Eydal e Gunnarsson (1991) constataram que poldros de 2 e 3 anos de idade são os que apresentam uma comunidade de estrôngilos mais diversificada face aos outros grupos etários (5 meses, 4 e 5 anos, 8 a 20 anos), resultados que apoiam os estudos mais actuais acerca da imunidade dependente da idade mas podem também significar que são a faixa etária mais exposta à contaminação do pasto. Neste estudo verificaram uma prevalência de *P. equorum* de 90% poldros 5 meses (50 a 1100 OPG) e de apenas 10% em cavalos 3 anos (50 OPG); para *O equi* de 30% nos poldros 5 meses (50 a 400 OPG) e em apenas 10% dos poldros de ano (50 OPG). Já *S westeri* apenas foi encontrado nas culturas larvares dos poldros de 5 meses. Estes resultados mostram que estas infecções são típicas de poldros jovens e que a imunidade é adquirida e completa, à semelhança de *S. vulgaris*.

Modelos estatísticos

Galvani (2003) concluiu através da utilização de um modelo estocástico que a agregação de parasitas helmintes está inversamente relacionada com a intensidade da imunidade do hospedeiro e que a agregação é maior quando a imunidade afecta a fecundidade do parasita do que quando actua na susceptibilidade do hospedeiro, o que parece aplicar-se ao caso da ciatostominose face ao resultados dos estudos anteriores.

Patologia clínica

O parasitismo por grandes estrôngilídeos: prevalência e abundância

Prevalência

A patologia associada à infecção com as várias espécies de *Strongylus* está relacionada com as migrações somáticas das larvas durante o período de desenvolvimento típico de cada ciclo biológico (período pré-patente) e como já vimos as larvas de *S. vulgaris* são aquelas associadas a sintomatologia clínica mais grave.

Da análise dos vários estudos do Anexo V podemos verificar que as prevalências das várias espécies são variáveis, parecendo haver uma tendência para um decréscimo de prevalência de adultos de todas as espécies e especialmente de *S. equinus*, assim como para larvas de *S. vulgaris* no sistema arterial em animais desparasitados:

- 94% *S. edentatus*, 85% *S. vulgaris*, 21% *S. equinus* (48 animais na sua maioria estabulados e desparasitados, estudo em 1970 e 1971 no Canadá; Slocombe McCraw, 1973);
- 40% *S. edentatus*, 74% *S. vulgaris* e 14% *S. equinus* (50 cavalos de matadouro não desparasitados, estudo entre 1986 e 1988 na Polónia; Gawor, 1995);
- 85% *S. edentatus* a partir de 1 ano de idade, 30% *S. vulgaris* a partir dos 2 anos e 30% *S. equinus* a partir dos 3 anos (57 animais não desparasitados, estudo em 1991 na Islândia; Eydal e Gunnarsson, 1994);
- 23% *S. vulgaris* (10% larvas sistema arterial), 23% *S. edentatus* e 3% *S. equinus* (150 cavalos de várias origens, desparasitados durante a vida, estudo em 1993 na Austrália; Bucknell, Gasser e Beveridge, 1995); os autores deste estudo referem um estudo anterior realizado em 1978 por Arundel em que a prevalência de larvas de *S. vulgaris* no sistema arterial era de 89%, tendo havido um decréscimo significativo na prevalência;
- 50% *S. vulgaris*, 37,5% *S. edentatus* (8 pôneis de várias idades, não desparasitados durante o estudo em 1995 nos EUA; Monahan, Chapman, Taylor, French e Kley, 1996);
- 4,3% *S. vulgaris* e 34% de *Strongilynae* (parasitas adultos identificados e contabilizados coprologicamente após desparasitação em 23 equinos; Madeira De Carvalho, Afonso-Roque e Fazendeiro, 2003).

•

Abundância

Quanto à abundância relativa das L3 infectantes de *Strongylus* spp excretadas pelos animais face às restantes espécies nomeadamente as de *Cyathostomum sensu lato* (identificadas através de coproculturas ou da recolha do pasto), podemos ver diminuição ao longo dos anos e diminuição aquando da desparasitação:

- *Cyathostomum sensu lato* 72,5 a 100%, *S. edentatus* 0 a 17,5% e *S. vulgaris* 0 a 10%, *S. equinus* <2% (estudo epidemiológico de dois anos, autor alerta para a excreção sazonal predominante de *S. edentatus* e *S. vulgaris* de Junho a Outubro e as 16 éguas eram desparasitadas com FTZ na altura com pouca eficácia, Inglaterra – Newmarket; Poynter, 1954);
- 60% *Cyathostomum* e 40% *Strongylus spp* em poldra de 15 meses estabelecida desde o nascimento, 85% e 100% *Cyathostomum* aos dias 56 e 63 pós-desparasitação (Inglaterra – Newmarket; Round 1969);
- 90% *Cyathostomum* e 10% grandes estrôngilídeos (estudo epidemiológico com 150 cavalos, Canadá; Slocombe e McCraw, 1973);
- 80 a 100% *Cyathostomum sl*, 0 a 19% *S. vulgaris* e 0 a 7% outras (estudo epidemiológico de dois anos, Inglaterra; Duncan, 1974);
- 70 a 80% *Cyathostomum sl* e 5 a 12% *S. vulgaris* no pasto (contaminação experimental do pasto 1979, Austrália; English, 1989a);
- 98,4 a 98,7% *Cyathostomum sl* e 100% após a administração de CBZ (Islândia; Eydal, 1983);
- 70% *Cyathostomum sl* e 30% grandes estrôngilos (contaminação experimental do pasto 1981/1982; Austrália, Hutchinson, Abba e Mfitildoze, 1989);
- 95 a 100% *Cyathostomum sl*, 0 a 5% *S. edentatus* e 0 a 5% *S. vulgaris* (estudo epidemiológico de 1981, Ohio – EUA; Herd, Willardson e Gabel, 1985);
- 100% L3 pasto *Cyathostomum sl* entre Maio e Novembro (excepção algumas L3 de *S. vulgaris* encontradas em 1/11/83; Canadá, Maio a Novembro de 1983; Slocombe, Valenzuela e Lake, 1987);
- 100% *Cyathostomum sl* antes e depois de desparasitação (Inglaterra, 1990; Mair e Cripps, 1991);

- 95% *Cyathostomum sl*, 5% *S. vulgaris* e outros grandes estrôngilídeos; 100% *Cyathostomum sl* após desparasitação (Espanha, 1991; Garcia-Perez, Muñoz, Povedano e Juste, 1994);
- 95% *Cyathostomum sl* (com 100% prevalência em todas as idades!!!) e as restantes espécies <2% cada (57 animais não desparasitados, rotação de pastos, Islândia 1991; Eydal e Gunnarsson, 1994);
- 99% *Cyathostomum sl*, 0,7% *S. vulgaris* e <0,2% outras (103 animais de várias idades, sexos, 75% no pasto e 25% estabulados, Holanda, Maio a Junho de 1991; Boersema, Borgsteede, Eysker e Saedt, 1995);
- 90,6% *Cyathostomum sl*, 6,2% *S. edentatus* e 3,1% *S. vulgaris*, no dia 14 após a MOX: 93,2%, 4% e 2,8%. À necrópsia: 99,9% ciatostomíneos adultos e imaturos lúmen (56778) e 0,03% *S. edentatus* e *vulgaris* (18 adultos de cada). (Teste crítico de controlo com 12 pôneis de 1 ano, EUA; Bello e Laningham, 1994);
- 100% *Cyathostomum sl* após IVM (Alter do Chão; Caeiro, 1998);
- 84 a 100% *Cyathostomum sl*, 0 a 14% *S. vulgaris*, 0 a 2% *S. edentatus*, 0 a 12% *Triodontophorus* spp. 100% *Cyathostomum sl* após a desparasitação (3 quintas com 136 animais, Brasil; Luz Pereira, Cavichioli, Guimarães, Batiston e Gusmão, 1994);
- L3 *S. vulgaris* no pasto: 100% Junho 1993, 82 e 97% em Setembro e Outubro de 1994 e 50 e 46% em Abril e Maio de 1995. Nos restantes períodos a maioria era de *Cyathostomum sl* (estudo com 50 éguas 3 a 5 anos não desparasitadas de 1993 a 1995, Limoges, França; Mage, 1996);
- 94 a 100% *Cyathostomum sl*, 100% após MOX/IVM (99 animais de várias idades no pasto, Bélgica 94/95; Demeulenaere, Vercruysse, Dorny e Claerebout, 1997);
- 67% a 86% *Cyathostomum sl* e 14 a 33% *S. vulgaris*. 100% *Cyathostomum sl* d140 após MOX; 79% *Cyat.* e 21% *S. vulgaris* d140 após IVM. **100% *Cyathostomum sl* L3 no pasto** (França, 1995; Alzieu, Bourdenx, Flochlay, Blond-Riou e Dorchies, 1997);
- 98% *Cyathostomum sl* 1% *S. edentatus* e 1% *Poteriostomum*. 100% *Cyathostomum sl* após IVM/MOX (48 animais, Holanda, 95/96; Boersema, Eysker e Van der Aar, 1998);
- 94,1% *Cyathostomum sl*, 0,4% *G. Capitatus*, 0,7% *Poteriostomum* (Cyathotominae); 1,8% *S. vulgaris*, 2,2% *S. equinus*, 0,2% *S. edentatus* e 0,6% *Triodontophorus* (Strongylinae); 99,9% *Cyathostomum sl* e 0,1% *Poteriostomum* 75d após IVM (30 cavalos 4-20anos desparasitados há mais de 6 meses, Islândia; Palrud, Pedersen e Eydal, 1997);
- 80 a 91% *Cyathostomum sl* 5 a 10% *Triodontophorus*, 1 a 3% *S. vulgaris*, 1 a 2% *S. edentatus*, 2 a 5% *Trichostrongylus*. No pasto no pico de Primavera: 78 a 82%

Cyathostomum sl e 1 a 2% de *S. edentatus* e de *S. vulgaris* (100 poldras 9-11 meses pasto cada ano de 1995 a 1998, desparasitadas e não desparasitadas, Argentina; Fusé, Saumell, Rodriguez e Passucci, 2002);

- >90% *Cyathostomum sl* e <10% *S. vulgaris* e outros, 1 quinta com 79% *Cyathostomum sl* e 21% *S. vulgaris*. 100% *Cyathostomum sl* após desparasitação (excepto em duas quintas com 9 e 3% de outros estrogilos); estudo em 42 quintas na Dinamarca, desparasitação há mais de 6 semanas (Craven, Bjorn, Henriksen, Nansen, Larsen e Lendal, 1998);
- 99,6% *Cyathostomum sl* 0,4% *S. vulgaris* e *O. robustus*, antes da desparasitação (30 éguas da coudelaria de Alter do Chão em 1998; Pais Caeiro, 1999);
- 86 a 96% *Cyathostomum sl*, 3 a 14% *Strongylus spp* (50 animais, África do Sul 98/99; Davies e Schwalbach, 2000);
- 70 a 72% *Cyathostomum sl* e 9% *S. edentatus* e 0,7% *S. vulgaris* em **asininos não desparasitados** na África do Sul. 100% *Cyathostomum sl* após desparasitação (24 burros adultos; Mathee, Krecek, Milne, Bushoff e Guthrie, 2002);
- 100% *Cyathostomum sl* em 12 quintas, 79 a 98% em 5 quintas e coproculturas negativas em 1 quinta (estudo 484 cavalos desparasitados regularmente em 18 quintas Países Baixos: 66% com contagens <100 OPG e quase 80% <500 OPG, 2001; Dopfer, Kerssens, Meijer, Boersema e Eysker, 2004);
- 99,66% de Cyathostominae e 0,34% Strongylinae (adultos identificados e contabilizados após desparasitação em 23 equinos; Madeira De Carvalho, Afonso-Roque e Fazendeiro, 2003);
- 15,6% Strongylinae (10,1% *S. vulgaris*, 0,4% *S. equinus*, 3,05% *S. edentatus*, 2,05% *O. robustus*) e 84,4% Cyathostominae (82,1% *Cyathostomum sensu lato*, 2,3% *Poteriostomum spp*). Abundâncias relativas das várias espécies em 126 amostras de fezes de **cavalos selvagens** do delta do Danúbio, recolhidas entre novembro de 2008 e Abril de 2009 (Cernea, Cernea, Raileanu e Madeira de Carvalho, 2009).

Podemos apreciar um aumento da abundância relativa dos ciatostomíneos nos sistemas de produção em que existe desparasitação frequente (intensiva) e a concomitante diminuição na proporção de larvas infectantes do género *Strongylus*, com a quase total ausência de *S. equinus*. Apesar da variação sazonal na eliminação de ovos pelas diferentes espécies de *Strongylus* (Poynter, 1954) nos estudos epidemiológicos supracitados em que foram feitas médias das contagens mensais ao longo de pelo menos uma estação de pastoreio e não apenas contagens pontuais, essa diminuição também

é patente. Este declínio na população de *S. vulgaris* paralelo ao aumento da de ciatostomíneos foi já notado em 1990 por Herd, sendo também observado por Madeira de Carvalho, Afonso-Roque e Fazendeiro (2003).

Podemos assumir que a utilização dos desparasitantes terá contribuído para a redução da prevalência de *Strongylus spp* por 3 motivos:

- 1) A população adulta é removida do lúmen intestinal na sua totalidade pelos AH (a não ser em caso de resistências) e é uma população reduzida, na ordem das dezenas, máximo centena de parasitas (por contraposição às dezenas ou centenas de milhar de parasitas adultos de ciatostomíneos presentes), pelo que também diminui a contaminação dos pastos e locais de alojamento com L3 infectantes;
- 2) O número de larvas em migração no corpo, população de refúgio juntamente com as larvas do pasto, é também reduzido e menos prevalente, e para que haja nova contaminação ambiental com larvas será necessário que se complete o longo período pré-patente da respectiva espécie (ao passo que os ciatostomíneos apresentam estádios hipobióticos da ordem do milhão, como já vimos, e podem rapidamente substituir os adultos eliminados com a desparasitação);
- 3) A diminuição da contaminação com larvas de *Strongylus* passa a ocorrer durante todos os períodos após a desparasitação, sendo a contaminação ambiental constituída na quase totalidade pelas larvas de ciatostomíneos.

Este processo, ao repetir-se continuamente numa mesma quinta levará invariavelmente a uma diminuição de prevalência e de abundância relativa do *Strongylus spp*, até porque devido ao seu longo período pré-patente a selecção de resistências neste género é menos intensa que nos ciatostomíneos. A ser correcta esta assunção, o quase desaparecimento da espécie *S. equinus* terá explicação difícil, pois acredita-se que tenha um período pré-patente mais curto que *S. edentatus*... a única explicação possível face aos dados que dispomos é a de que naturalmente apresenta prevalências mais baixas que as outras espécies, talvez porque as fêmeas sejam menos fecundas (ainda não está bem esclarecido o seu ciclo biológico).

Um estudo de eficácia da moxidectina realizado em 1998 no País Basco por Dorchies, Ducos de Lahitte, Flochlay e Blond-Riou pode dar-nos algumas pistas adicionais sobre *Strongylus spp*. Os autores constataram à necrópsia que este AH era 99% eficaz contra adultos de *S. vulgaris* mas apenas 12 a 66% contra as L4 e L5 (ineficaz), possibilitando a manutenção da população em refúgio. Já no caso do *S. edentatus* exibia 92% de eficácia contra as L5. Estes dados são interessantes e vão ao encontro do que foi exposto acima, mas temos que ponderar que o estudo foi

feito em animais muito jovens (8 a 10 meses), apesar de terem estado sempre no pasto nas mesmas condições, e que o número de animais era reduzido: 6 no grupo controlo e 6 no grupo de tratamento, pelo que os resultados podem não ter significado estatístico para a população em geral.

Incidência da patologia causada pelas larvas de *S. vulgaris*

Actualmente a patologia provocada por *S. vulgaris* é apenas um achado ocasional à necrópsia face à utilização mundial de AH e à reduzida prevalência de larvas no sistema arterial (as infecções são mais raras e as cargas parasitárias menores).

No entanto é interessante verificar que a presença de infecção não é de modo algum determinante de patologia clínica: um grupo de 50 éguas de 3 anos foi mantido no pasto até aos 5 anos sem administração de qualquer AH e sem que os animais exibissem quaisquer sinais clínicos de parasitismo (Mage, 1996) e um grupo fechado de 10 éguas e um garanhão foram mantidos sem desparasitação de 1979 a 1999 sem sintomas clínicos, assim como os poldros até ao ano de idade, isto apesar de os 92 poldros eutanasiados entre 1988 e 1999 terem revelado à necrópsia de 50 a 150 adultos no intestino e 50 a 400 larvas na Artéria Mesentérica Cranial (Lyons, Tolliver, Collins e Drudge, 2001; Lyons, Tolliver, Collins, Drudge e Granstrom, 1997).

Ciatostomíneos: parasitas ubiqüitários

Como acabámos de constatar, a abundância relativa dos ciatostomíneos em culturas fecais varia actualmente entre 90 e 100%, consoante exista menor ou maior intensidade de utilização de AH e maior ou menor possibilidade de contaminação por L3 de outras espécies, que ocorre essencialmente no pasto. Um estudo de prevalência e abundância de ciatostomíneos foi realizado de 1994 a 1999 numa exploração equina do Ribatejo em diferentes grupos etários e de produção, regularmente desparasitados e com o manejo normal da região (Madeira De Carvalho, Serra, Afonso-Roque e Fazendeiro, 2002; Madeira De Carvalho, Afonso-Roque, Gomes e Fazendeiro, 2007c). Os autores constataram abundâncias relativas de 97% para as éguas de ventre, 90% nos poldros de mama e 98% nos poldros de 1 a 3 anos (todos os grupos em regime de pastoreio). A menor abundância nos poldros de mama pode ser explicada pelo facto de apenas serem desparasitados na altura do desmame. As prevalências de ciatostomíneos avaliadas nas coprologias foram de 90% para as éguas, 72% nos poldros de mama e 79% nos poldros de 1 a 3 anos.

Dos estudos em que foram necropsiados animais para contabilizar a carga parasitária (Anexo V) podemos constatar que todos os animais a partir dos 5 meses apresentam estes parasitas no intestino (Craig, Ludwig e Bowen, 1983; Slocombe, Valenzuela e Lake, 1987) e que poldros com 8-9 meses no Inverno já apresentam muitas larvas enquistadas na mucosa e submucosa intestinais (Poynter, 1954). A existência de cargas variáveis de parasitas no intestino de animais ocorre essencialmente em poldros jovens e parece em larga medida estar relacionada com a intensidade da infecção junto das mães no pasto: a desparasitação das mães diminui da dezena de milhar para o milhar o número de parasitas adultos no intestino dos poldros (Duncan, 1974). A frequência de desparasitação em poldros de ano também condiciona o número de estádios encontrados: num grupo de 6 pónes fêmea de 1 ano, 3 foram desparasitados três vezes durante a estação de pastoreio (Maio a Novembro) e outras 3 apenas uma vez, sendo que à necrópsia o grupo mais desparasitado apresentava 8 vezes menos o número de adultos (3400 vs 27000), 12 vezes menos o número de L4 luminiais (5900 vs 71700) e cerca de um terço das L3 enquistadas, 143000 vs 460000 (Eysker, Boersema, Kooyman e Berghen, 1988). Entre os 10 e os 20 meses de idade a infestação por adultos encontra-se na ordem das dezenas de milhar em animais não desparasitados com o mesmo manejo (Costa, Barbosa, Moraes, Acuña, Rocha, Soares, Paulillo e Sanches, 1998; Dorchies, Ducos de Lahitte, Flochlay e Blond-Riou, 1998) mas tal já não acontece com maneios diferentes e desparasitação que podem reduzir esta carga para a ordem do milhar (Bauer, Cirak, Hermosilla e Okoro, 1998). As disparidades encontradas nas cargas parasitárias totais devem-se possivelmente à

utilização de pequenos números de animais muito jovens: é necessário estudar a infecção nas várias faixas etárias para compreender melhor o fenómeno.

Também no que diz respeito às cargas parasitárias relativas às espécies individuais da subfamília Cyathostominae, elas são muito variáveis no que concerne os parasitas adultos e podem ir da centena à dezena de milhar por espécie em indivíduos diferentes (50 animais nunca desparasitados, Gawor, 1995).

Quanto à prevalência da infecção por ciatostomíneos ela parece ser de 100% com base nos estudos *post mortem* em animais jovens e no estudo de Gawor (1995), pois todos os animais apresentam parasitas luminais e formas enquistadas (ou apenas formas enquistadas no caso de ter ocorrido desparasitação). O estudo de Bucknell, Gasser e Beveridge (1995) com 150 cavalos de várias origens e idades reporta uma prevalência de 95% de larvas enquistadas e de 93% de ciatostomíneos adultos. Um dos quatro grupos etários era de animais com menos de dois anos, o que poderá explicar os resultados obtidos a nível da prevalência de larvas enquistadas, e a maioria dos animais era desparasitada, o que explicará o resultado quanto às formas adultas (além do facto de que os resultados são baseados em amostragens, pelo que infecções baixas podem não ser detectadas).

Existem alguns estudos referentes à prevalência que reportam prevalências inferiores a 100% pelo facto de as coproculturas dos animais serem nulas, mas não devemos assumir esse resultado como ausência de formas parasitárias: a desparasitação elimina as formas adultas mas não as formas enquistadas.

Uma alternativa aos estudos *post mortem* de prevalência poderá ser o estudo coprológico em animais após a desparasitação (Madeira De Carvalho, Afonso-Roque e Fazendeiro, 2003). Neste estudo as amostras fecais são colhidas nos dias de maior eliminação para o AH considerado e é realizada separação e identificação de formas parasitárias adultas. Este tipo estudo fornece resultados equiparáveis aos resultados obtidos à necrópsia, desde que não existam resistências aos AH utilizados.

Apesar das diferenças de prevalência e abundância relativamente ao género *Strongylus*, a infecção por ciatostomíneos apresenta em comum o facto de que a sua presença não implica doença clínica e a carga parasitária total também parece não ser determinante, face às cargas encontradas nos animais assintomáticos dos grupos controlo dos estudos. A título de exemplo, Hunt, Woodward e Morrison (1996) constatam que animais desparasitados com frequência (adultos estabulados com acesso limitado a *paddock*) apresentam contagens altas 4 e 6 semanas após tratamento com AH (3000 a 3500 OPG) sem sinais clínicos associados.

Apresentações clínicas da ciatostominose

Ciatostominose larvar

A primeira descrição da síndrome de ciatostominose larvar foi feita em 1913 por Cuille (*cit in* Paul 1998). Mas o estudo desta síndrome e da sua relevância clínica apenas ocorreu com uma revisão da patogenia da doença por Ogbourne em 1978. A partir de então têm vindo a aparecer de forma crescente na literatura artigos, notas clínicas e resultados de ensaios sobre a ciatostomiose larvar. Como vimos anteriormente, cerca de 40 espécies de ciatostomíneos parasitam o cavalo doméstico e os adultos localizam-se em zonas preferenciais no cólon e no cego, parecendo não haver competição entre as comunidades das várias espécies residentes (Bucknell, Hoste, Gasser e Beveridge, 1996). A quantidade total de parasitas pode ascender a vários milhões, com adultos na ordem da centena de milhar e as formas de EL3 enquistadas na parede intestinal na ordem do milhão (máximo de 3,5 milhões registado por Dowdal *et al*, 2002). Estas larvas enquistadas podem assim permanecer meses ou anos, até que algum mecanismo despolete o seu desenvolvimento e culmine com o rompimento dos quistos pelas L4 e conseqüente emergência no lúmen intestinal. Independentemente do estímulo que leva ao desenvolvimento das EL3, é a emergência síncrona de milhares de larvas enquistadas no lúmen que dá origem aos sinais clínicos que caracterizam a síndrome da ciatostominose larvar. De acordo com Paul (1998), a síndrome aguda típica consiste em:

1. Diarreia profusa (em jacto) de início súbito, persistente ou intermitente;
2. Perda rápida e severa de peso (perda de condição corporal);
3. Apetite e sede normais;
4. Edema subcutâneo dos membros e ventre;
5. Sinais recorrentes de cólica.

Os animais mais acometidos podem ser de todas as idades, mas a incidência é maior em animais jovens e idosos. Os animais acometidos são-no de maneira sazonal (Novembro a Maio nas zonas temperadas) e têm em comum o facto de terem sido desparasitados com regularidade (Paul, 1998). A doença apresenta elevada morbidade e uma mortalidade na ordem dos 50% a 60%: Love e McKeand (1997) apontam a recuperação de 40% dos animais com sinais severos em 2 ou 3 meses após terapia de suporte, terapia com prednisolona e anti-helmínticos.

Paul é da opinião que as alterações climáticas mais favoráveis à sobrevivência dos estádios livres que ocorrem no fim do Inverno e início da Primavera despoletem o desenvolvimento das EL3 e emergência das L4 para o lúmen, o que explicaria o seu aparecimento sazonal.

No que diz respeito ao diagnóstico, este é difícil em vida, sendo indicadores os sinais descritos acima, o aparecimento de larvas nas fezes com contagens negativas para ovos de estrongilídeo e a hipoalbuminémia. Como vimos os ciatostomíneos são considerados causa de diarreia severa, cólica, perda de peso, edema, má absorção e mortalidade, mas Smets, Shaw, Deprez e Vercruyse (1999) consideram que a especificidade desses sinais é fraca, o que juntamente com as contagens fecais baixas ou nulas tornam o diagnóstico difícil. Num estudo realizado em 94 cavalos na Bélgica os autores concluíram que durante o inverno, um animal magro com diarreia deve ser considerado forte suspeito de ciatostomiose, sendo o diagnóstico confirmado pela presença de L4 e adultos nas fezes ao exame macroscópico e/ou hipoalbuminémia (<20g/L). O tratamento da síndrome clínica é sintomático e ineficaz na maioria dos casos (60%).

Já a prevenção é discutível, tanto mais que nenhum dos anti-helmínticos actuais é eficaz contra os estádios enquistados se considerarmos as recomendações da WAVVP e a significância estatística (como será exposto mais adiante). No entanto muitos autores como Paul (1998), apesar de considerarem importantes as medidas higiénicas no pasto, recomendam a utilização de doses larvicidas e ainda desparasitação normal simultânea em animais que se encontrem juntos no pasto. Do mesmo modo, muitos criadores em todo o mundo desparasitam intensamente os seus poldros na esperança de prevenir a síndrome e as perdas associadas, mesmo em quintas onde nunca foi observada ciatostomiose clínica. Em Portugal existem colegas que utilizam a dose dupla de fenbendazole durante 5 dias após terem lido sobre o assunto em artigos científicos ou de revisão... O que, como veremos adiante, não só não é eficaz como leva à selecção de estirpes resistentes de ciatostomíneos e poderá inclusive prejudicar a saúde do animal (a eliminação dos estádios luminais pode despoletar a emergência dos estádios enquistados e dar origem a ciatostomiose clínica).

Outras apresentações clínicas da ciatostomiose

Existe uma outra síndrome que ocorre ao longo da estação de pastoreio e não apresenta sinais clínicos de aparecimento súbito, tal como a diarreia característica da ciatostomiose. Este síndrome é considerado de crescente importância (Paul, 1998) e resulta do enquistamento de grande número de larvas de ciatostomíneo de forma súbita e sem sinais clínicos aparentes que se traduz numa síndrome de emagrecimento progressivo com eventual depressão do animal. Tal como na ciatostomiose larvar, também não há muitas vezes eliminação de ovos de estrongilídeo (contagens nulas). O diagnóstico não é muito fácil porque as eliminações de ovos podem ser nulas ou positivas e os sinais são inespecíficos. Monahan (2000) acrescenta que este emagrecimento ocorre apesar do acesso a boas pastagens e suplementação adicional, descrevendo os sinais inespecíficos encontrados

também na ciatostominose larvar: níveis baixos de albumina e proteínas plasmáticas, com níveis variáveis de fibrinogénio e eventualmente eosinofilia e neutrofilia. O diagnóstico desta forma de Verão da ciatostominose também é complicado devido às contagens baixas decorrentes do tratamento dos animais com AH. À semelhança da ciatostominose larvar esta síndrome ocorre na sua maioria em animais com menos de 6 anos em regime de pastoreio em pastagens contaminadas. O paralelo entre esta síndrome de Verão e a ostertagiose de tipo I dos bovinos é evidente, pois ambas se devem ao enquistamento de grande número de larvas durante a época de pastoreio, geralmente de meados de Julho para a frente, enquanto a ciatostominose larvar é comparável à ostertagiose tipo II, que ocorre no final do Inverno ou no início da Primavera em climas temperados devido à emergência maciça das larvas enquistadas na mucosa (Urquhart *et al*, 1996).

Casos clínicos: pistas sobre a taxa de incidência na população equina

Mair e Cripps (Inglaterra, 1991) observaram 6 casos em 1990 num universo de 49 animais em 5 quintas com desparasitação regular e resistência aos BZD:

- 2 casos de ciatostominose larvar (tipo II): animais de 2 anos com diarreia aguda e perda de peso, muitas larvas nas fezes e hipoalbuminémia (um sobreviveu com 19g/L de albumina e um morreu com 12g/L de albumina);
- 4 casos ciatostominose tipo I: 1 animal de 4 anos, 2 animais de 5 e 1 animal de 7 anos; todos com contagens ovos elevadas (OPG alto 950, 1300, 2700 e 8900) e sem larvas nas fezes; todos com β 1 globulina elevada (11,3 a 12,8g/L); dois com diarreia e perda peso (um com perda aguda e outro com perda crónica) e outros dois com cólica (um aguda e outro moderada e recorrente); todos sobreviveram.

Reid, Mair, Hillyer e Love (Inglaterra, 1995) estudaram 87 casos referenciados de diarreia crónica (com mais de duas semanas) suspeitos ciatostominose larvar e estabeleceram correlações com a informação dos animais. Chegaram à conclusão que animais com diarreia crónica nos meses de Inverno têm 5 vezes mais probabilidade de ter ciatostominose que durante os meses de Verão; que animais com mais de 5 anos têm 6 a 8 vezes menos probabilidade de sofrer de ciatostominose e que a desparasitação com AH nas últimas duas semanas aumenta em 3,5 vezes a probabilidade de diagnóstico de ciatostominose larvar (os autores referem o estudo de Gibson em 1953, que demonstra a repopulação do intestino com formas imaturas de ciatostomíneos após a desparasitação com anti-helmínticos).

Peregrine, McEwan, Bienzle, Koch e Weese (2006) diagnosticaram *post mortem* 24 casos de ciatostominose larvar em Ontário, no Canadá. Os casos ocorreram entre Setembro e Maio e a

maioria entre Outubro e Dezembro (58%). A idade mediana era de 12 meses e a diarreia, cólica e perda de peso eram os sinais clínicos mais frequentes. A microcitose e a hipoalbuminemia (características típicas da perda de sangue por parasitismo em animais jovens) foram achados consistentes. De acordo com os autores a incidência foi de 1 caso de 1991 a 1995, 8 casos de 1996 a 1998 e 8 casos entre 2001 e 2003. Em 19 dos casos a causa primária de doença clínica foi a ciatostomiose mas em 5 os animais apresentavam outras causas. Os autores referem a utilização de regimes larvicidas de fenbendazol ou moxidectina e descrevem o tratamento de suporte. O sobrepastoreio é apontado como uma das causas de elevada infecção a controlar, é recomendada a redução dos tratamentos AH que devem ser estratégicos e é aconselhado o controlo fecal da eficácia dos AH devido à emergência de resistências múltiplas. Os autores consideram a doença como emergente no Canadá e associam-na ao aparecimento de resistências aos AH, embora não saibam se estes dados reflectem um verdadeiro aumento na prevalência da doença.

Pierezan, Rissi, Filho, Lucena, Tochetto, Flores, Rosa e Barros (2009) realizaram um estudo retrospectivo das necrópsias realizadas na universidade Federal de Santa Maria (Rio Grande do Sul, Brasil) entre 1968 e 2007 e num universo de 335 casos encontraram 13 casos de morte por enterite, dos quais 5 eram atribuíveis a enterite granulomatosa associada a ciatostomíneos (ocorridos entre 1999 e 2007). Quatro dos animais tinham menos de 2 anos e um tinha 18 anos. Três casos ocorreram no Inverno e dois em meados do Outono (clima subtropical). Dois dos animais mais jovens foram encontrados mortos no campo e dos outros três todos apresentavam diarreia (com 10 a 14 dias de duração), dois deles emagrecimento, um febre, um taquicardia e um taquipneia. Os autores sublinham que são poucos os casos descritos de enterite por ciatostomíneos no Brasil, onde a afecção é considerada rara.

Considerando que existem cerca de 80000 cavalos no Rio Grande do Sul (Teixeira, 2010) e na província de Ontário (OMAFRA, 2005) e que a estrutura etária é de cerca de 27,5% de poldros entre 6 meses e 5 anos na população (APHIS, 2007), a incidência de casos reportados é baixa no Canadá e no Brasil. No entanto, e face à gravidade dos sintomas, parece ser uma doença emergente nesses países, pois os relatos de síndromes clínicas têm sido mais frequentes na última década, um fenómeno que parece de algum modo ligado ao aparecimento de resistências aos AH.

Um estudo na República Checa (Bodecek, Jahn, Dobesova e Vavrouchova, 2010) que relata a ocorrência de 6 casos entre 1999 e 2006 e outros 6 entre 2007 e 2008, vai ao encontro dos estudos anteriores no que concerne um aparente aumento na incidência da patologia (estes 12 casos de ciatostomiose representam 0,8% dos 1497 casos de patologia gastro-intestinal da Faculdade de Medicina Veterinária em 10 anos). Todos os animais afectados tinham menos de 6 anos de idade e

foram hospitalizados entre Dezembro e Março. Em 7 animais o diagnóstico foi confirmado pela presença de larvas de ciatostomíneo nas fezes e em 5 o diagnóstico foi feito com histopatologia *post mortem*, demonstrando L4 enquistadas. Os sinais clínicos predominantes eram variáveis: 3 animais com diarreia aguda, 1 com diarreia crónica intermitente, 4 animais com cólica, 1 animal com cólica e diarreia e 3 com perda de peso, edema subcutâneo e inapetência. Os resultados da bioquímica sanguínea também eram variáveis e não correlacionados com os sintomas. Os autores concluem que nos casos relatados era possível distinguir as várias formas de ciatostominose mas que a inclusão dos animais num dos tipos não era possível porque alguns dos animais mostraram sinais clínicos variáveis consoante a fase da doença.

Diagnóstico

A sintomatologia associada aos quadros clínicos descritos necessita de uma confirmação objectiva, e essa confirmação tem vindo a ser dada tradicionalmente pelos métodos de análise coprológica microscópica e nomeadamente pelos métodos de contagem de ovos fecais. No entanto, como já foi mencionado, nem sempre há eliminação de ovos durante os episódios clínicos de ciatostominose, pelo que se torna necessário complementar a contagem de ovos com a avaliação de outros parâmetros, como sejam a titulação da albumina sanguínea, por exemplo. A identificação dos ovos dos parasitas permite-nos muitas vezes chegar a um diagnóstico etiológico em parasitologia gastro-intestinal em equinos, pois podemos distinguir bem os ovos de *Parascaris equorum* dos ovos de *Strongyloides sp* e dos dos estrôngilídeos. No entanto a diferenciação morfológica entre os ovos de pequenos estrôngilos e de grandes estrôngilos não é possível (Eydal, 1983; Eydal e Gunnarsson, 1994; Lichtenfels, 2008) pelo que se torna necessário recorrer às coproculturas para diferenciar as larvas infectantes e assim proceder à identificação de alguns géneros e espécies de estrôngilídeos.. Devemos não obstante ter sempre presente que a detecção e quantificação dos parasitas por si só não implica patologia ou doença, dada a ubiquidade da infecção por helmintas gastro-intestinais e nomeadamente por pequenos estrôngilos.

A detecção de ovos de parasitas é muitas vezes utilizada como adjuvante da profilaxia e sobretudo quando há suspeita de resistências aos AH, pois é tradicionalmente considerada uma medida da carga parasitária ou grau de infecção do animal. A eliminação de ovos está logicamente associada à presença de parasitas adultos em actividade reprodutiva, mas não existe no entanto uma correlação estabelecida entre os valores da contagem de ovos com as cargas parasitárias encontradas: podem estar milhares ou milhões de formas enquistadas e as contagens serem baixas. Face ao exposto, e mesmo considerando não existir uma correlação entre o número de ovos e carga parasitária de pequenos estrôngilos, a contagem de ovos fecais permanece uma ferramenta importante de avaliação das estrôngilídeos equinas porque é a única medida simples e económica de avaliação directa de parasitismo que se pode obter num animal vivo. E pesem embora as incertezas sobre o seu significado concreto, se for considerada como uma medida de *stress* fisiológico poderá fornecer-nos importantes indicações face ao manejo do animal, à sua idade e à própria evolução individual das contagens.

Diagnóstico em vida

As técnicas de análise laboratorial no diagnóstico das estrogilidoses equinas são tradicionalmente as ligadas à observação da eliminação de ovos de parasitas nas fezes dos animais por serem as mais simples e as que permitem a detecção da infecção em vida. Seguidamente são descritas as técnicas clássicas segundo Thienpont, Rochette e VanParijs (1986) e também as mais recentes, que poderão constituir a breve trecho novas ferramentas de diagnóstico.

Diagnóstico coprológico

Exame parasitológico macroscópico

Deve-se iniciar o exame macroscópico pela observação a olho nu, pois podem ser observáveis à superfície das fezes exemplares de *O. equi*, arrastados da margem anal durante a defecação. Adicionalmente podem ser recolhidas amostras peri-anais com fita adesiva para detecção de *O. equi*. Também podem ocasionalmente ver-se segmentos ovígeros de ténias (*A. perfoliata*, *A. magna*, *Paranoplocephala mamilliana*) mas dado o seu pequeno tamanho, o ideal será esmagar sobre uma lâmina o material suspeito e observar ao microscópio por forma a identificar os ovos característicos. No interior da massa fecal podemos encontrar os ascarídeos (*P. equorum*), muito prevalentes em animais até ao ano e meio de idade. Também se podem identificar adultos e larvas de ciatostomíneos (L4 e L5), estas últimas ingurgitadas de sangue vivo e facilmente visualisáveis.

Exame parasitológico microscópico (técnicas qualitativas e quantitativas)

O diagnóstico coprológico microscópico inicia-se com a recolha de fezes e preparação das suspensões de matéria fecal. Euzéby (1982) recomenda que recolhamos matéria fecal fresca, seja a recolha intra-rectal ou do chão, mas tendo em consideração que devemos sempre recolher várias porções para posterior homogeneização a seco. Deste homogeneizado é que recolhemos então pequenas porções que vão constituir a amostra a analisar. A suspensão da matéria fecal pode ser feita com vários líquidos de acordo com o procedimento a utilizar: água, água com detergente para a sedimentação, solução de sacarose ou soluções salinas para os métodos de flutuação (as técnicas de sedimentação utilizam-se para ovos mais pesados, como os de céstodes e tremátodes).

A técnica qualitativa mais utilizada para a detecção de ovos de estrogilídeo é a técnica de flutuação (técnica de Willis) em que se utilizam soluções saturadas de sacarose, cloreto de sódio, sulfato de zinco ou iodeto de mercúrio (este último pouco utilizado devido à sua toxicidade). Recentemente

surgiram alguns kits comerciais como o Ovassay[®] Plus, que utilizam o sulfato de zinco para flutuação e podem ser realizados com facilidade e higiene em situações de campo.

Para avaliação quantitativa, a técnica mais utilizada é a de MacMaster, em que uma suspensão de 2g de fezes homogeneizadas em 28 ou 58ml de solução saturada de sacarose ou cloreto de sódio é utilizada para preencher uma lâmina com duas câmaras de contagem, apresentando uma sensibilidade de 50 ovos por grama. As modificações da técnica prendem-se essencialmente com as soluções, diluições e número de câmaras de contagem utilizadas, que podem por isso apresentar sensibilidades superiores (15, 20 ou 25 OPG). A técnica de MacMaster e as suas variações são utilizadas rotineiramente nos estudos de campo analisados, o que nos permite comparar os resultados obtidos com alguma confiança. O kit comercial FecPak[®] (originário da Nova Zelândia) permite a detecção de 20 OPG e tem sido utilizado em programas de desparasitação selectiva em ruminantes levados a cabo em vários países com o apoio da União Europeia face ao aumento de resistências aos anti-parasitários (FecPak International, 2010). Existe também um kit com sensibilidade de 1 OPG (FloTacCell[®]) mas o seu interesse é limitado face aos custos, reservando-se ao diagnóstico de parasitoses de difícil detecção em humanos ou pequenos animais. (É importante notar que rotineiramente se pode fazer uma flutuação após um MacMaster negativo com a suspensão remanescente e detectar ovos com a mesma sensibilidade).

Mes (2003) alerta para a variabilidade de resultados e fraca capacidade de detecção de infecções pela técnica de MacMaster, pois em 87,5% dos casos o método não detecta eliminações inferiores a 20 OPG, em 25% dos casos também não detecta infecções (eliminações) entre 50 e 200 OPG, mas detecta sempre infecções (eliminações) superiores a 500 OPG. O autor discute a utilização de métodos com maior sensibilidade, mas estes são também mais caros e exigem laboratório bem equipado. Assim, podemos concluir que face à difusão mundial da utilização do método de McMaster, à sua facilidade de execução e ao seu baixo custo, e considerando ainda que se assume como eliminação moderada uma eliminação entre 500 e 1000 OPG, o método de McMaster é um método aceitável para avaliar a eliminação individual de ovos de strongilídeos em equinos.

Identificação de larvas infectantes: coproculturas e recolha de erva do pasto

As L3 infectantes podem ser identificadas a partir de coproculturas individuais ou de grupo em que se utiliza geralmente uma quantidade de 10 a 20g de fezes, incubadas durante duas semanas a uma temperatura óptima (entre 20 e 28°C, geralmente 26°C) sempre na presença de humidade relativa alta para evitar a sua dessecação (Mfitildoze e Hutchinson, 1987). Posteriormente são retiradas da estufa, o copo que contem as fezes é preenchido com água e invertido numa placa de Petri com cerca de 1cm de água durante 24 horas, sendo então recolhido o líquido da placa de Petri com as

larvas que migraram das fezes. De um modo geral as coproculturas são feitas de modo semelhante pelos vários autores e os resultados quantitativos e qualitativos comparáveis.

Já a recolha de erva do pasto é feita de várias maneiras por diversos autores, sendo utilizados diferentes métodos de amostragem e de recolha de erva. Apesar destas diferenças, a maioria dos autores apresentam os resultados como número de L3 por Kg de erva seca (cf Anexo IV). A comparação de resultados torna-se um pouco difícil devido à falta de sistematização e é complicada pelos diferentes maneios e contaminações do pasto, mas pode ser uma técnica útil na monitorização das medidas de controlo aplicadas à exploração individual.

Diagnóstico molecular: uma ferramenta de investigação epidemiológica

A identificação precisa dos parasitas envolvidos nas infecções é um factor essencial na compreensão das doenças associadas. No caso da ciatostomiose, em que a patogenia está geralmente associada aos estádios enquistados, a detecção tradicional é feita através dos ovos e das larvas infectantes de 3º estágio, que como vimos não permitem uma identificação ao nível da espécie, com a agravante de nos casos clínicos as contagens serem muitas vezes nulas. Assim, o estudo da epidemiologia das diferentes espécies tem sido feito tradicionalmente através da identificação de adultos à necropsia. Os avanços que ocorreram na biologia molecular aplicada aos estrôngilídeos a partir de 1995 permitiram caracterizar 5 diferentes espécies de estrôngilos em 1999 através da utilização de PCR para as regiões IT1 E IT2 de rDNA dos parasitas em vários estádios, incluindo ovos e larvas (Hung *et al cit in* Hodgkinson, 2006). Estudos subsequentes de sítios alternativos na região IGS do rDNA permitiram avanços no desenho de sondas de oligonucleótidos curtos para 16 espécies diferentes, possibilitando a identificação de ovos, L3 inibidas e L4 (Hodgkinson *et al*, 2001, *cit in* Hodgkinson 2006). Em 2003 começou a ser utilizado um IGS PCR-ELISA para substituir o moroso e dispendioso Southern-blot e a sua aplicação prática teve reflexos rápidos na investigação de duas questões-chave da investigação da ciatostomiose: 1) Identificação das L4 expulsas nas fezes de cavalos com ciatostomiose larvar; 2) Identificação das espécies presentes antes e depois de desparasitação através da análise dos ovos (Hodgkinson *et al*, 2003, *cit in* Hodgkinson 2006). Os estudos de ciatostomiose clínica em 17 animais levados a cabo por Hodgkinson e colaboradores em 2003 revelaram a ausência de associação entre as espécies identificadas e o prognóstico ou a severidade da diarreia e suportam a ideia que na ciatostomiose clínica estão envolvidas várias espécies comuns de ciatostomíneo e não uma única espécie predominante. A hipótese considerada anteriormente de que *C. insigne* fosse particularmente patogénica devido à detecção de grandes números larvas desta espécie encontradas nas fezes

diarreicas de cavalos com ciatostominose larvar (Reynemeyer e Powel, 1986) é assim contrariada por estas descobertas e pelo facto de Hodgkinson *et al* (2003) não terem identificado esta espécie em nenhuma das 522 larvas L4 analisadas. Este facto curioso poderá ser explicado pelo facto de essa espécie ser eventualmente mais sensível aos AH que outras e desde 1986 a sua prevalência e/ou abundância relativas terem sido consequentemente reduzidas. No entanto é difícil avaliar a selecção das diferentes espécies pela acção dos AH visto haver populações díspares em diferentes grupos de animais e nas várias zonas do globo (ver anexo V). A título de exemplo, num estudo de caso no Brasil a prevalência de *C. insigne* é de 100% com uma abundância relativa de 9,7% (Souto Maior, Carvalho Júnior e Barbosa, 2000) e num estudo em França é a 3ª espécie mais prevalente (53%) com uma abundância relativa de 10,1% (Collobert-Laughier, Hoste, Sevin e Dorchies, 2002a). As abundâncias são equiparáveis mas as diferentes prevalências poderão estar relacionadas com o número de animais incluídos no estudo (4 no estudo brasileiro e 42 no estudo francês). Curiosamente, à semelhança do Brasil, também em Portugal a espécie mais prevalente num estudo de Madeira De Carvalho, Afonso-Roque e Fazendeiro (2003) foi o *Cylicocyclus insigne*, com 82,6% de prevalência, e que com as restantes 9 espécies mais prevalentes da subfamília Cyathostominae representava 93,3 % do total de parasitas adultos identificados em amostras coprológicas pós-desparasitação em 21 equinos.

Diagnóstico sorológico: titulação de proteínas do soro

Abbot, Mellor e Love (1997) realizaram electroforese das proteínas do soro (EPS), albumina e proteína total, para estudar a hipótese de que as mesmas poderiam servir para avaliar as cargas de ciatostomíneos em cavalos. Utilizaram uma população de 38 cavalos dividida em 3 grupos de tratamento: M - moxidectina (0,4mg/Kg), P - pamoato de pirantel (19mg/Kg) e F - fenbendazol (7,5mg/Kg). O grupo F demonstrou resistência aos benzimidazóis com os resultados do TRCOF (eficácia muito baixa) e foi considerado pelos autores como grupo controlo. As proteínas do soro não variaram significativamente entre os grupos entre os dias 0 e 80 e os autores concluíram que a EPS é insensível para a monitorização do tratamento de ciatostomíneos em ambiente clínico. Não foi no entanto realizada necrópsia e respectivo teste crítico de controlo, os animais eram desparasitados com frequência e as contagens médias de ovos eram relativamente baixas, na ordem dos 500 OPG. Estes resultados reflectem bem as características da ciatostominose, pois se os desparasitantes com elevada eficácia retiram os adultos e larvas do lúmen intestinal, permanece ainda uma população parasitária muito significativa que são as formas larvares enquistadas na mucosa ou na submucosa e que não são alteradas significativamente pelos AH, como veremos

adiante. Deste ponto de vista é fácil de compreender que em todos os animais durante o estudo esta carga permaneceu e que o impacto da presença de adultos (na ordem dos milhares) não era o suficiente para provocar alterações das proteínas do soro nestes animais, que de resto não apresentavam sinais clínicos de doença gastro-intestinal.

Diagnostico sorológico imunológico: titulação de anticorpos

Dowdal, Matthews, Mair, Murphy, Love e Proudman (2002) estudaram o potencial de dois complexos antigénicos obtidos a partir de larvas enquistadas na mucosa no diagnóstico imunológico da ciatostomiose larvar. Os autores constataram que os ciatostomíneos induzem a produção de IgG(T) específica no início da infecção experimental em pôneis. Foram observadas respostas qualitativas similares no aumento de IgG(T) específico para o antígeno, excepto em dois casos em 18 animais com infecção natural. Dowdal, Proudman, Love, Klei e Matthews (2003) purificaram os antígenos putativos para diagnóstico identificados anteriormente (20 e 25kD) e descreveram a sua purificação e a resposta antígeno específica da IgG(T). Confirmaram a pureza por Western Blot e demonstraram que os epitopos do complexo de 20kD eram específicos da ciatostomiose larvar. Não constataram a existência de reactividade cruzada com os antígenos de *P. equorum* ou *S. westeri*, mas verificaram baixos níveis de reactividade cruzada com *S. vulgaris* e *S. edentatus*. Os resultados do estudo indicam que ambos os complexos antigénicos podem ser úteis no diagnóstico (por ELISA, pe), mas até ao momento não existe teste disponível. (Importa acrescentar que seria no entanto necessário que este teste tivesse significado clínico relevante, pois todos os animais apresentam ciatostomíneos enquistados em maior ou menor grau.)

Hoglund, Ljungstrom, Nilsson e Ugglá (1995) testaram um ELISA com 14 proteínas diferentes do escólex de *A. perfoliata* (o primeiro para céstodes de equinos) em 426 cavalos de matadouro e constataram que a existia uma correlação entre o número de anticorpos no soro e o número de parasitas, assim como com as lesões provocadas pelos mesmos. O teste era específico mas a grande variação de resultados e a falta de conhecimento quanto à persistência das IgG em cavalos infectados leva os autores a concluir que embora não seja sensível para a detecção individual, pode ser uma ferramenta útil na avaliação de grupo e que pode ser usada como ferramenta complementar em testes epidemiológicos (neste estudo sueco constataram aquisição de infecção no Outono e em menor grau na Primavera). No caso das ténias a detecção de ovos é difícil e as prevalências são geralmente estimadas com base em estudos de matadouro, pelo que o teste neste caso se revela de grande importância epidemiológica.

Podemos concluir que apesar dos progressos na detecção de parasitas ou estádios parasitários de difícil detecção em vida com o advento de técnicas de detecção de anticorpos e DNA, ainda não existem testes com sensibilidade e/ou especificidade suficientes para a confirmação do diagnóstico ao nível individual. Apesar desta limitação em clínica, as técnicas sorológicas podem no entanto vir a desempenhar um papel essencial na investigação epidemiológica da ciatostominose, como tem vindo a ocorrer no caso da biologia molecular.

Diagnóstico post mortem

Para determinar as cargas parasitárias efectivas é necessário recorrer à necrópsia dos animais, cujos procedimentos estão sistematizados na segunda edição das *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) Guidelines for Evaluating the Efficacy of Equine Anthelmintics* (Duncan, Abbott, Arundel, Eysker, Klei, Krecek, Lyons, Reinemeyer e Slocombe 2002). As formas luminais de pequenos estrôngilos (essencialmente adultos e L4) são identificadas e quantificadas a partir de amostras do conteúdo intestinal e as formas enquistadas na mucosa e na submucosa são identificadas e quantificadas a partir de amostras da parede intestinal.

Quantificação de larvas enquistadas pelos métodos de iluminação transmural (TMI) e de digestão (DIG)

A DIG e a TMI são as técnicas utilizadas actualmente para averiguar a eficácia de AH em estádios larvares dos ciatostomíneos na parede intestinal (Duncan, Abbott, Arundel, Eysker, Klei, Krecek, Lyons, Reinemeyer e Slocombe, 2002). Os autores recomendam que as amostras recolhidas à necrópsia devem ser examinadas e registado o número de larvas de cada estádio. As EL3 mais pequenas apenas são enumeráveis com a digestão péptica e as LL3 e L4 são visíveis e enumeráveis com a transiluminação da mucosa com uma fonte de luz forte. Estas últimas também podem ser recuperadas depois da digestão, embora com algumas perdas. Apesar disso, como é uma técnica mais eficiente e rápida, a digestão é usada como método único em muitos laboratórios. Chapman, Kearney e Klei (1999) comparam os métodos de enumeração de larvas (DIG e TMI) e de conservação de tecido intestinal para o efeito, e concluíram que o tecido pode ser conservado a -20°C sem prejudicar a enumeração por TMI e sem reduzir significativamente as contagens obtidas por DIG. A TMI é interessante quando os números de parasitas são baixos ao permitir uma análise mais rápida e económica de maiores áreas de tecido, mas a DIG enumera os vários estádios enquistados com maior diferenciação e exactidão. Os autores acrescentam que se pode poupar

tempo sem prejudicar a exactidão com o armazenamento das larvas resultantes da DIG em formalina tamponada ou em etanol-glicerina.

Alguns autores utilizam ambos os métodos simultaneamente, mas preferem geralmente as contagens mais elevadas resultantes da DIG (Bairden, Brown, McGoldrick, Parker e Talty, 2001). Dos 55 estudos em que são utilizados diferentes métodos de diagnóstico (Anexo V) apenas em 8 são enumerados os números de larvas enquistadas na mucosa, sendo o estudo de Eysker, Boersema, Kooyman e Bergen (1988) o mais antigo.

Resultados práticos dos estudos *post mortem*

1) As cargas parasitárias totais não estão relacionadas com as contagens fecais de ovos e parecem ser em larga medida dependentes do nível de contaminação a que os animais estão expostos.

Bairden, Brown, McGoldrick, Parker e Talty (2001) estudaram as cargas parasitárias em 18 pôneis de diferentes origens com 12 a 18 meses de idade em regime de pastoreio submetidos a um tratamento com moxidectina (ou placebo) no início do estudo, sendo os animais eutanasiados 8 semanas depois. Os animais apresentavam eliminações baixas à altura da eutanásia (média geométrica abaixo de 200 OPG). No grupo controlo (placebo) foram observados 1300 a 10100 adultos, 100 a 1200 L4, 14000 a 766000 EL3, 1300 a 48700 outras larvas, num total de 18700 a 825900 parasitas dentro do mesmo grupo animais. No grupo da moxidectina 0 adultos, 0 L4, 2900 a 24600 EL3 e 200 a 400 outras larvas. Não foi estabelecida pelos autores correlação entre a eliminação de ovos e a carga parasitária individual, e embora possamos inferir que a maioria dos animais tem uma eliminação de ovos baixa dada a média geométrica das contagens de ovos, verificamos que individualmente apresentam cargas parasitárias muito variáveis (significativamente diferentes dentro do mesmo grupo) e sem que seja perceptível qualquer relação entre o número de adultos, de L4, de EL3 e de outros estádios larvares.

Collobert-Laugier, Hoste, Sevin, Chartier e Dorchie (2002) constataram que não havia diferença significativa entre grupos etários quanto à carga parasitária (larvas, adultos e total) num grupo de 42 animais de matadouro divididos em 3 faixas etárias: 6 a 24 meses, 2 a 10 anos e animais com mais de 10 anos. Estes resultados são interessantes apesar de não serem mencionadas as eliminações de ovos, pois sabemos que existem diferenças significativas na eliminação relacionadas com a idade: adultos de 5 a 6 anos apresentam menor eliminação de ovos que poldros de 19 a 31 meses (Caeiro, 1998). O estudo de Eydal (1983) vem contrariar os achados de matadouro de Collobert-Laugier *et al* (2002) ao analisar 10 poldros de 6 meses submetidos a manejo idêntico e infecção natural no

pasto, que apresentavam com carga parasitária de ciatostomíneos adultos significativamente inferior à dos 8 adultos que com eles pastavam (200 a 2340 parasitas adultos nos poldros e 25200 a 139050 parasitas adultos nas éguas e nos machos castrados) e constata também que embora haja uma maior eliminação por parte de animais com maior carga parasitária, sobretudo nos poldros e nas éguas, nos machos castrados aquele com menor contagem de ovos era o que tinha maior carga parasitaria. Mais um exemplo da não correlação da eliminação com a carga parasitária, neste caso de parasitas adultos. Estes achados vão ao encontro dos de Slocombe, Valenzuela e Lake (1987) numa população não desparasitada de 42 animais em pastoreio, em que à necrópsia 2 poldros de 4 meses não apresentavam parasitas no intestino grosso e 1 poldro aos 6,5 meses já apresentava cerca de 17000 ciatostomíneos adultos no intestino (eutanasiado 2,5 meses depois dos outros e depois da altura de maior contaminação do pasto por L3). Parece existir portanto uma influência da idade e do nível de infecção do pasto resultante da eliminação de ovos nas fezes das mães no estabelecimento e intensidade de infecções por ciatostomíneos nos poldros jovens. Por outro lado a desparasitação regular de animais desde a mais tenra idade pode também interferir neste processo e poderá explicar as disparidades nas cargas parasitárias encontradas nas várias faixas etárias e diferentes condições de manejo dos estudos existentes.

Apesar das conclusões dos estudos mais recentes, é de notar que já em 1974 Duncan tinha verificado que a eliminação de ovos (OPG) não podia ser utilizada para estimar as cargas parasitárias presentes nos animais, e no entanto vemos ainda em muitos estudos actuais em vida as referências ao “*nível de infecção*” quando deveria ser referido o “*nível de eliminação*”...

2) Distribuição padronizada da população de pequenos estrôngilos no intestino

Parece haver uma distribuição padronizada dos parasitas adultos no intestino, com preferência pelo cólon ventral onde se encontram cerca de dois terços da carga total, encontrando-se a restante no cólon dorsal e no ceco (Eydal 1983; Gawor, 1995). Em poldros de 6 meses a maioria dos adultos localiza-se no cólon ventral (Eydal, 1983). Um estudo realizado em 21 cavalos de matadouro em Portugal revelou a presença de 22 espécies de ciatostomíneos e 6 de estrongilíneos que apresentaram distribuição preferencial de acordo com os parasitas adultos da espécie considerada (Madeira De Carvalho, Afonso-Roque e Carvalho-Varela, 2004). As espécies *Strongylus vulgaris*, *Coronocyclus coronatus*, *Cylicocyclus elongatus*, *Cylicostephanus calicatus* e *Petrovinema poculatum* encontravam-se na sua maioria no ceco, outras espécies como *S. edentatus*, *Triodontophorus brevicauda*, *T. serratus*, *Coronocyclus labratus*, *Cylicocyclus ashworthi*, *C. nassatus*, *C. radiatus*, *Cylicostephanus minutus* e *Gyalocephalus capitatus*, preferiam o cólon

ventral. *Cylicocyclus insigne*, *Cylicostephanus goldi* e *C. longibursatus* exibiam nítida preferência pelo cólon dorsal.

Infelizmente não existem ainda estudos suficientes para podermos tirar conclusões acerca das distribuições das várias espécies em zonas específicas do intestino, mas será interessante averiguar a dinâmica da distribuição e das relações interespecíficas face aos resultados apresentados.

3) Predomínio de fêmeas nas formas parasitárias adultas de estrogilídeos

Um estudo de Bello e Laningham (1994) em 10 animais de várias idades mostrou proporções superiores de fêmeas: 42% machos e 58% fêmeas de *S. vulgaris*, de 44,6% machos e 55,4% de fêmeas de *S. edentatus* e de 44,2% machos e 55,8% de fêmeas de ciatostomíneos. Os resultados obtidos por Eydal (1983) em 10 poldros de 6 meses e 8 adultos eram semelhantes: 57,3% ciatostomíneos fêmeas. Este ligeiro predomínio de fêmeas sobre machos na população parasitaria residente de ciatostomíneos é interessante mas será um fenómeno eventualmente comparável ao de muitas outras espécies de animais. Como não sabemos se nascem mais machos ou se estes também morrem mais cedo, apenas podemos considerar que se trata de um fenómeno de equilíbrio da população residente.

4) Variação da composição das populações parasitárias em diferentes zonas geográficas

Da análise dos vários estudos do Anexo V podemos concluir que independentemente da localização geográfica e do tipo de clima, *Cyathostomum catinatum*, *Cylicocyclus nassatus* e *Cylicostephanus longibursatus* encontram-se sempre entre as 5 espécies mais prevalentes, o que vai ao encontro de uma revisão recente (Corning, 2009). A maioria dos animais encontra-se infectado por várias espécies e as interações entre as mesmas são pouco conhecidas, como já foi referido.

Madeira De Carvalho, Afonso-Roque e Fazendeiro (2003) identificaram 24 espécies em coprologia após desparasitações em equinos. 20 pertenciam à subfamília *Cyathostominae* e 4 à subfamília *Strongylinae*, encontrando-se em média 7,6 espécies/hospedeiro (mínimo 1 e máximo 17). As 10 espécies mais prevalentes de ciatostomíneo encontradas foram: *Cylicocyclus insigne* (82,6%), *Cylicocyclus nassatus* (73,9), *Cyathostomum catinatum* (60,9), *Cylicostephanus longibursatus* (56,5), *Cylicocyclus asworthi* (52,2), *Cyathostomum pateratum* (47,8), *Cylicostephanus calicatus* (47,8), *Coronocyclus coronatus* (34,8), *Cylicocyclus leptostomum* (34,8), *Coronocyclus labiatus*. Estes achados estão de acordo com o referido por Ogbourne (1978), Reinemeyer (1986) e Tolliver (2000), bem como com a revisão de Corning (2009).

A população de ciatostomíneos é a população parasitária mais prevalente e abundante em animais com mais de 6 meses, embora no estudo de Eydal (1983) seja patente uma espécie com maior abundância: a *Probstmayria vivípara*, com cerca de 1 milhão de parasitas adultos nos poldros e 13 milhões em cavalos adultos, sem qualquer sintoma clínico associado. Smith em 1979 descreve a ocorrência deste parasita na América do Norte e refere que o local de eleição do parasita é o ceco e o cólon ventral direito, transmitindo-se através das fezes. Acrescenta ainda que os animais não exibem quaisquer sinais clínicos associados e que aparentemente alguns animais perdem espontaneamente a carga parasitária. Este parasita não é referido em mais nenhum dos estudos analisados, embora segundo Urquhart *et al* (1998) seja prevalente a nível mundial com excepção de alguma zonas da Europa ocidental. Também não volta a ser referido em estudos realizados na Islândia. Não deixa de ser um facto curioso, que nos poderá levar a considerar quase extinto este parasita perpétuo (sem população em refúgio) possivelmente devido à utilização generalizada de AH a nível mundial. Seria interessante averiguar até que ponto não teria este parasita benigno um papel protector da mucosa intestinal através da competição com os adultos de ciatostomíneos e se a sua “erradicação” química terá de algum modo contribuído para os desequilíbrios que conduziram ao aparecimento das síndromes de ciatostominose clínica em animais jovens.

Profilaxia e tratamento

Geralmente quando se abordam as questões relacionadas com a infecção parasitária, fala-se geralmente de “quimioprofilaxia” recorrendo a compostos anti-parasitários de síntese (vulgo desparasitantes). Também no tratamento a quimioterapia com anti-parasitários é parte essencial, aliada às várias medidas de tratamento de suporte. No entanto ocorre com frequência uma sobreposição entre profilaxia e tratamento, pois muitas vezes é efectuada pelos clínicos uma quimioprofilaxia inadequada com as dosagens e compostos que deveriam ser reservados a situações muito específicas em que há um quadro clínico associado e não à generalidade dos animais assintomáticos. Este é um dos procedimentos que pode estar na origem de casos de resistências aos anti-helmínticos, assim como o uso indiscriminado por parte dos criadores de vários compostos sem respeitar quaisquer tipos de indicações terapêuticas (como veremos adiante). Esta abordagem de controlo recorrendo exclusivamente aos anti-parasitários químicos é a mais comum do ponto de vista clínico, mas será importante focar todas as medidas complementares e alternativas. Assim, passamos a expor os vários meios que têm vindo a ser utilizados na prevenção e controlo das infecções parasitárias em equinos. É de notar que na realidade a desparasitação não previne infecção futura nem necessariamente evita os quadros clínicos já descritos, embora contribua para uma diminuição da carga parasitária adulta, o que juntamente com outras medidas de manejo poderá melhorar os índices de saúde e evitar casos mais graves de parasitismo associados às condições modernas de criação.

Breve cronologia da utilização dos anti-parasitários modernos

O primeiro AP moderno foi o dissulfureto de carbono, cuja eficácia contra os “bernes” (*Gasterophilus* spp) e ascarídeos foi demonstrada por Hall em 1917 com a realização do primeiro teste crítico: foi realizada a recolha dos parasitas eliminados nas fezes e a contagem dos parasitas remanescentes à necrópsia. Desde o início do século XX e até à actualidade foram introduzidos no mercado cerca de 25 compostos pertencentes a meia dúzia de classes de AH. Depois do dissulfureto de carbono não existiram novos compostos AP até aos anos 40 com a descoberta da fenotiazina.

Nos anos 50 surgiu a piperazina, nos anos 60 e 70 os organosfosforados (triclorfon nos anos 60 e diclorvos nos anos 70), os benzimidazóis, o levamisole e o pirantel nos anos 70, e as lactonas macrocíclicas nos anos 80 com a ivermectina e anos 90 com a moxidectina (Lyons, Tolliver e Drudge. 1999). Em Portugal podemos considerar um desfazamento de cerca de 10 anos relativamente à comercialização e ao uso dos compostos, mas face à inexistência de novas moléculas anti-parasitárias desde o aparecimento das lactonas macrocíclicas, estamos actualmente a utilizar os mesmos compostos que se utilizam a nível mundial (Martins, Sousa e Madeira De Carvalho, 2007; Martins e Madeira De Carvalho, 2007a).

Principais grupos de anti-parasitários comercializados e seus mecanismos de acção

Mecanismos de acção e farmacocinética revistos por Lyons, Tolliver e Drudge (1999) e características de utilização em Portugal segundo Martins *et al* (2007 e 2007a) e dados pessoais.

Avermectinas-milbemicinas (Lactonas Macrocíclicas – LM)

Os compostos deste grupo comercializados em Portugal são a ivermectina (IVM), a moxidectina (MOX) e a doramectina (DRM, Dectomax[®]), sendo esta última usada *off label* em equinos (apenas está licenciada para uso em ruminantes e suínos). As duas primeiras são comercializadas sob a forma de pasta oral para equinos: Eqvalan[®], Noromectin[®] (IVM), Equimax[®] e Eqvalan Duo[®] (IVM e praziquantel), Equest[®] (MOX) e Equest Pramox[®] (MOX e praziquantel). No entanto com a difusão das vendas *online* a preços convidativos, é possível que sejam utilizadas mais formas comerciais a intensidade do uso aumente (Borges, 2008, dados pessoais). A ivermectina injectável para bovinos (Ivomec[®] injectável) é também utilizada *off label* em equinos, injectada via SC ou *per os*.

As LM aumentam a permeabilidade da membrana do parasita a iões cloro possivelmente devido a um mecanismo de canal associado ao glutamato, rompendo a condução nervosa no parasita. Martin, Murray, Robertson, Bjorn e Sangster (1998) concluem que dois dos maiores grupos de AH, as ivermectinas e os agentes nicotínicos, exercem os seus efeitos em canais iónicos de membrana em nemátodes. Através de estudos electrofisiológicos os autores observaram as propriedades dos canais e alterações dos mesmos em nemátodes resistentes. Concluíram que os receptores destes dois grupos de AH podem não ser homogéneos e que a IVM poderá ter múltiplos locais de acção. Considerando que são vários os genes recessivos independentes responsáveis pela produção dos vários subtipos de receptores, os autores concluem que a probabilidade de desenvolvimento de resistência será menor em anti-helmínticos com múltiplos locais de acção.

As LM apresentam grandes volumes de distribuição, persistência prolongada no organismo e são lipofílicas, característica que pode alterar a sua distribuição conforme a via de administração: a distribuição a partir da injeção sub-cutânea é mais lenta que pela via oral e persiste mais tempo no organismo. Pérez, Cabezas, Garcia, Rubilar, Sutra, Galtier e Alvinerie (1999) estudaram os perfis farmacocinéticos das formas comerciais de ivermectina (Equivalan[®], 2,2mg/Kg) e moxidectina (Equest[®], 4,4mg/Kg). Ambas exibem padrões semelhantes de absorção, com concentrações plasmáticas máximas e meia-vida de absorção semelhantes. No entanto, os tempos de permanência plasmática da moxidectina (MOX) são significativamente superiores aos da ivermectina (18,4±4,4 dias para a MOX e 4,8±0,6dias para a IVM) e a detecção das moléculas no plasma ocorre até 30 dias (IVM) ou 75 dias (MOX). Os autores concluem que a maior permanência plasmática da MOX, bem como a concentração mais elevada, pode explicar o efeito anti-helmíntico mais prolongado. Estudos dos perfis de eliminação fecal da IVM e da MOX no mesmo grupo de animais seguem o mesmo padrão (Pérez, Cabezas, Sutra, Galtier e Alvinerie, 2001). Para ambas as drogas a concentração máxima nas fezes foi atingida aos 2,5 dias pós-administração mas a MOX é detectada até 75 dias pós-administração, ao passo que a IVM é detectada durante apenas 40 dias. Os autores concluem que a MOX sofre uma maior metabolização que a IVM, sendo a diferença de persistência explicada pela biodisponibilidade (a MOX será mais lipofílica e a sua transferência para o plasma mais lenta).

Pró-Benzimidazóis e Benzimidazóis (BZD)

Os pró-benzimidazóis e benzimidazóis não são comercializados para cavalos em Portugal com excepção da utilização da forma líquida para bovinos e equinos (Panacur 10%[®] bovinos e equinos, febendazol), situação que ocorre devido ao seu baixo custo. No inquérito de Martins *et al* (2007) apenas 1% dos proprietários assume utilizar BZDs. Estes dados vão ao encontro dos de Dorn, Meijer, Smets e Vercruyssen (2000) que apontam os BZD como principais AH utilizados nos anos 70 e 80, sendo substituídos nos anos 90 pela IVM e pelo PIR. Foi detectado o uso pontual em poldros de quintas de criação com protocolo larvicida de cinco dias (dados pessoais, 2008).

Os pró-BZDs, dos quais se destaca o febantel, são metabolizados e transformados em carbamatos, BZDs e outros metabolitos sulfóxido com actividade AH, e as diferenças de eficácia estarão possivelmente ligadas à sua biodisponibilidade e farmacocinética. Os BZDs ligam-se à tubulina e impedem a formação de microtúbulos, responsáveis pela distribuição de enzimas ou grânulos secretórios com a consequente lise celular (que ocorre nas células intestinais do parasita, conduzindo a má absorção e morte).

Os benzimidazóis são insolúveis em água, pelo que não podem ser administrados por via parenteral. São administrados geralmente como suspensões, a sua absorção é limitada e o efeito condicionado pela velocidade do trânsito GI, embora nalguns compostos ocorra durante mais tempo: o tiabendazol (TBZ) é detectado no plasma de ovelhas 15 a 20 horas após administração oral, e o febendazol (FBZ) e o oxbendazol (OBZ) é detectado durante 120 a 180 horas, pensando-se que os nemátodes estarão expostos ao AH durante esse tempo. Para além das características de solubilidade e absorção dos compostos, os processos metabólicos do hospedeiro são igualmente importantes: nas cabras e nas vacas a maior capacidade oxidativa provoca uma sulfonação e sulfoxidação mais rápidas que inactivam os AH comparativamente às ovelhas, o que leva à recomendação de uma maior dosagem naquelas espécies.

Tetrahidropirimidinas

Em Portugal o pamoato de pirantel é o sal comercializado em pasta para equinos (Strongid[®] pasta) e é utilizado por cerca de 21% dos proprietários (por contraposição a 78% que utilizam as LM). Não existe o modo de administração diária que é utilizada nos EUA sob a forma de tartarato de pirantel (Strongid[®]C, da Pfizer).

O morantel (MOR) e o pirantel (PIR) são agonistas colinérgicos em nemátodes e céstodes, provocando paralisia e consequente expulsão dos parasitas. Os sais de tartarato destes compostos são altamente polares e por isso pouco absorvidos no tracto GI, sendo a maioria do AH excretado sem alteração nas fezes, sendo os outros sais parcialmente absorvidos.

Fenotiazina e Piperazina

A fenotiazina (FTZ) é utilizada desde a década de 40 para o controlo das estrogilidoses em ovinos, bovinos, equinos e aves, e o seu mecanismo de acção não está bem esclarecido. O medicamento sofre sulfoxidação intestinal, é oxidado no fígado e excretado na urina. Após a utilização os animais podem apresentar fotossensibilidade e queratite, assim como excretar urina e leite de cor castanha avermelhada (Spinoza, Górnjak e Bernardi, 1999), efeitos secundários que fizeram com que este anti-parasitário caísse em desuso com o aparecimento dos benzimidazóis e sobretudo das avermectinas-milbemicinas.

A piperazina (PIP) possui actividade em ascaridoses e oxiuroses em animais domésticos, através da interferência na actividade neuromuscular do parasita ao promover a abertura dos canais de cloro ligados aos receptores GABA das células musculares (origina paralisia flácida). Uma vez que a maior parte da dose absorvida é eliminada na urina após 24 horas, não ocorre acumulação nos

tecidos e pode ser utilizada diariamente com a alimentação. Os efeitos tóxicos eventuais ocorrem uma a duas horas depois da administração: em doses altas provoca irritação gástrica, podendo provocar vômitos (excepto no cavalo, que pela estrutura muscular constritora em volta do cárdia não pode vomitar) e dor abdominal, podendo-se ainda observar diarreia ou timpanismo nalguns animais. Adicionalmente, não é recomendado o seu uso em animais com doença neurológica e disfunção renal ou hepática (Spinoza, Górnaiak e Bernardi, 1999).

A piperazina é vendida nos EUA (informação em drugs.com) mas na Europa não é geralmente encontrada (embora como já foi referido, as compras online possam hoje em dia ultrapassar essas barreiras).

Organofosforados

O diclorvos e o triclorfon não são comercializados em Portugal para cavalos, embora sejam vendidos nos EUA em combinação com benzimidazóis.

Os organofosforados são inibidores da enzima acetilcolinesterase absorvidos rapidamente após administração oral, sendo metabolizados no fígado e excretados na urina. Dadas as suas características, a sua margem de segurança é reduzida. Como podem ocorrer facilmente sinais clínicos de intoxicação no hospedeiro, estes compostos são muito pouco utilizados actualmente. A continuação da sua venda nos EUA possivelmente é consequência do advento de resistências múltiplas aos BZDs e IVM, pelo que os organofosforados em combinação com BZDs poderão aumentar a eficácia dos últimos sem atingir tão facilmente doses tóxicas dos primeiros.

Outros compostos

As salicilanilidas, os compostos nitrofenólicos e o clorsulon são compostos utilizados contra tremátodes, nomeadamente *F. hepática*, que não é um problema prevalente em equinos em Portugal (não há casos descritos de patologia hepática associada ao parasita).

O praziquantel é utilizado em combinação com a ivermectina contra céstodes (Equimax[®], Eqvalan Duo[®], Equest[®] Pramox).

Programas de desparasitação

Desparasitação Estratégica

O objectivo primordial da desparasitação estratégica é evitar a contaminação do pasto com grandes cargas de L3 infectantes e a consequente infecção dos animais com elevadas cargas de ciatostomíneos enquistados na mucosa, tendo em conta a altura de maior transmissão de acordo

com as condições climáticas (Madeira de Carvalho, 2002; Demeulenaere, Vercruyse, Dorny e Claerebout, 1997). No entanto, pese embora a maioria dos autores considere os períodos de maior transmissão para a desparasitação de tipo estratégico, preconizam no entanto uma desparasitação estratégica de tipo supressivo, por forma a promover contagens nulas ou muito baixas nos animais, utilizando o período de reaparecimento de ovos nas fezes (PRO) como referência para o intervalo de desparasitação durante as épocas de maior excreção para evitar a contaminação do pasto:

- 1985 – Courtney e Asquith advocam a desparasitação estratégica no Outono/Inverno por ser a altura de maior transmissão larvar no pasto em clima subtropical húmido, mas recomendam a desparasitação mensal de Setembro a Março com os desparasitantes convencionais e bimensal com ivermectina;
- 1994 – Muñoz, García-Perez, Povedano e Juste recomendam desparasitação estratégica com ivermectina oral a cada 8 a 10 semanas para evitar a contaminação do pasto (PRO determinado pelos autores inferior a 8 semanas);
- 1997 – Também Dorchie, Clement, Mazaud, Flochlay e Blond-Riou após determinação do PRO da MOX e do PIR advocam 1 tratamento com MOX a cada 6 meses em vez de 3 tratamentos de 3 em 3 meses com PIR por ano devido à menor eliminação de ovos com a MOX;
- 1998 – Boersema, Eysker e van der Aar são da opinião que prevenção das estrogilidoses é conseguida através do tratamento estratégico baseado no PRO do AH utilizado.

Há no entanto autores que são contra a utilização de tratamento supressivo por acreditarem que pode acelerar o fenómeno do aparecimento de resistências aos AH. Fusé, Saumell, Rodriguez e Passucci (2002) no estudo já referido de 3 anos com 300 poldras de 9-11 meses no pasto, concluem que uma desparasitação estratégica com ivermectina quatro vezes ao ano produz resultados comparáveis à desparasitação sistemática mensal (supressiva) e considera os dados epidemiológicos como parâmetros válidos para o estabelecimento de programas anti-helmínticos. Os dados considerados pelos autores são o período pré-patente das espécies de interesse, a evolução da eliminação de ovos e da contaminação do pasto por L3.

Do que foi exposto será sensato assumir que a desparasitação estratégica com base na biologia e epidemiologia dos parasitas pode ser mais uma ferramenta no controlo do parasitismo por estrôngilos em equídeos, conquanto sirva o propósito de evitar cargas excessivas de L3 infectantes no pasto e consequentemente reduzir o número de larvas migratórias de *Strongylus spp* as cargas de ciatostomíneos enquistados na mucosa intestinal, sobretudo em animais jovens que ainda não adquiriram imunidade à infecção. Não deve no entanto ser utilizada de forma supressiva, pois não

só poderá levar ao aparecimento mais célere de resistências aos AH, através da selecção parasitas resistentes e consequente contaminação do pasto com os mesmos, como poderá levar ao estabelecimento de cargas excessivas em animais não imunizados (podendo o parasitismo subclínico dar lugar a patologia clínica grave).

Desparasitação selectiva (targeted deworming)

A desparasitação selectiva consiste na desparasitação dos animais de um grupo que eliminem ovos acima de determinado limiar. Os primeiros estudos surgiram na década de noventa, fruto da procura de estratégias alternativas para evitar ou retardar o aparecimento de resistências aos anti-parasitários. Hunt, Woodward e Morrison (1996) preconizam o controlo individual face à desparasitação sistemática a cada 4 ou 8 semanas, mas para estes autores o motivo era económico. Lloyd, Smith, Connan, Hatcher, Hedges, Humphrey e Jones (2000) advogaram o uso da desparasitação selectiva com rotação lenta de AH como forma de evitar ou atrasar o aparecimento de resistências, mas recomendam a desparasitação em Janeiro/Fevereiro para evitar a contaminação do pasto e as desparasitações subsequentes quando o animal ultrapassa o limiar de 100 ou 200 OPG e consideram este método economicamente vantajoso face à rotação rápida e uso frequente. Mathee e McGeoch (2004) avaliaram a eficácia da terapêutica selectiva com limiares de 100 a 300 OPG em quintas com uso intenso de AH a cada 4, 8 ou 12 semanas e verificaram que o número de desparasitações realizado diminuiu em 50 a 76%, com a vantagem de permitir o refúgio de larvas susceptíveis na população não desparasitada. Little, Flowers, Hammerberg e Gardner (2003) fizeram um estudo de desparasitação selectiva de uma coudelaria da Carolina Norte dos EUA que tinha anteriormente um programa AH de rápida rotação (febendazole, pirantel e ivermectina) a cada 8 semanas durante 9 anos. Os ciatostomíneos apresentavam uma abundância relativa de 100% nas coprologias e havia evidência de resistências ao FBZ e ao PIR a partir dos resultados da TRCOF dos animais. Ainda era feita desparasitação adicional com IVM e quarentena das éguas à chegada. Durante o estudo de 4 anos existiam 17 a 22 éguas e 7 a 13 poldros em cada ano na quinta e eram mantidos em elevada densidade no pasto, pelo que não foram efectuadas medidas de higiene. Os autores efectuaram um controlo selectivo dos animais, desparasitando com IVM quando $OPG > 100$ nos poldros com menos de 2 anos e quando $OPG > 200$ nos animais com mais de 2 anos. Adicionalmente as éguas eram desparasitadas 4 d pós-parto para evitar a transmissão de *S. westeri* e os poldros às 8-12 semanas para evitar problemas com *P. equorum*. Todos os animais eram tratados pelo menos uma vez por ano com pamoato de pirantel em dose dupla para os céstodes. A monitorização realizada era mensal ou bi-mensal. Os picos de ovos ocorreram em Maio e Julho nos

poldros com máximo de 5000 OPG e nas éguas os valores andaram sempre abaixo dos 600 OPG no esquema de rotação rápida e apesar disso não foi observada doença clínica nos poldros. Os autores advogaram com base nos resultados a rotação lenta num sistema selectivo, onde se consegue controlar o problema de resistência múltipla e poupar entre 10 a 25% nos custos totais, associados a menor frequência de desparasitação (87% redução nas éguas e 53% nos poldros) e menor incidência de cólica. Dopfer, Kerssens, Meijer, Boersema e Eysker (Holanda, 2004) estudam a consistência de eliminação em 484 cavalos não desparasitados durante 6 semanas, mas fazem apenas 2 recolhas em cada animal e consideram *high shedder* quando $OPG > 100$. Apesar deste limiar muito baixo, os autores consideram que há animais que mantêm baixas eliminações e que podem ser usados como animais não desparasitados num esquema selectivo como forma de evitar o aparecimento de resistências aos AH. Nielsen, Haaning e Olsen (Suécia, 2006) estudaram a consistência da eliminação fecal (*shedding consistency*) em 424 cavalos de várias faixas etárias de 10 quintas em que foi efectuada desparasitação selectiva com limiares de 200 OPG, considerando *high shedder* um animal acima desse limiar. Eysker, Bakker, van den Berg, van Doorn e Ploeger (2008) estudaram a utilização da amostragem por grupos etários na monitorização do controlo parasitário e concluíram : 1) que havia uma correlação entre os valores das amostras e o valor do OPG médio do grupo etário – 1 ano, 2 anos, 3 anos e adultos; 2) que poldros de 1 ano e 2 anos apresentam aumento mais rápido de OPG pós-tratamento que animais mais velhos – poldros com $OPG > 200$ antes do PRO típico de 56 dias para a IVM; 3) que animais adultos desparasitados com um limiar de 100 OPG não necessitam de nova desparasitação com IVM até 3,5 meses depois (duração do estudo). Os autores concluem que nos poldros o tratamento é inevitável dentro do PRO da IVM mesmo sem monitorização e que nos adultos é aconselhável monitorizar também individualmente para detectar os altos eliminadores (*high shedders*). No entanto o limiar usado no estudo foi de 100 OPG e o *high shedder* detectado às 14 semanas tinha contagem de 250 OPG. Também Traversa, Von Samson-Himmelstjerna, Demeler, Milillo, Schurmann, Barnes, Otranto, Perrucci, Frangipane Di Regalbono, Beraldo, Boeckh e Cobb (2009) advogam uso de tratamento selectivo face ao aumento de resistências na Europa mas consideram um animal *high-shedder* quando apresenta $OPG \geq 150$.

Dos estudos apresentados torna-se patente que apesar de se diminuir o número de animais desparasitados com a redução das frequências de desparasitação, os limiares considerados pelos autores são muito baixos e não contribuem para uma redução significativa do número de desparasitações.

As tentativas de “esterilização” dos animais: tratamento supressivo

Um dos primeiros relatos da desparasitação supressiva com base no PRO terá sido o estudo de Round (1969) que pretende demonstrar os períodos pré-patentes das espécies de estrôngilo mais conhecidas e que recomenda a administração de AH com base no ciclo biológico mais curto (o dos *Cyathostomum sensu lato*, 8 a 9 semanas). Em 1984 Hasslinger considera que "*a parasite eradication program can be expensive, particularly in situations with large numbers of animals.*", ou seja, era do entendimento do autor que o único entrave à "erradicação" dos parasitas seria o factor económico. Mais, o autor também considera um máximo de 106 L3/Kg erva uma contaminação "elevada" do pasto. Apesar disso, recomenda uma desparasitação estratégica com manejo (rotação e pousio) dos pastos para que se possa efectuar um controlo mais económico. Hunt, Woodward e Morrison (EUA, 1996) estudaram animais desparasitados com base no PRO ou na Primavera/Verão, com contagens mantidas muito baixas ou nulas: os animais foram mantidos em sobrepastoreio durante 15 anos (50 a 120 animais num pasto de 23ha) e com a utilização de um programa bimensal de desparasitação com IVM. Também Boersema, Borgsteede, Eysker e Saedt (1995) consideram que "o objectivo dos tratamentos anti-helmínticos estratégicos é o de **suprimir** a contaminação do pasto" e Parry, Fisher, Grimshaw e Jacobs (1993) realizam um ensaio para determinar o PRO da IVM, do PIR e do FBZ no sentido de suprimir a eliminação de ovos como forma de evitar a contaminação do pasto. Num outro estudo Brillard (1997) conclui que "Os resultados apresentados (...) para um lote de cavalos que se supõem em excelente condição demonstram que uma infestação por estrôngilos permanece importante.". Esta frase retirada do resumo do artigo de Brillard demonstra que o clínico pressupõe que um animal saudável em "excelente condição" física é um animal que deve apresentar contagens de ovos baixas e alerta os proprietários para a possibilidade de um animal saudável poder estar com cargas elevadas de parasitas. O estudo faz uma avaliação qualitativa de graus de parasitismo em animais desparasitados, pelo que não é fácil inferir o que será uma "carga parasitária" importante ou muito forte, já que para ambos os graus houve uma correlação com contagens de 910 a 1120 OPG. Relativamente às cargas baixas situam-se abaixo de 500 OPG. O autor confunde no entanto eliminação com carga parasitária, o que poderá ser uma aceção comum à da maioria dos clínicos. A utilização de práticas de desparasitação intensiva em equinos é patente no estudo de Chandler, Collins e Love (2000) no norte de Inglaterra em 200 pôneis e cavalos de várias proveniências: apenas 28% apresentavam contagens positivas com o método de MacMaster modificado. Nestes estudos e noutros citados anteriormente é patente que nos países anglo-saxónicos e do norte da Europa há uma tendência maior para a supressão das contagens que nos países do mediterrâneo,

como Portugal, Espanha e França. Esta postura não se limita aos equinos, e Dobson, Besier, Barnes, Love, Vizard, Bell e LeJambre (2001) propõem esquemas de desparasitação que visam a eliminação máxima da carga parasitária em ovinos antes da colocação no pasto, recomendando a utilização de combinações múltiplas de AH em situações onde é esperada ou conhecida resistência às lactonas macrocíclicas.

Como temos constatado ao longo deste trabalho, torna-se claro que é um objectivo quase universal pretender a esterilização dos animais, a julgar pelos baixos limiares apresentados na maioria dos artigos, que são valores muito abaixo das médias exibidas naturalmente pelos animais. De acordo com Pais Caeiro (1999) o controlo com um anti-parasitário é efectuado quando é mantida uma eliminação baixa ovos (abaixo dos 100 OPG media geométrica). No entanto o autor referia-se à eficácia da desparasitação e apenas efectuou novo controlo parasitário a um grupo de animais quando estes retomaram as eliminações de ovos iniciais, próximas dos 1500 OPG, apontando para uma utilização racional dos AH.

Cargas parasitárias e limiares de OPG considerados na desparasitação individual ou de grupo

Euzéby (França, 1982) no seu trabalho sobre a coprologia no cavalo cita um estudo de Taylor feito em 1939 que considera que um número igual ou superior a 1500 OPG é geralmente um sinal de *estrongilidose* como doença e Herd, Miller e Gabel (EUA, 1981) acreditavam que os animais estariam protegidos de infecção grave se as contagens se mantivessem abaixo de 50 OPG, embora considerassem que a eliminação completa da contaminação fosse indesejável por falta de estimulação antigénica e aquisição de imunidade. Face à confusão geral entre carga parasitária e eliminação, Klei e Chapman (1999) afirmaram peremptoriamente com base nos estudos *post mortem* já realizados que as cargas parasitárias em cavalos adultos não estão relacionadas com as eliminações de ovos e devem ser utilizadas com precaução quando se estima o *status* de infecção. Não obstante, a generalidade dos autores utilizam-nas sistematicamente como indicador da carga parasitária ou grau de infecção, e as contagens de ovos são a base para a realização de desparasitações através da definição de limiares máximos de OPG:

- 50 OPG – Herd, Miller e Gabel (1981)
- 100 OPG – Dopfer, Kerssens, Meijer, Boersema e Eysker (2004); Eysker, Bakker, van den Berg, van Doorn e Ploeger (2008);
- 200 OPG – Piche, Kennedy, Bauck e Goonewardene (poldros de corrida com 6-9 meses no Canadá, 1990); Parry, Fisher, Grimshaw e Jacobs (1993); Boersema, Borgsteede, Eysker e Saedt (1995); Dorchies, Clement, Mazaud, Flochlay e Blond-Riou (1997);

Alzieu, Bourdenx, Alzieu, Flochlay, Blond-Riou e Dorchies (1997); Beugnet (1998); Larsen, Lendal, Chrié, Olsen e Bjørn. (2002) consideram um “carga endoparasitária” elevada quando $OPG \geq 200$; Mathee e McGeoch (2004); Nielsen, Haaning e Olsen (2006);

- 500 OPG Madeira de Carvalho (2001, 2006a);
- 500 - 1000 OPG - Soulsby (1986).

A maioria dos autores considera limiares baixos e assume que a “carga parasitária” ou a eliminação de ovos é elevada a partir desses valores de OPG. Outros evidenciam o desfazamento entre a teoria e a prática: Mathee e McGeoch (2004) consideram contagens baixas abaixo 200, moderadas 500-800 e altas >1000 mas nos seus estudos usam limiares de 100 a 300 devido ao valor económico dos animais. Bauer, Çirak, Hermosilla e Okoro (1998) também consideram infestações moderadas abaixo de 1000 OPG (média geométrica do grupo) apesar de falarem em “infestações” e não em eliminações. Finalmente, não deixa de ser curioso que trabalhos menos recentes apelavam a desparasitações a partir de níveis de OPG fracos a moderados (500 a 1000), como recomendado por Soulsby (1986) e posteriormente a maioria dos autores fez tábua rasa destes valores, indicando níveis mais baixos e promovendo um aumento na frequência de administrações de anti-helmínticos (AH).

Utilização de AH na profilaxia e tratamento

De uma maneira geral os AH são usados de forma profilática, que pretende ser supressiva, isto é, pretende-se eliminar a carga parasitária e evitar infecções posteriores. Claro que na prática esta abordagem não tem os resultados pretendidos, sobretudo no que concerne os pequenos estrôngilos, uma vez que mesmo com o cavalo alojado na boxe e sem acesso a *paddocks* ou pasto, não há nenhum AH que elimine todas as formas larvares e por conseguinte há sempre infecção, nem que seja auto-infecção. Daqui se depreende a ubiquidade da infecção parasitária por pequenos estrôngilos e a necessidade de uma abordagem que promova o equilíbrio entre o parasita e o hospedeiro, uma vez que a infecção é inevitável e ao mesmo tempo necessária para que se estabeleça imunidade. Já o tratamento propriamente dito refere-se à utilização dos anti-helmínticos na terapia das síndromes clínicas de ciatostominose, tendo a investigação científica em muito contribuído para um melhor esclarecimento acerca dos efeitos particulares dos AH actualmente utilizados e que pode ajudar o clínico a utilizar o AH indicado para cada caso.

Protocolos larvicidas preventivos: possível interesse na terapêutica

Actualmente utilizam-se protocolos “larvicidas” com base nos estudos de eficácia *post mortem* da moxidectina (MOX) e do febendazol em dose dupla durante 5 dias (FBZ) realizados por vários autores (Bello e Laningham, 1994; Bairden, Brown, McGoldrick, Parker e Talty, 2001; Steinbach, Bauer, Sasse, Baumgartner, Rey-Moreno, Hermosilla, Damryasa e Zahner; 2006). No entanto e como veremos adiante, a eficácia dos compostos contra as formas enquistadas não é significativa e apenas a moxidectina apresenta uma tendência na redução das L4 da mucosa, não influenciando os números de EL3 enquistadas (Vercruyse, eysker, Demeleunaere, Smets e Dorny, 1998). Adicionalmente a utilização do protocolo larvicida com febendazol em animais com população parasitária resistente aos BZDs selecciona muito rapidamente para resistências. Reinemeyer, Farley e Clymer (2003) compararam os dois regimes larvicidas, febendazol 10mg/Kg durante 5 dias e moxidectina 0,4mg/Kg em administração única, sendo cada protocolo repetido 90 dias depois. Concluíram que houve baixa eficácia no grupo do febendazol (redução da contagem de ovos fecais 92,9% no primeiro tratamento e 85,6% no segundo vs 99,6% e 100% para o grupo da moxidectina), sendo os ganhos de peso e condição corporal significativamente mais elevados no grupo da moxidectina entre os dias 60 e 150. Constataram que o tratamento com febendazol contribuiu para a selecção de resistências: no dia 234 os dois grupos foram desparasitados com a dose adulticida de 5mg/Kg, sendo a TRCOF de 45,2% para o grupo da moxidectina e -60,7% no grupo do febendazol. A remoção dos adultos do lúmen intestinal poder provocar a emergência das LL4 dos quistos da mucosa, provocando ciatostominose clínica (Reid, Mair, Hillyer e Love, 1995), por isso Reinemeyer (1998) considera importante o controlo prático dos estádios enquistados obtido com a moxidectina: prevenção de síndromes clínicas, redução das populações adultas futuras, aumento do período de reaparecimento de ovos nas fezes (PRO), redução da contaminação ambiental e melhor saúde intestinal. No entanto o autor alerta para as possíveis consequências teóricas: interferência com a imunidade adquirida e possível selecção de resistências às lactonas macrocíclicas pela moxidectina ao seleccionar a população de refúgio. Realça ainda as vantagens económicas de menos tratamentos por ano e considera esta abordagem nova e promissora.

Como vimos, não só os protocolos não são eficazes contra os estádios enquistados, como podem seleccionar resistências, o que entretanto já veio a ocorrer com a moxidectina (Mathee, 2003). Apesar disso, há dados dos estudos *post mortem* que podem ser de ajuda na escolha dos AH na terapêutica: a desparasitação com moxidectina diminui em cerca de 62.6% a inflamação avaliada clinicamente no ceco e cólon associada ao parasitismo por pequenos estrôngilos em animais com menos de 3 anos face ao grupo controlo (Bello e Laningham, 1994) e provoca menos inflamação

intestinal face ao protocolo de 5 dias com febendazol em animais de 6 a 9 meses (Steinbach, Bauer, Sasse, Baumgartner Rey-Moreno, Hermosilla Damriyasa e Zahner, 2006).

Reacções adversas uso off label da ivermectina

Muñoz, Garcia-Pérez, Povedano e Juste (1994) não recomendam a utilização de IVM subcutânea com base nos resultados do seu estudo: 1) a IVM apresenta menor eficácia que na via oral, possivelmente devido ao refluxo no local da injeção que ocorre em 70% dos casos, e num caso em que houve enquistamento sem infecção (5%) a eliminação pós-tratamento foi positiva e superior à pré-tratamento; 2) em 90% dos casos forma-se uma reacção edematosa discreta e dolorosa no local da injeção onde está acumulado o produto e que pode durar 24 a 72h; 3) a administração é mais difícil e existe risco de infecção (clostridiose).

Estimativa do peso para evitar subdosagem

Vários autores utilizam uma fita métrica comercial usada em volta da circunferência torácica ao nível da cilha para estimar o peso do animal, por forma a evitar a subdosagem do AH (Coles, Hillyer, Taylor e Villard, 2003; Várady e Corba, 1997; Várady, Königová e Corba, 2000; Craven, Bjørn, Henriksen, Nansen, Larsen e Lendal, 1998; Davies e Schwalbach, 2000). Piché, Kennedy, Bauck e Goonewardene (1990) usam-na para determinar o peso de poldros criados para corrida, utilizando a fita com dupla função: avaliar o crescimento dos animais e evitar a subdosagem de AH, que poderá ser responsável pelo selecção de resistências.

Para esclarecer as dúvidas sobre a fiabilidade do uso das fitas comerciais para estimativa de peso, Pook, Power, Sangster, Hodgson e Hodgson (2002) compararam a avaliação do peso em balança com o uso de fitas ou fórmulas e concluíram que o uso de fitas ou fórmulas tem um coeficiente de correlação ($r=0,91$) suficiente para que não haja diferenças significativas entre os métodos. Os autores preferiram a fita à fórmula por esta subestimar ligeiramente o peso (em 6,7%).

Medidas Complementares e Alternativas de Controlo parasitário

Medidas de higiene na boxe

A quantidade de L3 infectantes nas boxes dos cavalos está relacionada directamente com a eliminação parasitária (OPG) e com o tempo passado pelo animal na boxe (Langrová, 1999). Um estudo sobre a localização de L3 infectantes nas boxes dos cavalos foi levado a cabo em 2001 pelo mesmo autor, que observou mais L3 infectantes no centro da boxe (38,89%) e nas áreas debaixo do balde de água (34,6%). A migração vertical era reduzida e a maioria das larvas infectantes foi recuperada no Verão e no Outono (clima temperado). Tendo estes resultados em conta, podemos concluir que existe sempre contaminação na boxe apesar da remoção das fezes, mas obviamente podemos reduzir a intensidade de auto-infecção se evitarmos deixar fezes na cama. Nas zonas rurais o sistema das camas que vão crescendo em altura com a acumulação de fezes e palha durante 3 a 4 meses é tradicionalmente utilizado e a sua vantagem é patente no Inverno, pois nessas camas vai ocorrendo a compostagem das fezes e da palha, originando calor na divisão onde se encontra o animal. Adicionalmente, são muito confortáveis e evitam as lesões articulares decorrentes do decúbito em cimento que ocorrem frequentemente nas boxes de zonas urbanas devido à poupança na quantidade da palha ou aparas colocadas na cama do animal. Obviamente que em zonas frias no Inverno a contaminação da cama com L3 poderá não ser significativa dadas as menores eliminações dos animais, mas no moderno contexto de produção equina não sabemos qual o impacto na saúde dos animais, até porque quando ocorre acumulação de fezes na cama dos animais não é segundo este tipo de maneo mas por descuido na higiene, faltando a palha e as ervas que tradicionalmente se colocam nas camas. Todavia, dados obtidos em Portugal em explorações no Ribatejo com camas de palha permitiram verificar que o risco de infecção a partir daquelas é baixo (Madeira de Carvalho, 2001).

Medidas de higiene no pasto

1) Remoção de fezes do pasto

Num estudo de Herd (1986) o grupo de equinos em que não foram efectuados tratamentos AH mas cujas fezes foram removidas do pasto duas vezes por semana manteve contagens mais altas que os outros grupos desparasitados (341 a 1722 OPG, máximo em Agosto) mas a contaminação da erva foi a mais baixa de todos os grupos: abaixo de 1000L3/Kg erva seca nos 2 *paddocks* de 1 ha ocupados pelos 11 animais. Nos grupos de poldros de ano e mães submetidas a diferentes protocolos de desparasitação com contagens mais baixas os picos de L3 no atingiram valores de 5000L3 e 10000L3/Kg erva seca. Podemos concluir que embora a desparasitação diminua a eliminação de ovos pelos animais, o seu impacto na diminuição da contaminação do pasto depende em grande medida do maneio higiénico: considerando que são necessários 3 a 7 dias para a eclosão e desenvolvimento até L3 (ver anexo IV), a remoção bi-semanal de fezes evitou eficazmente a contaminação do pasto sem recurso à utilização de AH. Herd acrescenta ainda que esta medida aumentou em 50% a área de pastoreio, evitando o aparecimento de zonas não pastadas em volta das fezes (*roughs*). A remoção menos frequente de fezes poderá não ser eficaz na diminuição da contaminação dos pastos: Mathee, Krecek, Milne, Boshoff e Guthrie 2002 constataram que remoção mensal de fezes não influenciou as eliminações parasitárias em 12 burros estudados de Outubro de 1997 a Janeiro 1999, mas os animais encontravam-se em situação de sobrepastoreio (4,8 a 12,6 animais por hectare).

Langrová (1999) constatou que o número de L3 infectantes no pasto está relacionado directamente com as contagens de ovos acumuladas, ou seja com o OPG do animal e tempo de permanência, bem como com a área do pasto e consequente intensidade de ocupação, conclusões que vão ao encontro dos estudos anteriores.

2) Compostagem e enterro de fezes

Herd (1986) recomenda que as fezes removidas sejam compostadas antes de colocadas no pasto como fertilizante, para evitar a contaminação com L3 viáveis.

Huston, Fincher e Craig (1984) estudaram a eficácia do enterro de fezes de equino em solo argiloso a várias profundidades até 20cm e determinaram a maior migração larvar que ocorreu foi de 20cm em 33 dias. No entanto no pasto apenas 0,00004% do número de ovos enterrado foi encontrado como L3. Apesar de não apresentarem resultados que permitam indicar a profundidade do enterro, dão-nos a indicação de que esta medida poderá ser uma alternativa viável para eliminar as fezes do pasto e aumentar a área de pastoreio.

3) Encabeçamento adequado de animais no pasto

Medica, Hanaway, Ralston e Sukhdeo (1996) estudaram o comportamento de cavalos no pasto: nove poldros de ano num pasto de Dezembro a meio de Março (10,1 cavalos/ha) e 9 cavalos castrados e éguas com mais de 20 anos de Abril a meio de Maio (11,7 cavalos/ha). O comportamento de pastoreio e defecção foi aleatório e os animais pastaram em todas as zonas (zonas secas, zonas de pasto e zonas em volta das fezes). A única excepção foram os poldros em Janeiro e Fevereiro, meses mais frios em que os animais se mantiveram perto do abrigo com água e comida na zona sem pasto coberta com geada ou neve. Estes resultados confirmam estudos anteriores demonstrando que elevadas densidades de pastoreio fazem com que os animais pastem junto às zonas com fezes e aumentem a exposição às larvas infectantes. Já no estudo de Mage (1996) os animais de 3 a 5 anos foram mantidos 3 anos com o encabeçamento de 1 animal/ha sem problemas clínicos apesar de os animais não terem sido desparasitados durante o estudo, mas é importante referir que os animais pastaram sucessivamente em 8 parcelas diferentes durante o ano por forma a manter uma nutrição adequada sem necessidade de recorrer sistematicamente à suplementação. Noutro estudo (Mage, Trillaud-Geyl e Arnaud, 1995) os autores mantiveram poldras de 11 a 13 meses com um encabeçamento de 1,5 animais /ha e as poldras não desparasitadas durante a época de pasto não apresentaram sinais clínicos de parasitismo GI.

Paulrud, Pedersen e Eydal (1997) estudaram a influência das densidades de ocupação do pasto em animais introduzidos após desparasitação prévia. As densidades consideradas foram: 1,32, 1,0 e 0,71 cavalo/ha. Os autores observaram que existe uma relação directa da contaminação nos pastos cultivados e a densidade de ocupação (menor densidade, menor contaminação). No entanto nos pastos de pântano drenado não se verificou esta relação e os autores explicam esta ocorrência devido às cargas larvares iniciais que não foram contabilizadas. Apesar disso, no pasto drenado com maior concentração de animais não se observou a separação entre as zonas de fezes e as de pasto, o que indica um encabeçamento excessivo. Podemos daqui concluir que quando a concentração de animais excede um animal por hectare existe sobrepastoreio e conseqüentemente maior risco de infecção.

É importante referir que apesar de se falar geralmente em sobrepastoreio quando se ultrapassa 1 animal por ha, pode ocorrer sobrepastoreio com menor encabeçamento se o pasto não for cultivado, se se encontrar sem erva suficiente ou de insuficiente valor nutritivo (pasto semi-árido com erva seca lenhosa). Por isso o encabeçamento deve ser considerado em pastos bem mantidos e adequadamente semeados com altura de erva acima dos 10 a 15cm, devendo os animais transitar

para outro pasto quando a erva desce dos 10cm, altura máxima onde se encontram as L3 infectantes (English, 1979). A suplementação é conveniente sempre que a erva não esteja na sua melhor condição (Mage, 1996).

4) Rotação de pastagens

Os estudos de Mage, Trillaud-Geyl e Arnaud (1995), de Mage (1996) e de Mage, Arnaud, Flochlay e Blond-Riou (1998) demonstram que um manejo com encabeçamento de adultos de 1 animal/ha e poldros 1,5 animal/ha, juntamente com bom manejo nutricional que inclui a alternância sucessiva de pastos de Abril a Novembro (época de pastoreio) permite a manutenção de animais sem sinais clínicos de parasitismo GI sem a administração de anti-helmínticos. A utilização de várias parcelas de pasto cultivadas com forragens adequadas e fertilizadas de modo controlado é no entanto parte essencial do manejo dos animais nestes estudos. Quanto ao uso agrícola em anos alternados, ele não é referido pelos autores, embora possa teoricamente ser uma boa forma de controlar a contaminação dos pastos e evitar o esgotamento dos solos.

5) Pastoreio misto com ruminantes

English (1979b) concluiu que o pastoreio misto pode não ser benéfico a curto prazo, uma vez que os bovinos comem a porção superior do pasto (a 40cm do solo) deixando as camadas inferiores com elevado número de larvas infectantes para o pastoreio dos equídeos (a maioria das larvas a 10cm do solo no verão). Por outro lado, o pastoreio misto ou alternado pode também acarretar a ingestão de grandes números de *T. axei* pelos cavalos, com potenciais efeitos deletérios (Herd, Williardson e Gabel, 1985).

6) Uso de escaravelhos coprófagos no pasto

English (1979) estudou o efeito dos escaravelhos coprófagos nos estádios de vida livre dos nemátodes strongilídeos de equinos. Dentro dos artrópodes coprófagos, apenas os membros da família Scarabaeidae contribuem para a dispersão da massa fecal, e o autor observou que estes escaravelhos provocam uma redução de 60% na recuperação de larvas do pasto mas apenas durante os meses de verão. Como a redução era muito menor durante o resto do ano, o autor concluiu que os escaravelhos coprófagos são de pouca utilidade no controlo das strongilidoses equinas na ausência de outras medidas para reduzir a contaminação do pasto.

Nutrição: utilização de pastagens alternativas

Em 1996 Van Houtert e Sykes concluíram que a resiliência (capacidade do animal resistir aos efeitos da infecção) e a resistência (capacidade do hospedeiro de prevenir o estabelecimento e/ou o desenvolvimento da infecção) ao parasitismo GI em ruminantes aumentava com a melhoria do estado nutricional do hospedeiro (ruminante) e apesar de os mecanismos envolvidos na resistência (imunidade adquirida) não estarem bem esclarecidos, os autores acreditam que um melhor estudo dos mecanismos será importante na utilização desta abordagem como alternativa ao uso exclusivo de desparasitantes químicos no controlo do parasitismo GI.

Em 2001 Coop e Kyriakis estudaram a influência da nutrição no desenvolvimento e capacidade do hospedeiro de lidar com o parasitismo gastro-intestinal como estratégia alternativa ao uso de AH químicos em ovelhas, com resultados positivos no controlo. Marley, Cook, Keatinge, Barrette e Lampkin (2003) estudaram o efeito da chicória e do cornichão em pastagens alternativas para cordeiros durante 5 semanas e verificaram uma diminuição significativa da carga parasitária avaliada *post mortem* e uma melhoria da condição corporal, pelo que os autores consideram o uso destas pastagens como alternativa ao uso de AH químicos.

Hoste, Torres-Acosta, Paolini, Aguilar-Caballero, Etter, Lefrileux, Chartier e Broqua (2005) revêm estudos nutricionais e concluem de um modo geral que a suplementação proteica acima das necessidades consideradas (125%) com equilíbrio das necessidades energéticas em animais de alta produção, assim como o uso de plantas com taninos nas pastagens, melhoram o desempenho dos animais e diminuem as cargas parasitárias, e consideram esta abordagem nutricional promissora no controlo das helmintoses das cabras em climas temperados e tropicais.

Paolini, De La Farge, Prevot, Dorchies e Hoste (2005) estudaram o uso de feno de sanfoína (*Onobrychis spp*) na suplementação de cabras em pastagem e concluíram que era uma alternativa viável ao uso de químicos: este tipo de feno era consumido em maior quantidade que o de erva-castelhana (*Lolium spp*) e os animais apresentavam menores níveis de excreção de ovos e 50% menos de carga parasitária *post mortem* que o grupo controlo ao fim de 2 meses (2 animais do grupo controlo morreram durante o estudo).

Estes estudos em pequenos ruminantes sugerem que deverá ser estudada uma abordagem semelhante em equinos: a melhoria nutricional leva a melhores desempenhos produtivos e que se o manejo de pasto for adequado, a diferença de crescimento entre animais desparasitados e não desparasitados não é significativa ao longo prazo (Mage, 1996). Por outro lado, em condições de produção de poldros de desporto para venda, nomeadamente nos países anglo-saxónicos, os proprietários utilizam os desparasitantes como forma de economizar nos custos alimentares

(Mathee, Dreyer, Hoffmann e Van Niekerk, 2002). A abordagem ao nível das pastagens tem no entanto que considerar os vários pastos adequados a equinos, pois a utilização de pastos com elevado teor de taninos utilizados em pequenos ruminantes pode ser prejudicial para os equinos devido à sua toxicidade (os cavalos são herbívoros não ruminantes e podem não realizam uma degradação tão extensa dos taninos como o fazem os ruminantes durante a digestão).

Utilização de fungos nematófagos (*Duddingtonia flagrans* e *Arthrobotrys oligospora*)

A experimentação do potencial uso de fungos nematófagos para controlo das nematodoses remonta a 1958, iniciada por Soprunov na antiga União Soviética e continuado em 1972 e 1980 por Priadko e colegas, sendo reconhecida a elevada actividade nematocida das culturas de fungos. A sua utilização não foi no entanto divulgada devido à utilização de benzimidazóis altamente eficazes na altura (Dvojnjos, Karchenko, Lukianchenko, Koval, Borisov e Drinaev, 1999). Com o aparecimento de resistências aos benzimidazóis na Ucrânia a partir de 1995 (Kuzmina, Dvojnjos e Slivinska, 2001) e devido à exotocidade das avermectinas, Dvojnjos *et al* (1999) sistematizaram as técnicas de cultivo e extracção dos fungos nematófagos e testaram a sua actividade contra nemátodes. Concluíram que em grandes quintas de criação cavalar na Ucrânia e na Rússia os principais métodos de controlo das nematodoses são a monitorização e rotação de pastos associada à utilização de fungos nematófagos, medidas que permitem reduzir a utilização das avermectinas. No entanto os antiparasitários podem inibir a actuação dos fungos e o seu uso deve ser ponderado em situações de controlo biológico: os Benzimidazóis inibem a formação de anéis de constrição pelo fungo, limitando a sua actividade, e as avermectinas estimulam-na (Kuzmina, 2001).

Bird e Herd (1995) avaliaram *in vitro* o efeito dos esporos de *Arthrobotrys oligospora* e *Duddingtonia flagrans* observaram 96 e 94% de redução de larvas infectantes de ciatostomíneos na proporção de 100 esporos por ovo. Santos, Padilha e Azevedo Rodrigues (2001) incubaram fezes a 25 ou 30°C por 14 dias com fungos de *Arthrobotrys oligospora* e *Duddingtonia flagrans* observaram uma redução de cerca de 90% das larvas infectantes, resultados que vão ao encontro do estudo anterior e apontam para uma elevada eficácia *in vitro* de ambas as espécies.

A avaliação do efeito da administração de fungos *in vivo* na contaminação experimental do pasto mostram menores eficácias que as constatadas *in vitro*, mas apesar disso a redução da contaminação do pasto é significativa. Fernández, Larsen, Nansen, Gronvold, Henrksen e Wolstrup (1997) verificaram uma redução significativa do número de larvas infectantes no pasto após a infecção experimental do mesmo com fezes de 2 animais tratados com esporos do fungo *D. flagrans* por via oral (fungo cultivado e colhido 1 mês antes da utilização). Os valores de redução foram de 73% a

98%, com a dose de 10^6 esporos/dia. Os autores observaram que a eficácia era reduzida para 65% com esporos menos maduros (2 a 3 semanas em vez de 4) e verificaram que a diferença entre a dose de 1 milhão e de 5 milhões de esporos por dia não é significativa. Os resultados de Baudena, Chapman, Larsen e Klei (2000a) em clima temperado subtropical são comparáveis aos anteriores: a contaminação experimental do pasto por fezes de um cavalo a que foram administrados oralmente 2×10^6 esporos de *D. flagrans* evidenciou 66 a 99% redução das L3 infectantes no pasto.

Em Portugal, Madeira de Carvalho, Gillespie, Serra, Bernardo, Farrim e Fazendeiro (2007b) realizaram dois ensaios com poldros de 10-12 meses a pasto com suplementação, em regime semi-extensivo numa coudelaria no Ribatejo entre 1997 e 1999 e concluíram que no grupo a que eram administrados 5×10^5 esporos/Kg de *D. flagrans* diários, a redução de L3 era significativa nas culturas fecais (62 a 72%) e nas L3 infectantes do pasto (50 a 70%), revelando-se método de controlo eficaz quer na redução das L3 provenientes das fezes (importante em regimes de estabulação) quer na redução da contaminação do pasto. De ressaltar que o comprimento da erva era baixo nos pastos (o que aumenta a contaminação dos animais), o regime era semi-extensivo e os animais jovens, pelo que em condições de maior área de pasto e melhor qualidade do mesmo os resultados da acção da *D. flagrans* poderiam eventualmente ser superiores e evitar a segunda desparasitação dos grupos do segundo ensaio (no primeiro ensaio as contagens mantiveram-se abaixo de 2000 OPG em ambos os grupos após a desparasitação inicial mas no segundo ensaio houve uma subida a 3000-4000 OPG em Maio – *spring rise*). Um ensaio anterior (Agricultor, Jorge, Gillespie, Barbosa, Fazendeiro e Madeira de Carvalho, 2003) com poldros de 3 anos recém-estabulados também mostrou uma redução do desenvolvimento das L3 nas fezes de cerca de 30% entre Maio e Setembro e contribuiu para uma diminuição das contagens de ovos dos animais.

As perspectivas de uso industrial de preparações de fungos nematófagos são promissoras: Lukyanenko (1999 e 1999a) experimentou conservar à temperatura e humidade ambientes durante 6 meses uma preparação em cevada com duas estirpes de *D. flagrans* e constatou que mantiveram a eficácia *in vivo* na redução das L3 infectantes (99,9% das larvas eliminadas pelos animais foram eliminadas no dia 14 pos-administração). O mesmo autor testou a eficácia de *A. oligospora* e *D. flagrans* em preparação líquida e constatou ser também uma hipótese viável para preparação industrial.

Anti-parasitários alternativos

Em Portugal já começa a existir um mercado para anti-parasitários alternativos em pequenos animais mas existe ainda pouca utilização deste tipo de produtos em equinos, possivelmente pela

ligação da sua criação e utilização à produção agrícola e animal e à consequente tendência de utilização do mesmo tipo de produtos em todos os animais pelos Médicos Veterinários e pelos proprietários. Noutros países europeus, nomeadamente no Norte da Europa e no Reino Unido há já um mercado emergente de produtos anti-parasitários à base de ervas ou homeopáticos. A sua utilização é já equiparada à utilização dos AH químicos: na página inglesa “wormers-direct.co.uk” de venda de anti-parasitários *online* são apresentadas duas marcas de produtos AP à base de ervas na lista de produtos para equinos. Uma das marcas tem extensa informação e comercialização, a marca Verm-X[®] da empresa inglesa *Paddocks Farm Partnership Ltd* (2010) que comercializa há 8 anos produtos anti-parasitários dirigidos contra parasitas internos de várias espécies (equinos, pequenos animais, animais de produção incluindo aves e espécies exóticas). O AP comercializado para equinos (Verm-X[®] *powder, pellets and liquid*) contém nas suas várias apresentações:

- *Allium sativum* (alho comum)
- *Cinnamomum zeylanicum* (canela)
- *Mentha piperita* (hortelã-pimenta)
- *Thymus vulgaris* (tomilho)
- *Galium aperine* (pegamaço, amor-de-hortelão)
- *Capsicum minimum* ou *C. frutescens* (pimenta Caiena)

Estas plantas têm sido tradicionalmente utilizadas como anti-parasitários, entre outros atributos nas várias medicinas tradicionais, e fazem parte da alimentação mediterrânica. A sua utilização alimentar é segura e comprovada pelo seu uso desde há pelo menos dois milénios. Quanto à sua eficácia anti-parasitária, podemos inferi-la com base quer nos bons resultados que mantêm o produto no mercado, quer pelos resultados de alguns estudos (infelizmente não há ainda dados de eficácia publicados acerca da forma comercial supracitada).

No que diz respeito ao alho, existem vários estudos que comprovam a sua eficácia anti-helmíntica. O extrato metanólico de 200g de alho apresentou uma eficácia de 100% após 6h de contacto com 6 adultos de *H. contortus in vitro*, resultados partilhados pelo gengibre após 2h (Iqbal, Nadeem, Khan, Aktahr e Waraich, 2001). Um estudo de 2010 mostra que o alho inibe a lactato desidrogenase do *H. contortus in vitro*, o que explicará o efeito *in vivo*: o parasita privado de energia deixa de conseguir manter a actividade e é expulso nas fezes (Veerakumari, Lakshmi e Navaneetha, 2010). Um teste crítico de controlo com ratinhos albinos Swiss infectados naturalmente com *Aspiculuris tetraptera* mostrou uma eficácia *in vivo* do alho administrado oralmente durante 7 dias superior à da IVM subcutânea: 91,24% vs 78,03% (Ayaz, Turel, Gul e Yilmaz, 2008). Outro estudo *in vitro* mostra resultados mais eficientes do alho contra L3 de *Trichostrongylus colubriformis* que o

Albendazol, com concentrações tão baixas como 62,5 µg extrato/mL (Urbana, Kokoskab, Langrovac e Matejkovad, 2010). Actualmente o alho em extrato ou em sumo é utilizado em quintas orgânicas de ovinos no Maine (EUA) controlando *H. contortus* e *Eimeria spp* em cordeiros com sucesso (Noon, 2005). A autora acrescenta que o método FAMACHA (observação visual das mucosas para avaliação do grau de anemia, rotineiramente utilizado em Portugal) é mais simples e económico que a monitorização dos ovos fecais no caso do *H. contortus*.

No que concerne as outras plantas incluídas na formulação deste AH herbal, os estudos de eficácia são dispersos e a informação é difícil de coligir, sendo no entanto utilizadas em práticas etnoveterinárias da medicina tradicional em várias partes do mundo. Num estudo brasileiro a autora concluiu que o uso da fitoterapia no sistema público de saúde reduz os custos significativamente face aos medicamentos de síntese, realçando o trabalho do governo federal nessa área e acrescentando que segundo a OMS cerca de 80% da população mundial recorre ao uso de plantas com fins medicinais (Biesky, 2005). Em Portugal também existe, sobretudo nas zonas rurais, a utilização de plantas em medicina tradicional e práticas etnoveterinárias. Rodrigues (2002) fez o levantamento na área protegida da Serra do Açor e apurou o uso de 140 espécies de plantas, das quais 97 com uso medicinal e 5 com uso veterinário: *Borago officinalis L.* para a obstipação do gado, *Daphne gnidium L.* para a diarreia do gado, a malva para lavar feridas, e a menta para massajar o “amojo encaroçado” (desinflamar as mamilas) e a alfavaca para a tosse dos porcos. Um dado interessante: o alho era comumente descrito no tratamento de lombrigas em pessoas. Também na medicina tradicional na Sicília, aparte credos e superstições e entre muitas plantas utilizadas, o alho desempenha um papel importante no tratamento de helmintíases gastro-intestinais, nomeadamente as “lombrigas” (Napoli, 2008) e um estudo na Ligúria (Itália) apurou o uso tradicional de 120 plantas com vários usos: medicinal (40,4%), alimentar (46,5%), veterinário (4,6%), doméstico ou cosmético (4,3%) e em rituais e magia (1,8%) (La Rocca, Marsilia e Mariottia, 2010).

Existem poucos estudos disponíveis em zonas cosmopolitas sobre o uso de plantas, mas um estudo de práticas etnoveterinárias levado a cabo na Colômbia Inglesa (Canadá) revela que o alho, a menta, a genciana e o gengibre, entre muitas outras com eficácia clínica reconhecida, são utilizadas como anti-helmínticos em cães, gatos e porcos por herbalistas, treinadores de cães e proprietários (Lansa, Turner, Khan e Brauer, 2007).

Do que foi dito se depreende que o uso de ervas nas helmintoses de pessoas e animais é um fenómeno generalizado à escala mundial, pese embora o facto da maior parte dos usos não serem acompanhados de estudos de eficácia. Em 2001 Waller, Bernes, Thamsborg, Sukura, Richter,

Ingebrigtsen e Höglund fizeram um levantamento das plantas medicinais usadas nos países nórdicos com fins anti-parasitários no sentido de abrir novos caminhos à pesquisa na utilização de plantas como anti-parasitários em ruminantes, face à ocorrência de múltiplas resistências aos AH. Infelizmente e como se constata actualmente, ainda não há um conhecimento sistematizado e aplicado à prática clínica, sendo talvez a única excepção os produtores de carne biológica que não podem utilizar os desparasitantes químicos e que representam um pequeno nicho de mercado.

Vacinas

Um estudo sobre a actividade proteolítica em ciatostomíneos detectou a presença de proteinases da classe da cisteína (Kinsella, Lichetnfels e Ryan, 2002). Estas proteinases têm sido usadas em imunologia no gado (conferindo cerca de 50% de imunidade protectora contra *F. hepatica*) e é possível que esta descoberta possibilite novas abordagens imunológicas ou químicas no controlo da ciatostominose, uma vez estudados os produtos de excreção-secreção das espécies principais.

Abordagens actuais ao parastismo em equino (inquéritos)

Reino Unido

Pascoe, Wilson e Coles (1999) realizaram um inquérito relativo ao controlo de nemátodes em cavalos de concurso completo (provas de saltos, ensino e corrida corta-mato). Os autores verificaram uma sobreutilização desnecessária de anti-helmínticos químicos: 81% dos 371 cavalos apresentavam contagens inferiores a 50 OPG e 82% dos animais eram desparasitados sem indicação para tal face aos resultados da coprologia. 75% dos proprietários utilizavam a dose múltipla de FBZ para eliminar estágios larvares de ciatostomíneos e havia evidência de resistência ao FBZ nos seus animais. A desparasitação contra ténias era efectuada por 74% dos proprietários mas não era realizada na altura epidemiologicamente correcta por dois terços dos mesmos. 81% dos donos desparasitava a cada 6 a 10 semanas e 46% rodava de produtos duas vezes por ano (rotação rápida). As medidas higiénicas eram pouco levadas em conta, com apenas 12% dos proprietários a remover as fezes 2x por semana (56% removiam fezes do pasto mas com menor frequência), apenas 20% a fazer pousio mas durante tempo insuficiente, 44% usavam ruminantes em rotação e 75% não moviam os animais desparasitados para pastagens limpas.

Biggin, Bristol e Coles (1999) fizeram um inquérito sobre o controlo de ectoparasitas (piolhos, moscas e mosquitos *Culicoides spp*) pelos donos de cavalos em centros equestres e concluíram que as maiores fontes de informação sobre controlo parasitário eram revistas, livros e outros membros dos centros, concluindo que o controlo nem sempre é o adequado e existe falta generalizada de aconselhamento médico-veterinário.

Os autores de ambos os estudos consideram que é necessária uma maior intervenção do médico veterinário no planeamento do controlo parasitário, uma vez que nem todos os donos utilizam os métodos de controlo correctos. Abordam o tópico das resistências aos AH decorrente de tais práticas, realçando a importância do controlo sem recurso a químicos e colocando ênfase nas medidas higiénicas de controlo (remoção de fezes do pasto no caso dos nemátodes).

Lloyd, Smith, Connan, Hatcher, Hedges, Humphrey e Jones (2000) num inquérito a 257 estabelecimentos concluíram o seguinte: em 30% havia pastoreio misto com ruminantes, 18% já tinham tido problemas relacionados com parasitismo nos últimos 3 anos; 87% usavam IVM, 60% usavam pamoato de PIR, 60% FBZ e 10% outros BZD; a mediana das desparasitações era de 5/6 por ano e metade usava as 3 classes de AH por ano, um terço 2 classes e apenas 12% 1 classe. Metade recolhia as fezes do pasto (destes 50% recolha diária e 25% duas vezes por semana), mas eram também estes os proprietários que mais vezes desparasitavam. 13% dos donos usava o

tratamento de 5 dias com FBZ. É de notar que apenas 10% dos animais apresentam contagens superiores a 500 OPG (7% entre 500 e 1000 e 2% de 1000 a 1500 e 1% >1500 OPG). Face aos resultados, os autores recomendam a rotação lenta de AH (1 classe/ano) e a desparasitação selectiva como forma de contrariar o aparecimento de resistências e subseqüentes problemas clínicos.

França

Em 1997, durante o evento "Cheval Passion 97", o clínico veterinário Brillard realizou análises coprológicas a 100 animais e constatou que 2/3 dos criadores utilizavam o método de duas desparasitações por ano. No entanto, constatou que havia um sem número de protocolos diferentes de desparasitação e que não havia um acompanhamento da mesma por outras medidas (higiene da boxe, do pasto etc) nem era feita coprologia para avaliar os resultados. Mais gravoso ainda era o facto de ser corrente a utilização de desparasitantes injectáveis destinados a bovinos e ovinos, não apenas pela via injectável mas também *per os*, sendo neste último caso que o autor encontrou as eliminações de ovos mais elevadas do estudo.

Bélgica

Dorn, Meijer, Smets e Vercruyse (2000) realizaram um inquérito sobre práticas de controlo AH em 15 quintas com 302 animais. Cerca de metade das quintas (8/15) apenas utilizavam a IVM e as restantes utilizavam várias famílias de AH, incluindo BZD. Os autores constataram que nenhuma das quintas tinha um programa adequado para a desparasitação dos animais e os tratamentos eram realizados com frequências e intervalos irregulares. Os autores detectaram resistências ao MBZ em 92% das quintas analisadas (12/13) e havia evidências de resistência ao PIR numa das três quintas analisadas.

Dinamarca

Larsen, Lendal, Chrié, Olsen e Bjørn (2002) levaram a cabo um inquérito junto a 68 proprietários de 903 cavalos, tendo cada proprietário mais de 15 cavalos. Os autores consideraram valores de eliminação iguais ou superiores a 200 OPG indicativos de uma elevada carga parasitária e com base nisso classificaram a interferência das variáveis estudadas na eliminação de ovos. Os animais considerados com maior risco são os cavalos de clubes equestres (*vs* coudelarias e alojamento temporário) e poldros com mais de 6 meses. O aumento da densidade de animais no pasto também aumentava o risco (pastoreio nas zonas em volta das fezes) e, curiosamente, as medidas de higiene no pasto também aumentavam o risco neste estudo, embora os autores sublinhem que as medidas de higiene provavelmente não haviam sido levadas a cabo de maneira correcta. Os autores não

encontraram associação entre diarreia e elevadas contagens (“cargas elevadas”) e fazem a ressalva que 53% das quintas foram seleccionadas pelos veterinários por suspeita de problemas relacionados com o parasitismo gastro-intestinal.

EUA (Tennessee)

Reinemeyer e Rohrbach (1990) levaram a cabo um inquérito sobre práticas de controlo parasitário em equídeos no Tennessee. As quintas mediana tinha 20ha e uma área de pasto de 6ha (60000m²). O respondente típico mantinha 4 animais em 6ha, não usava rotação de pasto como medida de controlo e desparasitava a intervalos regulares (83%). 9% só desparasitavam quando havia perda de peso. Em todas as idades os animais eram desparasitados na sua maioria 2 a 4 vezes por ano (50 a 80%) e a pasta de ivermectina era o produto mais comum (46 a 63%), seguida da administração nasogástrica de ivermectina (23 a 38%) e o uso de benzimidazóis (4 a 16%). 98% dos respondentes pretendiam usar o mesmo anti-helmíntico e 91% a mesma frequência de tratamento. A informação sobre desparasitação era fornecida essencialmente por revistas direccionadas aos cavalos (41%) e Médicos Veterinários (27%). Os médicos Veterinários eram a fonte mais importante de informação sobre os produtos a utilizar (75%).

África do Sul

Mathee, Dreyer, Hoffmann e Van Niekerk (2002) estudaram de 1997 a 2001 as características de manejo anti-parasitário em 10 quintas de criação de puro-sangue inglês com 1390 cavalos (60 a 250 por quinta). A idade da primeira desparasitação situava-se entre as 4 e as 12 semanas (média 6,8 e mínimo 2 semanas de idade numa quinta). O número de desparasitações por ano era em média 6,2 até ao desmame, 5,8 até aos 2 anos e 4,4 nos adultos (maioria dos adultos desparasitada entre 2 e 5 vezes por ano). Uma quinta desparasitava todas as classes etárias 12 vezes por ano e outra desparasitava 12 vezes por ano os animais jovens e 4 os adultos. Todas as quintas usavam ivermectina, 5 usavam tetrahidopirimidinas e duas usam BZDs e pró-BZDs. O praziquantel (cestocida) era utilizado em 6 quintas e em duas eram utilizados fasciolidas (de uso não aprovado para cavalos). Todas tratavam os cavalos recém-introduzidos. O número de classes de AH utilizadas por ano em média era de 3,4 (rotação rápida), sendo a ivermectina o AH mais usado entre 1997 e 2000. O pirantel era o segundo mais usado, sendo substituído pela doramectina a partir de 1999. A ivermectina (9 quintas) e a moxidectina (5 quintas) apresentaram eficácias de 99 a 100% e o oxibendazol <88% em 10 quintas (resistência ao OBZ). A escolha do AH era feita em função da facilidade de administração e constatação de efeito, embora o preço fosse factor importante para 50% dos proprietários. 88% desparasitavam para evitar problemas de saúde e 38% admitiu utilizar a

desparasitação como meio de evitar custos acrescidos com a alimentação. O peso dos animais era avaliado com fita por 43%, estimado visualmente por 45%, 7% usavam ambos os métodos e 5% pesava os animais. Apenas 46% dos proprietários avaliava o peso individualmente, sendo por 50% considerada a média do grupo. 43% dos proprietários realizava TRCOF.

Os mesmos autores avaliaram o tamanho médio das pastagens e o número médio de animais em 57 quintas de criação de PSI. Podemos constatar que em 49 quintas o número médio de animais (97 a 120) e a área média disponível (66,5 a 107,6ha) sugerem a existência de sobrepastoreio: um número mínimo de 15 a 20 animais numa pastagens de 0,5 a 2,5ha de dimensão mínima ultrapassa largamente o encabeçamento de 1 animal/ha. Nas quintas com tamanho mínimo superior a 400ha o encabeçamento é inferior a 1animal/ha (8 quintas). Nestas quintas o número de desparasitações de poldros com menos de 12meses era de $7,3\pm 3$, de poldros de 1 e 2 anos $6,6\pm 2,7$ e de adultos $5,3\pm 2,3$. Os autores concluem que as elevadas frequências de desparasitação e a subdosagem nos animais jovens podem ter contribuído para o aparecimento de resistências aos benzimidazóis.

Irlanda

O'Meara e Mulcahy (2002) avaliaram o manejo anti-parasitário em 4070 animais de 55 estabelecimentos desde coudelarias públicas de grandes dimensões a pequenas empresas, com uma média de 74 cavalos por estabelecimento (3 a 900 animais por estabelecimento). 9 estabelecimentos eram coudelarias, 12 tinham como actividade treino de cavalos de corrida (plana ou obstáculos) e 27 eventos equestres vários e os restantes tinham actividades mistas. A responsabilidade do controlo AH recaía em 73% nos donos ou gestores, em 16% nos tratadores-chefe e apenas 10% nos veterinários. No entanto, cerca de 67% procurou conselho veterinário sobre doenças relacionadas com o parasitismo e 54% programaram as desparasitações sob indicação do veterinário. Os intervalos entre dosagens eram repartidos equitativamente em três: 38% desparasitava de com intervalos de 4 a 6 semanas, 34% de 6 a 8 semanas e 28% entre 2 e 6 meses. 59% fazia rotação rápida de AH mas nem sempre mudava de classe. 71% utilizava estratégias para diminuir a contaminação do pasto que incluía rotação mista ou ocasional com ruminantes e os restantes 29% sabiam dos benefícios mas não dispunham de área suficiente. Cerca de 30% recolhia fezes do pasto (15% destes mensalmente, 54% uma ou duas vezes por ano, 15% ocasionalmente e 8% quando notavam sintomas de doença parasitária). 73% dos estabelecimentos não tinham encontrado problemas clínicos associados ao parasitismo por helmintes. Dos outros 27%, 13% relataram cólica, 8% perda de condição corporal e “má pelagem” e 6% múltiplas afecções. 41% dos inquiridos nunca realizou contagem de ovos fecais e 31% apenas o fizeram com a suspeita de problema associado.

16% realizam OPG anual e 12% mais que uma vez por ano. 86% não se aperceberam da existência de resistências aos AH, 61% estão preocupados mas apenas 22% considera mudar de esquema de controlo anti-parasitário.

Os autores concluem que existe um grande âmbito de actuação do médico veterinário no desenho e implementação dos programas de controlo anti-helmíntico em cavalos e que os médicos veterinários nem sempre aconselham de acordo com as melhores práticas de controlo AH.

Portugal

A utilização de AH aumentou globalmente na década de 80 mas pouco se sabe sobre a sua utilização em Portugal, e nomeadamente sobre as práticas de controlo AH utilizadas em Portugal e os factores que poderão predispor a resistências a AH (Martins, Sousa e Madeira de Carvalho, 2007).

Face a esse problema, os autores realizaram entre 2002 e 2005 um inquérito a 120 proprietários. A maioria dos donos dos cavalos tinha entre 25 e 45 anos (65%) e educação superior (58%). A maioria dos donos (34%) tinha animais com fim recreativos, pequenas quintas com 1 a 5 cavalos (43%) e acesso a pasto (71%). 59% relataram a ocorrência de sintomas relacionados com parasitismo. 89% dos proprietários desparasitava regularmente os animais, a maioria duas vezes por ano (56% contra 19% uma vez e 14% três a seis vezes). 63% usava um apenas um AH por ano e 30% usava dois, mas apenas 6% usava AH de classe diferente. As lactonas macrocíclicas eram as mais usadas (78%), nomeadamente a pasta oral de IVM, seguindo-se o pamoato de pirantel (21%), sendo que apenas 1% usava benzimidazóis. Apenas 15% dos donos utilizava TRCOF como método de avaliação da eficácia. 52% utilizava métodos alternativos de controlo: 18% retirava as fezes do pasto, 4% aplicava cal nas fezes e 48% lavrava os pastos. Os autores referem uma frequência de desparasitação baixa face a inquéritos recentes realizados noutros países e sublinham o facto de o uso da IVM ter diminuído de 2002 a 2005 (cerca de 60% para 40%) e o uso da doramectina *off-label* ter aumentado no mesmo período, o que poderá contribuir para o aparecimento de resistências por sub-dosagem e propriedades farmacocinéticas da DRM não adaptadas aos equídeos e seus parasitas. No que diz respeito ao controlo da eliminação e avaliação da eficácia através do TRCOF, a situação é comum à de outros países. Apesar de os proprietários terem consciência do problema é necessária uma maior intervenção do Médico Veterinário assistente para esclarecer melhor acerca da biologia dos parasitas e dos melhores métodos de controlo.

Impacto Económico

Cólica: qual o verdadeiro impacto do parasitismo?

Para termos uma ideia aproximada do que são as despesas relacionadas com o parasitismo gastro-intestinal temos de considerar não só os gastos relacionados com os programas de desparasitação mas também os gastos relacionados com a assistência médico-veterinária nas situações de cólica desencadeadas pela infecção parasitária. Começamos por abordar as causas, incidência e mortalidade associadas às cólicas em equinos. Tinker, White, Lessard, Thatcher, Pelzer, Davis e Karmel (1997) avaliaram a incidência e mortalidade cólica num estudo com 1427 cavalos em dois estados dos EUA (Virgínia e Maryland). Desde estudo observaram a influência dos vários factores:

- Faixa etária: animais de 2-10 anos apresentam maior incidência que em animais mais jovens ou mais velhos;
- Raça: árabes com a menor incidência e PSI (*Thoroughbreds*) com a maior incidência;
- Função: animais de concurso completo (*cross country*, saltos e ensino) com maior incidência e menor nos animais das aulas nos centros equestres e nos animais a pasto (sem utilização);
- Incidência média bruta: 1,06 cólicas/10anos-cavalo e mortalidade 0,07/10anos-cavalo (mortalidade todas causas morte: 0,25/10 anos-cavalo) portanto taxa de fatalidade de 6,7%;
- Reincidência: 13% dos cavalos apresentava mais de uma cólica por ano;
- Gravidade: 75% das cólicas eram ligeiras, resolvendo-se sem tratamento ou após um tratamento;
- Diagnóstico: 81% dos casos sem diagnóstico específico!.

A mortalidade das cólicas deve-se essencialmente a ruptura de estômago, lesões estrangulantes ou enterite (White, 2008). Das várias causas desencadeante de cólica o autor refere causas com origem no maneio que podem ser facilmente corrigidas pelos proprietários:

1 – Maneio alimentar, incluindo maneio da pastagem:

- Quantidade e distribuição de grão – as cólicas mais graves são provocadas por vôlvo ou intussuscepção no intestino grosso ou dilatação gasosa, que podem dever-se ao excesso de grão na alimentação. O risco para animais que comem entre 2,5 e 5Kg de grão na ração diária é 4 a 6 vezes superior ao dos animais que não comem grão e a situação agrava-se quando apenas se dá por duas vezes em vez de várias ao longo do dia;

- Acesso a água – o risco de cólica aumenta em *paddocks* sem acesso a água (risco de desidratação acrescido);
- Encabeçamento no pasto: o risco aumenta com maiores densidades de animais no pasto;
- Tempo de pastoreio: incidência de cólica menor em animais que pastam 24h; incidência menor quando administra o grão e os animais voltam para o pasto (menos timpanismo e deslocação do cólon);
- Características do *paddock*, da alimentação e da água: em *paddock* de areia há maior incidência de cólica por areia; a ingestão de água dura e/ou feno de alfafa leva a níveis de pH mais elevados no cólon com maior incidência de enterolitos (estas são no entanto causas raras de cólica);
- Tempo: tempo frio pode levar a menor ingestão de água e maior incidência de cólicas por impactação; pode também levar à estabulação dos animais e outras alterações no manejo que predisõem a ocorrência de cólica;

2 – Maneio de trabalho (exercício):

- Intensidade da actividade – maior incidência quando animais com elevado nível de actividade vão para o pasto ou quando são confinados na boxe; animais de corrida, concurso completo e endurance apresentam maior incidência de úlcera gástrica e cólica, embora este risco seja comparável ao risco de alterações na dieta.

O autor observou que a cólica prévia é um factor de risco, a anestesia aumenta o risco de cólicas por impactação, o fim da gravidez aumenta o risco de volvo ou deslocação do cólon, o transporte também aumenta o risco, sobretudo se existir aerofagia ou alimentação com grão, a aerofagia aumenta risco de obstrução simples do cólon maior e do encarceramento do intestino delgado no forâmen epiplóico. Relativamente ao parasitismo, são reconhecidas as cólicas provocadas por obstruções por ascarídeos em poldros e as elevadas infestações por ténias que provocam intussuscepção ileocecal ou cecocecal (estes casos estão geralmente associados a mortalidade e são por isso diagnosticados). Quanto aos estrôngilos o autor reconhece que não se sabe bem o impacto, mas as trombozes da Artéria Mesentérica Cranial têm diminuído nas necrópsias dos últimos 25 anos, concomitantemente com o uso das IVM. Quanto aos ciatostomíneos, o autor refere apenas 1 estudo (Uhlinger, 1990) onde se constatou a diminuição da elevada incidência de cólicas numa quinta através do controlo dos ciatostomíneos (animais em sobrepastoreio e mau controlo AH).

Esta enumeração das causas predisponentes de cólica no contexto da ciatostominose é propositada: muitos proprietários desrespeitam as mais básicas necessidades de bem-estar nutricional e

comportamental do cavalo e pensam que se ocorre cólica a culpa é necessariamente dos parasitas, pelo que a utilização de AH químicos substitui-se muitas vezes a um maneio correcto. Podemos concluir que o parasitismo por ciatostomíneos e por ténias é uma das muitas causas de cólica e que o seu papel nesta afecção não é muito claro devido à ausência de diagnóstico da maioria dos episódios (81% no estudo referido). O papel do maneio, determinante na prevenção das cólicas, poder-se-á revelar útil no controlo do parasitismo gastro-intestinal: a melhoria do bem-estar do hospedeiro torna-o mais resiliente perante as infecções parasitárias. São necessários mais estudos para averiguar o verdadeiro impacto do maneio e das infecções parasitárias na incidência de cólica em equinos e nomeadamente qual a sua relação com os modernos sistemas de produção equina e maneio desportivo, que incluem a desparasitação intensiva dos animais. Um dado interessante é a menor incidência de cólica no Puro Sangue Árabe, um cavalo mais rústico e seleccionado ao longo de milhares de anos pela sua resistência e carácter, face ao Puro-Sangue Inglês, um animal seleccionado quase exclusivamente pela sua rapidez e aspectos morfológicos em detrimento da resistência e do carácter, a partir de um pequeno núcleo de reprodutores no século XIX.

O impacto económico da cólica parasitária vs gastos em anti-helmínticos químicos

A importância do impacto económico do maneio e da mortalidade das cólicas é importante nos EUA, com uma estimativa de cerca de 70 milhões de dólares em 1998 e 1999 devido à mortalidade, num custo total de 144 milhões com maneio e mortalidade (White, 2008). A população equina é de cerca de 9 milhões e 500 mil nos EUA e 58 milhões em todo o mundo (FAO, 2009), sendo por isso o impacto anual de 72 milhões repartido por cerca de 71,5 dólares por cavalo afectado por ano, considerando a taxa bruta de incidência de 10,6 cólicas/ano em 100 cavalos nos EUA. Podemos depreender que estes custos parecem reflectir o que se passa na realidade americana, face aos custos normalmente associados ao cavalo com cólica que podem ir de 200 a 400 euros em Portugal para cólicas moderadas a graves, sendo as restantes geralmente tratadas pelos proprietários com medicação sob indicação do médico veterinário (de acordo com Tinker *et al*, 2008, 67% das cólicas foram tratadas pelo Médico Veterinário e em 80% foi utilizada medicação). Podemos estimar esta despesa para Portugal, mas não sabemos qual a sua incidência e prevalência (são necessários estudos epidemiológicos).

Uhlinger (1990), num estudo retrospectivo de 5 anos com vários regimes de desparasitação, incluindo a administração de benzimidazóis e de ivermectina, concluiu que no grupo desparasitado regularmente com ivermectina a incidência de cólica diminuía pelo menos para metade face aos outros grupos (podendo diminuir o risco até 13 vezes). Ora se suposermos que um melhor controlo

anti-parasitário por si só diminui pelo menos para metade o risco de incidência de cólica, quando os ciatostomíneos são a sub-família de parasitas gastro-intestinais com maior prevalência actualmente, podemos concluir com base neste estudo que os pequenos estrôngilos serão responsáveis pelo menos por metade das cólicas não diagnosticadas. Com base neste pressuposto e no facto de cerca 81% das cólicas não serem diagnosticadas, se assumirmos que metade (ou mais!) destas poderá ser provocada pelos ciatostomíneos, então eles são responsáveis por metade da despesa associada a cólicas na produção equina moderna nos EUA.

Em Portugal existem cerca de 170000 cavalos, dos quais 100000 são asininos e muares e 70000 equinos de várias raças incluindo cerca de 100 cavalos Sorraia e 1500 Garranos (Fundação Alter Real, 2010). Embora a produção equina não seja tão intensiva como nos EUA, é possível que devido ao mau maneio ou à insuficiente alimentação também ocorram cólicas associadas à ciatostominose: dos 70000 cavalos apenas 8000 adultos e 7000 poldros são puro Sangue Lusitano, e nem todos são criados em condições de maneio tradicional em pastoreio extensivo. A estimativa da FAO para Portugal é de 19000 animais em 2008 (FAO, 2009) mas existe claramente aqui um desfasamento entre as estatísticas: só registados no Stud Book do Puro Sangue Lusitano estão os 15000 animais já citados, para não falar dos outros livros (Puro Sangue Árabe, Puro Sangue Inglês, Anglo-Árabe, Cruzado Português de Desporto...).

Com base nos dados dos EUA e considerando o número de 70000 equinos em Portugal poderíamos estimar uma incidência de cólica de cerca de 7000 cólicas por ano, o que se traduziria numa despesa anual de cerca de 400 000 euros (55 euros em média por animal afectado). Se considerarmos que metade dessas cólicas podem ser provocadas pelo parasitismo gastro-intestinal por ciatostomíneos, teremos uma estimativa anual de gastos com cólicas parasitárias em Portugal de aproximadamente 200 000 euros. Seria interessante comparar estes gastos com os gastos da produção ou manutenção de equinos e com os gastos em anti-parasitários.

O Boletim Estatístico de 2007 da DGV (Direcção-Geral de Veterinária, 2008) apresenta-nos alguns dados sobre evolução do encabeçamento (fêmeas) das raças autóctones de equinos, que tem vindo a crescer desde 1999, mas não fornece dados sobre a produção total de equídeos nem dos valores de produção associados. Também o INE (2009 e 2009a) apenas fornece informação sobre os valores de produção de carne e leite. Assim sendo, apenas podemos calcular os custos de manutenção dos equídeos com base em estimativas: cerca de 500 euros por poldro ao ano e 1000 a 2000 euros por cavalo adulto, ou seja, custos entre cerca de 50 e 75 milhões de euros por ano para o total da população equina. Face a estes custos, os custos por cólica serão de menos de 1% do gasto total com a manutenção dos animais.

Segundo a WAAVP (2007) os antiparasitários constituem quase 30% do mercado da saúde animal a nível mundial em 2006. Caso soubéssemos qual o movimento de negócios associado à saúde animal, poderíamos extrapolar os gastos em Portugal, mas infelizmente os dados fornecidos pelo INE não são suficientes. Adicionalmente, o mercado da saúde em cavalos é extremamente diversificado e os montantes gastos em equinos de lazer e desporto são muito superiores àqueles gastos na produção extensiva. Da nossa experiência pessoal os detentores individuais de pequeno número de cavalos em zona rural desparasitam de uma a quatro vezes ao ano e a sua atitude depende muito do estado de saúde do animal, da sua formação e em grande parte do acompanhamento do veterinário assistente, o que vai ao encontro do inquérito realizado por Martins, Sousa e Madeira de Carvalho (2007). Informação clínica transmitida por colegas que trabalham com criadores de cavalos de desporto vai também no sentido de uma utilização de substâncias *off label* (como o Ivomec[®] – ivermectina injectável para bovinos) para poupar nos custos em AH, descurando a eventual baixa eficácia de tais procedimentos. Apesar de nos últimos anos a frequência de desparasitação ter vindo a aumentar, ainda não atinge os níveis que ocorrem desde há mais de 30 anos nos países de produção intensiva de animais de desporto (como nos EUA, Reino Unido, África do Sul, Alemanha, Países Baixos). A título de exemplo, Nicklin, Kivipelto e Ott (1997) compararam custos entre administração diária de pamoato de pirantel e uso de fenbendazole e ivermectina em rotação com intervalos de 8 semanas e concluíram que o uso rotacional é 6 vezes mais barato que o diário para um cavalo de cerca de 500kg (custos de 17,78 e 3,33 dólares por mês) e os níveis de eliminação de ovos são semelhantes e baixos (abaixo de 500 OPG). Ou seja, é comum a desparasitação 6 vezes ao ano nos EUA, situação que não se verifica em Portugal.

Se assumirmos uma frequência de desparasitação média de cerca de 2 vezes ao ano em poldros e adultos, cada animal implicará um gasto de 20 a 50 euros por ano em AH, o que significa entre 1,5 e 3,5 Milhões de euros por ano. Apesar de ser uma aproximação, este custo representará cerca de 5% dos custos de manutenção dos animais, o que é cerca de 5 vezes mais do que será o custo imputável às cólicas no seu total.

Podemos concluir que o impacto económico das cólicas é cerca de 1% dos gastos de manutenção do animal e cinco vezes inferior aos gastos em AH. Além disso, não sabemos qual a percentagem de cólicas provocadas pelo parasitismo, pelo que será pertinente estudar a incidência de cólica associada à ciatostominose clínica nos poldros em Portugal e os efeitos da administração de AH nesta faixa etária para podermos determinar o verdadeiro impacto económico da ciatostominose em Portugal.

Parâmetros indicadores de saúde nos equídeos com potencial relevância para o controlo da ciatostominose

1. Taxa de eliminação de ovos

Acerca do equilíbrio hospedeiro-parasita: o que acontece na Natureza

O que são níveis de eliminação normais ou esperados sem sintomatologia clínica associada?

Com o advento dos anti-parasitários modernos (químicos) tem-se tornado cada vez mais difícil saber quais seriam os níveis de eliminação de ovos esperados naturalmente para determinado animal ou grupo, e igualmente que níveis de eliminação e outros factores são predisponentes a doença clínica ou morte do indivíduo. Tudo isto torna muito difícil saber o qual a eliminação de ovos considerada "normal", ou dentro de "valores de referência". Ou seja: a excreção em que o hospedeiro está saudável, em equilíbrio com a sua carga parasitária. À semelhança dos vários parâmetros biológicos mensuráveis (clínicos, hematológicos etc) que se encontram bem delimitados dentro de valores de referência para cada espécie e raça, não se deverá ponderar acerca dos valores mensuráveis associados ao parasitismo por estrôngilídeos nos equídeos, tal como a contagem de ovos fecais?

Creio que esta abordagem possa abrir caminho para uma melhor compreensão do fenómeno e para um uso mais racional dos anti-helmínticos, por forma a diminuir o aparecimento de fenómenos de resistência e permitir a manutenção de um bom arsenal terapêutico. Obviamente que a questão do controlo do parasitismo não é assim tão simples e as variações individuais associadas à imunidade como a idade, sexo, raça, estado fisiológico, exposição ao parasita, assim como o valor económico dos animais, não possibilitam que a eliminação seja o único factor a ser considerado. No entanto creio que é um passo a ser dado, e que em conjunto com a medição de outros indicadores biológicos nos dará uma resposta mais eficaz e um controlo AH mais selectivo (individualizado).

Como obter estes dados? Apesar de idealmente se pretenderem dados apenas de populações selvagens não expostas a AH, não existem dados suficientes e podem também não ser extrapoláveis, uma vez que o nosso cavalo é um animal doméstico sujeito a ambientes de diferentes graus de artificialidade, além de diferentes raças ou populações poderem exhibir diferentes reacções

imunitárias ao parasitismo. Um compromisso razoável será o de tentar reunir o máximo de informação a partir dos estudos efectuados, tais como contagens prévias e contagens após o PRO do AH estudado, contagens de grupos de animais sujeitos a menor grau de desparasitação, por exemplo, e interpretação cuidada desta informação, tarefa essa a que nos propusemos e que passamos a expor em seguida.

A eliminação parasitária normal em cavalos adultos

Da análise dos estudos constantes do Anexo VI podemos estabelecer que tanto animais pouco ou não desparasitados (ND) em pastagem, como animais desparasitados regularmente (D), apresentam as variações sazonais esperadas para o tipo de clima. Com base nestes dados podemos estabelecer limites aceitáveis de eliminação para animais adultos sem sintomatologia clínica associada:

- **Limites mínimos** (ocorrem geralmente durante o Inverno em climas temperados) com médias de 300 a 500 OPG (ND, Poynter, 1954), 400 OPG (ND, Duncan, 1974) 300 (D, Craig, Bowen e Ludwig, 1983); 400-500 OPG (ND, Herd, Willardson e Gabel, 1985); 200 OPG (ND, Slocombe, Valenzuela e Lake, 1987); 400 OPG (ND, Courtney e Asquith, 1985); 250 a 500 (D, Herd, 1986); 1000 (Fusé, Castillo e Saumell, 1992); 500 (ND, Caeiro, 1998); 200 (ND, Mage, 1996); 179 ± 197 (ND, Mage, Arnaud, Flochlay e Blond-Riou, 1998); 500 (D regularmente, éguas e poldros pasto, Madeira De Carvalho, Afonso-Roque, Gomes e Fazendeiro, 2007c).
- **Limites máximos:** individualmente 1000 a 5000 OPG, médias de grupo 1000 a 3000 – 1750 OPG (ND, Poynter, 1954); 2000 OPG (ND, Duncan, 1974); 3000 (D, Craig, Bowen e Ludwig, 1983); 3080 OPG (animais em sobrepastoreio e desparasitados regularmente, Webster, Baird, Gunawan, Martin, Kelly, 1981); 2366 OPG (ND, Herd, Willardson e Gabel, 1985); 1200 OPG (ND, Slocombe, Valenzuela e Lake, 1987); 1600 OPG (ND, Courtney e Asquith, 1985); 1800 OPG (D, Herd, 1986); 1000 a 3000 (D e ND, Eysker, Boersema, Kooyman e Bergen, 1988); 3000 (Fusé, Castillo e Saumell, 1992); <1000 (várias idades, pasto, ND, Eydal e Gunnarsson, 1994); média geométrica cerca de 2000 OPG, máximo 4200 (80 éguas a pasto D regularmente a cada 6 a 8 semanas, Campos-Pereira, Kohek, Campos, Lima e Foz, 1991); 1800 (ND, Caeiro, 1998); 1600 (ND, Mage, 1996); 2000 a 2500 (ND, Paulrud, Pedersen e Eydal, 1997); 1120 (ND, Brillard, 1997); 1576 ± 1188 (ND, Mage, Arnaud, Flochlay e Blond-Riou, 1998); 897 a 2125 (ND, Pais Caeiro, 1999); 1670 ± 1105 (ND, Davies e Schwalbach, 2000); 317 a 1845 (D regularmente, Mathee, Dreyer, Hoffmann e van Niekerk, 2002); máximo 1600 OPG (16 pónes Dartmoor nunca

desparasitados, Coles, Hillyer, Taylor e Villard, 2003); 5000 (D regularmente, éguas e poldros pasto, Madeira De Carvalho, Afonso-Roque, Gomes e Fazendeiro, 2007c).

Os dados reportam-se a eliminações de animais em climas temperados frios e quentes (incluindo os subtropicais) e podemos observar que não obstante as diferentes localizações geográficas, as eliminações parasitárias médias se encontram na sua maioria entre 1000 e 3000 OPG, sendo a única excepção a eliminação das éguas no pico de Primavera do trabalho português (Madeira De Carvalho, Afonso-Roque, Gomes e Fazendeiro, 2007c). Com base nos desvios padrão fornecidos e nos dados relativos a máximos individuais, podemos assumir que a maioria dos indivíduos adultos apresenta eliminações máximas entre 1000 e 5000 OPG sem sinais clínicos de doença associada.

O fenómeno dos high shedders ou de eliminadores de OPG elevados

Na população adulta há um pequeno número de indivíduos que apresenta contagens significativamente mais elevadas que as do grupo e que podem ser considerados *high shedders*: numa população de 100 animais em 13 quintas, desparasitados regularmente mas sem controlo fecal, havia médias de eliminação de 1000 a 1700 OPG, que vão ao encontro do que observámos, mas alguns animais apresentavam valores extremos de 5650 OPG em Maio, a 11050 e 123000 em Julho e Agosto (Slocombe e McCraw, 1973). Noutro estudo Herd (1986) detectou um pônei *high shedder* num grupo de 11 animais: apesar da desparasitação frequente este animal apresentava sempre contagens mais elevadas que os restantes. Nos estudos que nos fornecem os dados relativos às contagens individuais este fenómeno verifica-se, havendo sempre alguns indivíduos com contagens que se situam no extremo da distribuição normal do grupo.

É importante esclarecer que para a maioria dos autores, estes *high shedders* ou eliminadores elevados são animais que eliminam mais que o grupo desparasitado e os valores considerados são muito baixos (150 ou 200 OPG!!!) e advêm da ideia que a eliminação parasitária deve estar abaixo destes valores. Em Inglaterra, os dados de um estudo em 188 cavalos de 43 estabelecimentos mostra que a utilização de AH é intensiva e apesar disso não se conseguem manter os animais com eliminações abaixo de 100 ou 200 OPG: 90% dos animais encontram-se a eliminar menos de 500 OPG, 5,3% entre 500 e 1000 e 3,2% entre 1000 e 1500 e 1,1% >1500 (Lloyd, Smith, Connan, Hatcher, Hedges, Humphrey e Jones, 2000).

O caso curioso da eliminação nula: Equus hemionus onager

Embora seja reconhecida a eliminação parasitária de ovos na maioria dos equídeos domésticos e selvagens, sejam eles cavalos, burros, mulas ou zebras, há uma espécie ameaçada de equídeo, o

Equus hemionus onager que apresenta eliminação parasitária nula. Este achado foi acidental e decorreu dos controlos fecais após a administração inicial de AH no Chester Zoo, que evidenciaram contagens nulas durante dois anos sem controlo anti-helmíntico (Dagleish, Ashley, Marley, Mackenzie, McDonald, Siah e Sanderson, 2004). Estes animais são comumente designados como burros selvagens ou onagros e encontram-se nas zonas desérticas do Tibete, Mongólia, Kazaquistão, sul da Rússia e médio oriente. As razões pelas quais a eliminação é nula não são conhecidas, mas o facto do seu habitat ser tipicamente muito seco, característica partilhada pelas suas fezes, poderá ser a razão pela qual parasitas com estádios infectantes de vida livre não são encontrados nesta espécie.

A eliminação parasitária nos poldros

Os poldros apresentam valores individuais de eliminação muito diferentes dentro do mesmo grupo etário:

- poldros de ano na Cantábria (Espanha) a pasto apresentam excreções de 400 a 9750 OPG com média de 2000 OPG (Garcia-Perez, Muñoz, Povedano e Juste, 1994);
- poldros de 1 ano a 1,5 anos na Alemanha com contagens de 150 a 2100 OPG (não desparasitados e previamente no pasto, Bauer, Cirak, Hermosilla e Okoro, 1998);
- 4 grupos anuais de 25 poldras crioulas argentinas de 9 a 11 meses de idade não desparasitadas em pastoreio, com picos máximos de 1826 a 3845 OPG no Verão e 450 a 1100 no fim do Inverno, sem que os animais apresentassem sinais clínicos associados (Fusé, Saumell, Rodriguez e Passucci, 2002);
- poldros de mama em pastagens de sequeiro com as mães apresentam contagens até 3000 OPG e poldros de ano apresentam contagens baixas no Inverno (500 OPG) mas durante o resto do ano entre 2000 e 5000 OPG (Madeira De Carvalho, Afonso-Roque, Gomes e Fazendeiro, 2007c);
- poldros de mama 1000-3000 OPG (picos de Abril, Julho e Dezembro, Madeira de Carvalho *et al*, 2002);
- poldros de 1 a 3 anos em pastoreio 5000 OPG no pico de ovos de Abril (picos Setembro/Outubro 2000 a 4000 OPG, Madeira de Carvalho *et al*, 2002).

Estas disparidades nas eliminações em animais mais jovens entre diferentes localizações geográficas e dentro dos mesmos grupos sugere que é necessário avaliar o grupo para estimar as médias esperadas em determinado sistema de produção e individualmente os poldros, para averiguar a existência de eliminações significativamente mais elevadas face às médias do grupo, intervindo apenas na presença de sinais clínicos associados (Madeira de Carvalho e Gersão, 2008a).

A variação diária da eliminação de ovos

Um dado interessante do estudo de Dorchies, Ducos de Lahitte, Flochlay e Blond-Riou (1998) é o de que as eliminações parasitárias variam diariamente: num período de 14 dias de avaliação a média geométrica varia entre 540 e 2045 no grupo controlo não desparasitado (grupo com 6 animais com 8 a 10 meses de idade).

Dos estudos publicados podemos verificar que existe uma consistência nas avaliações das variações sazonais das médias de eliminação dos grupos de animais, mas este trabalho alerta-nos para a possível variação da eliminação individual em diferentes dias e sugere que nos casos de contagens elevadas as mesmas devem ser repetidas para confirmação.

A ausência de sinais clínicos em animais com eliminações elevadas

Vários autores referem a ausência de sinais clínicos apesar da existência de eliminações acima de 1000 OPG: Eysker (1983); Slocombe, Valenzuela E Lake (1987); Mage (1996); Brillard (1997); e Garcia-Perez, Muñoz, Povedano E Juste (1994).

O nível de eliminação de ovos como indicador de stress

As reacções individuais a elevados níveis de stress psicológico e fisiológico como as que ocorrem em poldros de 3 anos na altura da estabulação e desbaste podem ser responsáveis pelo aumento de excreção parasitária devido a imunossupressão do hospedeiro (Madeira de Carvalho, 2001; Gersão e Madeira de Carvalho, 2005). Assim, as contagens individuais sucessivas podem dar-nos pistas acerca de como o animal está a lidar com o stress: subidas súbitas acima de 3000 ou 5000 OPG após contagens mais baixas anteriores são um sinal de que o animal não está a lidar convenientemente com o stress e de que poderá ser necessário melhorar o manejo nutricional ou de trabalho, assim como proceder a uma intervenção terapêutica com AH.

2. Condição corporal

Índices zootécnicos em animais em crescimento

Um dos parâmetros produtivos utilizados como medida indicadora de saúde é o ganho diário médio de peso ou o ganho anual médio de peso, assim como o índice de conversão. São parâmetros comumente utilizados na produção de animais de carne dado o lucro estar directamente associado ao ganho de massa muscular e gorda, mas por vezes também são utilizados na produção equina para avaliar o manejo de animais em fase de crescimento, onde as diferenças provocadas pela qualidade e quantidade alimentares ou pela desparasitação são significativas (à semelhança dos suínos de engorda, por exemplo).

Alguns autores consideraram este parâmetro zootécnico na avaliação de diferentes programas de desparasitação em poldros. Fusé, Saumell, Rodriguez e Passucci (2002) num estudo de três anos de duração com 300 poldras de raça Criola entre os 9 e os 11 meses de idade concluíram que animais não submetidos a desparasitação tinham um ganho médio anual de peso de menos 40Kg comparativamente a animais desparasitados mensalmente. Comparativamente a grupos desparasitados 4x ao ano, ainda ganhavam 18 a 26Kg a menos. As diferenças de ganhos de peso entre grupos desparasitados mensalmente e 4x ao ano não eram significativas. Os autores concluem que o controlo estratégico tem resultados práticos no controlo da ciatostomiose subclínica, fazendo com que os animais apresentem melhores índices de crescimento sem recorrer a elevadas frequências de desparasitação.

Os animais não desparasitados do estudo anterior apresentavam menores ganhos de peso mas as eliminações de ovos eram equiparáveis às dos outros grupos e não apresentaram sintomatologia clínica, pelo que se poderia ponderar acerca da necessidade de maiores ganhos de peso em equinos jovens, uma vez que se destinam geralmente a animais de desporto, trabalho ou lazer, e não a animais de carne. São animais que se pretendem à partida resistentes e resilientes à infecção parasitária e outras patologias, dada a sua longevidade. Por este motivo, só pode ser compreendida a sua “engorda” quando a venda ocorre por volta dos dois anos de idade (como no caso dos Puro Sangue Inglês para corridas) e interessa apresentar um “produto” com melhores características de desenvolvimento. Infelizmente este é o caso nos animais de corrida que começam a correr muito precocemente aos 2 ou 2,5 anos de idade quando ainda não está completa a maturação do seu sistema músculo-esquelético (que ocorre por volta dos 5 aos 7 anos de idade). O efeito desta

utilização precoce é geralmente desastroso, podendo os animais sofrer lesões musculoesqueléticas graves e inclusive fracturas dos ossos longos dos membros, além de uma vida desportiva curta. Infelizmente isto também ocorre em éguas de reprodução das raças de desporto: uma égua por nós observada que parecia ter 17 a 20 anos de idade devido ao seu aspecto (depressões supraorbitárias pronunciadas, dorso selado, má conformação e má condição geral) tinha apenas 4 anos de idade (estimados a partir do exame dentário), mas era utilizada como reprodutora desde os 2,5 anos!

Avaliação da condição corporal (CC)

Não obstante as diferentes posturas quanto à criação e uso dos animais, o ganho médio diário de peso é uma ferramenta útil em animais em crescimento, sobretudo se estiver padronizado para determinada raça. No entanto, como hoje em dia a maioria dos equídeos se destina a uma utilização de lazer ou desporto, quando abordamos o controlo do parasitismo vemo-nos na maioria dos casos confrontados com animais jovens adultos ou adultos, de várias raças, sexos idades e manejo, portanto já desenvolvidos. Como avaliar então o efeito do parasitismo na constituição corporal em diferentes raças e morfologias?

A solução encontrada e de uso generalizado é a utilização de uma escala de avaliação da condição corporal que indirectamente nos fornece informação acerca da quantidade de gordura subcutânea depositada em locais preferenciais e que é comumente utilizada para ajustar o manejo alimentar dos animais, sejam eles equídeos de desporto, de lazer ou de reprodução. Existem várias escalas e respectivos métodos de avaliação da CC descritos e utilizados no mundo para as várias espécies animais, sejam elas de produção, desporto ou companhia. Nos cavalos são utilizadas internacionalmente: a escala de 1 a 9 da Texas University (Henneke *et al*, 1983), a escala de 0 a 5 na Austrália (Corrol e Huntington, 1988) e a escala francesa de 0 a 5 (Institut National de Recherche Agronomique – INRA).

Martin-Rosset. (2006, INRA) conclui após a realização de um extenso trabalho de avaliação do crescimento e da evolução das distribuições da gordura corporal que existe uma boa correlação entre as notas atribuídas de 0 a 5 e a taxa de depósitos adiposos totais do animal (r^2 entre 0,910 e 0,96) e acrescenta que a aplicação da notação é essencial na recomendação dos aportes nutricionais seja em animais em crescimento, nos ciclos de reprodução nas éguas ou para melhorar a performance do animal de desporto e de lazer.

No entanto deve-se ter em conta que a estrutura óssea, a constituição muscular e a deposição de gordura variam ligeiramente nas diferentes raças de cavalos, devendo o avaliador conhecer a morfologia padrão e as variações de acumulação de gordura na raça de interesse (Caldeira, 2006). O

Puro Sangue Lusitano, por exemplo, tem um garrote muito pouco saliente e bem coberto por gordura subcutânea, ao contrario da maioria das outras raças de sela, e um animal inteiro tem um pescoço com maior acumulação de gordura que um animal castrado. Maior diferença apresentam os asininos, por acumularem preferencialmente a gordura na zona da garupa e base da cauda, podendo um animal obeso parecer falsamente em forma caso apenas se considere a descrição preconizada para equídeos.

Condição corporal, saúde e parasitismo

A condição corporal é utilizada por muitos autores como índice de saúde na avaliação do parasitismo gastro-intestinal por estrogilídeos e da eficácia de regimes de desparasitação. A título de exemplo, Reinemeyer, Farley e Clymer (2003) usaram o peso e a condição corporal para avaliar a eficácia de dois regimes larvicidas em poldros.

Seguidamente serão expostos quatro estudos epidemiológicos com dados relevantes para a compreensão da importância do parasitismo e do seu controlo na condição corporal dos animais estudados.

Um grupo fechado de cerca de 10 éguas e um garanhão foram mantidos num pasto em sistema fechado sem desparasitação desde 1979 e estudadas *post mortem* as infecções parasitárias em 92 poldros com menos de um ano durante de 1989 a 1999 (Lyons, Tolliver, Collins e Drudge, 2001; Lyons, Tolliver, Collins, Drudge e Granstrom, 1997). O estudo foi realizado no Kentucky (clima subtropical) e o encabeçamento foi mantido entre 1,2 e 2 animais/ha (condições de ligeiro sobrepastoreio referidas pelos autores). No período de estudo de 1989 a 1999 não houve problemas clínicos associados ao parasitismo, considerando os autores que os animais mantiveram “parasitismo subclínico”. Os autores acham o facto interessante, sobretudo devido às infecções dos poldros de cada ano com *P. equorum* e *S. vulgaris*. 50 a 150 adultos no intestino e 50 a 400 larvas de *S. vulgaris* na AMC, embora as lesões e prevalência tenham diminuído e estabilizado nos últimos 4 anos do estudo com 100 larvas/animal e lesões ligeiramente menos severas. Os números de *Parascaris equorum* no intestino eram de cerca de 3500 no mês de Maio e abaixo de 500 resto do ano. Os números de ciatostomíneos enquistados registaram valores de 5000 a 35000 ao longo do ano, com maior incidência no Inverno.

Mage, Trillaud-Geyl e Arnaud (1995) estudaram o controlo da contaminação da pastagem com a utilização de IVM em poldras de tiro de raça Bretã com 11-13 meses de idade antes da época de pastoreio e utilizaram a avaliação da condição corporal como indicador de saúde (animais considerados em bom estado com nota $\geq 2,5$). Os animais com OPG mantido abaixo de 500 devido a

um tratamento adicional a meio da época de pastoreio mantiveram boa CC (100%) e os do grupo não desparasitado com OPG de 500 a 1000 apenas 92% mantiveram a boa CC, em pastagens equivalentes. Esta diferença pode não ser significativa se considerarmos que cada grupo tem um número reduzido de animais (10) mas mostra o possível impacto negativo do parasitismo gastro-intestinal.

Num outro estudo de Mage (1996), 50 éguas de tiro de raça Bretã com 3 anos foram mantidas durante 3 anos sem desparasitação em regime de pastoreio com encabeçamento 1 animal/ha, sendo os pastos divididos em 8 parcelas de 50ha, cultivados e pastoreados alternadamente de Abril a Novembro. Durante o Inverno eram estabuladas e alimentadas com alimentos variados e de bom valor nutritivo. Os pesos médios foram 700Kg no 1º e 2º anos a 800Kg no 3º ano e os animais mantiveram boa CC com notação corporal média acima de 3,5 (3,33 a 4,21) durante o estudo. Os autores observam a diferença da importância da contaminação do pasto pelas éguas, cerca de 10 vezes inferior à de poldras (14000 vs 177000 L3/Kg erva seca, Mage *et al*, 1995) e a eliminação de ovos foi também menor (máximos de 1000 OPG médio vs 1750 nas poldras). Os autores observaram que as medidas zootécnicas executadas mostram que em boas condições de manejo a infestação gastro-intestinal não tem repercussão sobre a saúde nem sobre o seu estado fisiológico (gestação, aleitamento ou reprodução). Consideram que as éguas se encontram num estado de parasitismo tolerável de acordo com a CC e chamam a atenção para o facto de estes resultados estarem estreitamente ligados ao manejo da pastagem praticado e que são dificilmente transponíveis para cavalos criados em *paddock* ou sistemas com sobrepastoreio durante o ano.

Mage, Arnaud Flochlay Blon-Riou (1998) compararam 2 grupos de 14 éguas Bretãs a pasto com 2 a 15 anos de idade nas condições já descritas, 1 grupo controlo não desparasitado e outro desparasitado com MOX 2 meses após a saída para o pasto. Embora a contaminação do pasto e as eliminações de ovos pelo grupo desparasitado sejam significativamente menores, mais uma vez não existem diferenças significativas na saúde e CC dos animais não desparasitados devido ao bom manejo alimentar.

Mathee, Krecek, Milne, Boshoff e Guthrie (2002) observaram o efeito da MOX a meio do inverno em 24 burros autóctones (2 a 15 anos) a pasto desde a Primavera anterior. As eliminações de ambos os grupos até à desparasitação não apresentaram diferenças significativas (entre 444 e 1097 OPG) e depois desta os grupos desparasitados retomaram médias de eliminação inferiores às iniciais em cerca de metade, mantendo-se abaixo dos 500 OPG até 3 meses após a desparasitação. No entanto o manejo não foi idêntico para todos os grupos, pois houve rotação de pastos entre animais desparasitados e não desparasitados, e a necrópsia de 8 animais (4 não desparasitados e 4

desparasitados) não revelou diferenças significativas nas cargas de parasitas luminiais. No entanto, a necrópsia só foi feita 8 meses depois da desparasitação e é importante realçar que o encabeçamento era variável e rotativo, entre 12,7 animais/ha e 4,8 animais/ha (sobrepastoreio). Quanto à condição corporal, era 4/9 no início do estudo (boa) e manteve-se no grupo não desparasitado. No grupo da MOX aumentou 1 grau em média: o aumento de peso foi superior em cerca de 7% (3,5 a 20,5 Kg). O hematócrito e a hemoglobina aumentaram em 14% nos animais desparasitados e 3,5% nos outros. No entanto esta análise refere-se a médias num número baixo de animais com idades díspares em que o maneio não foi homogéneo e as contagens individuais também não, e por isso a única conclusão que podemos tirar com certeza é que a moxidectina reduziu a eliminação fecal de ovos nos animais desparasitados durante pelo menos 2 a 3 meses (abaixo de 500 OPG de média) e contribuiu para a melhoria média da CC e dos parâmetros hemáticos em condições de sobrepastoreio.

3. Etologia: sinais comportamentais indicativos de stress

Há factos extremamente importantes relativamente ao comportamento do cavalo que são frequentemente ignorados pelos donos, como frisa Desmond Morris no seu “Guia Essencial do Comportamento do Cavalo” (2006): muitos donos não conhecem bem os sinais transmitidos pelas várias posturas corporais nem as necessidades comportamentais essenciais, com destaque para as necessidades sociais e alimentares. O cavalo é uma criatura muito inteligente e sociável, que estabelece laços afectivos com muita facilidade com outros cavalos e com o Homem, não estando habituado a estar sozinho. No entanto, com a crescente falta de espaço associada à actual produção e à detenção de equinos, eles são frequentemente alojados em boxes, o que limita o contacto com outros animais. Considerando ainda que em estado selvagem o cavalo é um animal que passa cerca de 16 horas por dia a comer e que a sua dieta é bastante variada e para além de erva inclui também frutos, flores, bagas, nozes, raízes e até plantas aquáticas (Morris, 2006), podemos considerar que o ambiente de uma boxe é muito pobre e restritivo, sendo causa de tédio e frustração: não só a dieta é pobre e desinteressante, como não se pode mexer à sua vontade nem ser confrontado com estímulos ambientais ou sociais novos (não devemos esquecer que em estado selvagem, as manadas percorrem cerca de 25Km por dia entre locais de pasto, bebedouros e locais de dormida, em pastagens de 45 a 128Km² – Morris, 2006). O tédio é por isso generalizado entre os animais estabulados, em maior ou menor grau, conforme o seu ambiente seja mais rico ou mais pobre a nível alimentar e social, através da interacção com outros animais ou com o Homem. Felizmente a maioria dos animais estabulados não apresenta sinais óbvios de aborrecimento, os chamados “vícios”, como o morder a manjedoura, engolir ar (aerofagia), bater com a pata na porta da boxe ou fazer “birra de urso” (sinal típico dos animais de cativeiro, mamíferos e aves, que oscilam o corpo ou o pescoço lateralmente, de forma ritmada e contínua, por vezes durante horas). A “birra de urso” não é observada em cavalos em estado selvagem e é sinal de que o ambiente é demasiado pobre e o animal não consegue lidar com o cativeiro a que está sujeito (Morris, 2006). Existem outros sinais mais subtis associados a posturas corporais que evidenciam aborrecimento, como as orelhas caídas lateralmente, mas não são tão fáceis de avaliar e podem ser confundidos com sinal de doença ou com cansaço. Como para qualquer mamífero, todo o seu comportamento é complexo e exige uma interpretação face ao contexto em que é demonstrado.

As diferentes raças apresentam diferentes capacidades de adaptação ao stress imposto pela estabulação, como tem vindo a ser demonstrado por estudos de comportamento: cavalos lusitanos estabulados apresentam comportamentos de stress menos frequentemente que outras raças como o

Puro Sangue Inglês, o Brasileiro de hipismo e o Mestiço (Rezende, McManus, Martins, Guimarães de Oliveira, Garcia e Louvandini, 2006), mostrando-se mais adaptados às condições de cativeiro (não apresentaram o vício da aerofagia como as outras raças e eram mais curiosos face ao ambiente exterior). Num estudo equivalente realizados para as raças de trabalho Bretã e Percheron em estabulação (Rezende, Mcmanus, Paludo, Martins, Guimarães De Oliveira, Fuck e Louvandini, 2006a) os autores concluíram que embora a raça Bretã apresentasse menos distúrbios comportamentais que a Percheron, ambas reagem com vários sinais de stress ao confinamento, aligeirando-se esses sinais com o aumento da frequência de exercício. A selecção das diversas raças em condições de manejo específicas para as mesmas parece estar relacionada com a reacção ao *stress* da estabulação. O Lusitano é criado há muitos séculos com a estabulação de garanhões a partir dos 4 anos, sendo as éguas e poldros mantidos no pasto, e a selecção é feita tradicionalmente com base num conjunto alargado de caracteres morfológicos, comportamentais, reprodutivos e funcionais que parece ter contribuído para a selecção específica de animais mais calmos e adaptáveis ao manejo (Andrade, 1790; Cordeiro, 2005). Já os animais de tiro franceses são tipicamente animais de trabalho e não de guerra, mantidos nos campos para trabalhos pesados durante várias horas por dia e não estabulados na maioria dos casos, o que poderá explicar a grande necessidade de exercício e actividade para evitar comportamentos de *stress*.

Stress, imunidade e parasitismo

A importância da adaptabilidade ao *stress* poder-se-há revelar interessante no manejo das várias raças, pois é sabido que níveis de *stress* elevados podem provocar imunossupressão quando os animais não conseguem lidar com ele. O caso típico de elevados níveis de *stress* são os cavalos de corrida, que se encontram confinados à sua boxe ou baia durante longos períodos de tempo entre os treinos e que quando saem é geralmente para correr o mais que podem como se fugissem de algum predador imaginário, durante um curto espaço de tempo, mas sem poderem expressar convenientemente os seus comportamentos sociais e motores. Assim, não é de admirar que nestes animais e noutros de competição a alto nível apareça uma elevada incidência de úlceras de estômago com origem nervosa: de 53 a 93% de prevalência consoante o tipo de actividade, sendo factores de risco a dieta, a alimentação intermitente, os AINES e sobretudo a intensidade de exercício (*stress* fisiológico), o *stress* do transporte e o confinamento à baia (Andrews, Buchanan, Elliot, Clariday e Edwards, 2005). Um estudo em cavalos *standardbred* de corrida na República Checa apresentaram uma prevalência de 62,5% de úlcera gástrica à gastroscopia, comparáveis com os relatados 63% no PSI em treino intenso, após uma prevalência de 28% no início do treino

(Bezdeková, Jahn, Vysocil e Plachy, 2005). Alexander e Irvine (1998) revêm os mecanismos hormonais da resposta do atleta equino ao stress e concluem que quando a resposta não é adequada e o animal não é capaz de lidar com o stress há três indicadores de stress crónico que são facilmente monitorizáveis: 1) perda do ritmo circadiano de cortisol, 2) diminuição da globulina transportadora de corticosteróides e consequente aumento do cortisol livre e 3) resposta reduzida de ACTH (e cortisol) à estimulação com dose baixa (2µg) de CRH equina ou humana. Ocorre portanto uma situação crónica de imunossupressão.

Um modelo experimental para mieloencefalite protozoária equina (em que foram utilizados ratinhos KO para interferção gama para determinar os esporocistos viáveis de *Sarcocystis neurona* para inocular nos equídeos) sugere que o *stress* de transporte pode ter um papel importante na patogénese da doença e que a elevada prevalência de anticorpos do parasita no líquido cefaloraquidiano de cavalos normais parece indicar que existem naturalmente animais portadores assintomáticos (Saville, Stich, Reed, Njoku, Oglesbee, Wunschmann, Grover, Larew-Naugle, Stanek, Granstrom e Dubey 2001). Existem poucos estudos disponíveis sobre parasitismo e *stress* em cavalos, mas há dados interessantes de que o parasitismo gastro-intestinal por nemátodes (*Trichinella spiralis* em ratinhos) ao estimular uma resposta imunitária de tipo predominante Th2, evita a resposta Th1 associada às doenças auto-imunes como a Doença Inflamatória Intestinal, mais frequentes em países desenvolvidos com baixas taxas de infecção parasitária gastro-intestinal por nemátodes (Khan, Blennerhasset, Varghese, Chowdhury, Omsted, Deng e Collins, 2002). Estes dados dão-nos uma ideia acerca do papel do *stress*, que poderá desencadear imunossupressão temporária nalguns indivíduos, e acerca do papel dos parasitas nemátodes gastro-intestinais, que poderão afinal constituir uma relação simbiótica evolutiva com os hospedeiros ao longo de dezenas de milhões de anos de co-evolução.

Em conclusão, o cavalo estabulado enfrenta três grandes causas putativas de *stress* crónico que podem afectar o seu equilíbrio com os parasitas: o empobrecimento ambiental (e social), a falta de actividade física suficiente e a maior ou menor violência física e/ou psicológica associada ao seu manejo.

Avaliação da Eficácia e Fenómenos de Resistência dos Anti-helmínticos

Recomendações internacionais da WAAVP

Na tentativa de uniformizar o planeamento, os procedimentos e a interpretação dos estudos para avaliar a eficácia de Ah em parasitas internos de equídeos, Duncan, Arundel, Drudge, Malczewsky e Slocombe publicaram em 1988 as "*World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) guidelines for evaluating the efficacy of equine anthelmintics*", que foram aprovadas pelos comités de interesse da WAAVP. O objectivo das directivas era não apenas o de ajudar os investigadores mas também as autoridades de registo (como o INFARMED em Portugal) na avaliação dos compostos, através do uso de procedimentos estandardizados e comparáveis utilizando um número mínimo de animais. Em 2002 foi feita a última revisão das recomendações para a avaliação da eficácia de antihelmínticos em equinos (Duncan, Abbott, Arundel, Eysker, Klei, Krecek, Lyons, Reinemeyer e Slocombe). Abaixo são apresentadas as recomendações originais e referidas as mudanças subjacentes à última revisão.

Os autores sublinham que embora seja correntemente utilizado o termo anti-helmíntico (AH) nas recomendações, elas aplicam-se também ao estudo de eficácia sobre as larvas das moscas do berne, *Gasterophilus spp* (Classe Insecta), que são parasitas não helmintos que ocorrem comumente no estômago dos cavalos. Apresentam as vantagens e desvantagens dos testes críticos (CT) e dos testes críticos controlados (CCT) em infecções naturais e experimentais, informação sobre a escolha dos animais, o maneo, a titulação das doses, ensaios confirmatórios e ensaios clínicos, registos e procedimentos na necrópsia.

Os CT e aos CCT são testes de avaliação de eficácia de AH na redução dos estádios dos parasitas de interesse em que são contabilizados os parasitas excretados nas fezes durante o ensaio e os que permanecem à necrópsia, podendo ainda ser comparadas as cargas parasitárias remanescentes com as cargas de um grupo controlo não desparasitado. Para avaliar a eficácia contra os grandes

estrôngilos (*S. vulgaris*, *S. edentatus* e *S. equinus*), que fazem migrações somáticas extensas e que requerem entre 6 a 12 meses após a infecção para se tornarem adultos maduros no intestino, os autores indicam que os animais testados devem ter mais de um ano de idade. Para os pequenos estrôngilos, com mais de 30 espécies que demoram 6 a 12 semanas no seu desenvolvimento, é possível testar animais com vários meses de idade mas é também recomendado pelos autores que os testes sejam feitos em animais com mais de um ano para avaliar a eficácia contra os grandes estrôngilos.

A testagem da eficácia contra os estádios larvares dos parasitas equinos de maior importância merece destaque nas directivas WAAVP e os autores recomendam o exame das zonas preferenciais durante a necrópsia: artéria mesentérica cranial para *S. vulgaris* e tecido retro-peritoneal para *S. edentatus*, mucosa do intestino grosso para larvas L3 e L4 de ciatostomíneos. Aconselham a enumeração das larvas e dos estádios larvares de ciatostomíneos, sugerindo as técnicas de digestão e de iluminação. No que diz respeito às larvas de *P. equorum*, muito prevalente em animais dos 4 aos 18 meses de idade, os autores aconselham apenas infecções experimentais dada a dificuldade de detecção das mesmas no tecido pulmonar.

Nos ensaios clínicos o efeito anti-parasitário é determinado frequentemente através das contagens de ovos e por vezes de larvas. Os autores recomendam a recolha de fezes nos dias 7 e 14 após tratamento e recomendam o uso de 1 animal controlo para cada 4 animais tratados. Aconselham ainda um número de animais tratados de cerca de 300 em pelo menos 3 zonas climáticas diferentes e recomendam o uso de técnicas de ensaio cego ou duplamente cego. É de notar que no CT ou CCT o número de animais recomendado por grupo é de apenas 6 a 10 animais de 1 a 2 anos de idade.

No que concerne a análise estatística, os autores defendem que quaisquer questões relativas ao procedimento devem ser discutidas com um estatístico com autoridade no campo de estudo em causa. E acrescentam os testes estatísticos que podem ser utilizados em testes críticos e testes críticos controlados, sugerindo que sejam conduzidos testes paramétricos e não paramétricos, sendo que nos testes paramétricos os dados devem ser transformados em logaritmos. Esta referência aos cuidados a ter na análise estatística é apenas referida na primeira edição das recomendações. Na revisão de 2002 os autores enfatizam a necessidade de registo de mais informação biométrica no planeamento dos protocolos experimentais, introduzem algumas alterações relativas a melhorias de protocolo nos testes de eficácia contra ténias e actualizam a informação dos protocolos de enumeração e identificação de estágios larvares de ciatostomíneos com a digestão e a transiluminação, enunciando as técnicas laboratoriais mais utilizadas. A eficácia é considerada pelos autores quando existe uma redução com base na média aritmética maior ou igual a 90% no

número de parasitas desde que exista uma diferença estatisticamente significativa entre animais controlo e tratamento.

Em 2001 foram publicadas recomendações de eficácia em anti-helmínticos depois de submetidas a harmonização internacional na sequência de um programa internacional de cooperação entre a indústria farmacêutica e as entidades reguladoras da introdução no mercado (Vercruysse, Holdsworth, Letonja, Barth, Conder, Hamamoto e Okano, 2001). As recomendações foram feitas a nível geral e a nível específico para bovinos, ovinos e caprinos. A nível geral os autores recomendam a realização de CCT e consideram os CT não fiáveis em ruminantes. Em estudos de campo consideram os métodos de contagem de ovos e larvas como método preferido e acrescentam que se deve adequar a infecção à prevalência regional ou aos dados históricos e estatísticos. Acrescentam ainda que nos testes de eficácia a estágios hipobióticos se deve almejar um período máximo de acumulação para a espécie parasitária-alvo. Quanto a números de animais, referem grupos teste e controlo cada com 6 animais mas acrescentam que têm de estar distribuídos representativamente por idade, sexo, e que as diferenças entre tratamento e controlo têm de ser estatisticamente significativas ($p < 0,05$). A eficácia era considerada quando redução superior a 90% com base na média geométrica.

De uma maneira geral verifica-se já uma tentativa de sistematização de protocolos e resultados, apesar de ambas as publicações mostrarem ligeiras diferenças no cálculo da eficácia e no cálculo do número de animais necessários para ensaios clínicos.

Observando a tabela dos estudos de eficácia (Anexo VII) podemos observar o impacto destas directivas na comunicação de resultados de ensaios. Hasslinger (1984) por exemplo, descreve as eficácias de maneira pouco objectiva, sem explicitar os métodos de cálculo, e também não enumera a metodologia do ensaio crítico que à luz dos resultados apresentados não incluiu a innumeração de larvas de ciatostomíneos na mucosa e submucosa, apenas o número de estádios luminais.

Parâmetros mensuráveis

Taxa de Redução da contagem de ovos fecais (TRCOF)

A TRCOF é a medida mais utilizada para avaliar a eficácia dos anti-parasitários e calcula-se a partir da contagem de ovos no dia 0 (dia de início da experiência em que é administrado o AH) e no dia 14. Alguns autores, como se pode constatar da análise da tabela resumo, calculam esta taxa com base nos valores do dia 10 após tratamento, prática que pode dificultar as comparações com outros estudos e não está de acordo com as recomendações da WAVVP (2002). Além disso, a eliminação de parasitas pode ainda não ter ocorrido na sua totalidade e a eficácia do AH poderá ser subestimada. Esta taxa é calculada de várias maneiras por diversos autores:

1. TRCOF com base na **média aritmética** das contagens do grupo de estudo no dia 0 (dia da desparasitação) e no dia 14 após desparasitação:

$$\text{TRCOF (\%)} = \frac{(\text{maOPG}_0 - \text{maOPG}_{14})}{\text{maOPG}_0} \times 100$$

Nota: a média aritmética (ma) tem em conta igual influência de todos os valores, não sendo uma boa medida de tendência central:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

2. TRCOF com base na **média geométrica** das contagens do grupo de estudo no dia 0 (dia da desparasitação) e no dia 14 após desparasitação:

$$\text{TRCOF (\%)} = \frac{(\text{mgOPG}_0 - \text{mgOPG}_{14})}{\text{mgOPG}_0} \times 100$$

Nota: a média geométrica (mg): evita a interferência dos valores que se afastam da distribuição normal (*outliers*) e dá uma melhor aproximação à tendência do grupo. O símbolo Π representa o produto dos valores e esta média também pode ser expressada como uma média logarítmica:

$$gm = \sqrt[n]{\prod_{i=1}^n x_i} \quad \text{ou} \quad \left(\prod_{i=1}^n a_i \right)^{1/n} = \exp \left[\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \ln a_i \right]$$

3. TRCOF com base nas diferenças entre as **médias aritméticas** das contagens dos grupos de estudo (E) e do **grupo controlo** (C) no dia 0 (dia da desparasitação) e no dia 14 após desparasitação:

$$\text{TRCOF (\%)} = \frac{(\text{maOPGE}_0 / \text{maOPGC}_0 - \text{maOPGE}_{14} / \text{maOPGC}_{14})}{\text{maOPGE}_0 / \text{maOPGC}_0} \times 100$$

ou seja

$$\text{TRCOF (\%)} = 1 - \frac{\text{maOPGE}_{14} / \text{maOPGC}_{14}}{\text{maOPGE}_0 / \text{maOPGC}_0} \times 100$$

4. TRCOF com base nas diferenças entre as **médias geométricas** das contagens dos grupos de estudo(E) e do **grupo controlo** (C) no dia 0 (dia da desparasitação) e no dia 14 após desparasitação:

$$\text{TRCOF (\%)} = 1 - \frac{\text{mgOPGE}_{14} / \text{mgOPGC}_{14}}{\text{mgOPGE}_0 / \text{mgOPGC}_0} \times 100$$

Estas diferenças no cálculo dificultam a comparação entre os estudos publicados. Como vimos, podem utilizar-se diferentes maneiras de calcular a média, que pode ser aritmética ou geométrica (sendo que esta última evita que dados extremos a influenciem no mesmo grau que a media aritmética) e podem ainda ser tomadas em conta as contagens de um grupo controlo (fórmulas 3 e 4) ou serem os animais controlo de si próprios (fórmulas 1 e 2). Adicionalmente ao cálculo, podem ser definidos os critérios de eficácia do AH a partir de determinada percentagem de redução (80%, 90% ou 95%) e podem ser calculados intervalos de confiança da TRCOF para 95% da população estudada (que deve apresentar uma distribuição considerada normal) e podem utilizar-se os limites desses intervalos para ajudar a determinar a eficácia do AH (susceptibilidade) vs resistência ou suspeita de resistência da população parasitária ao AH.

Considerando estes problemas de ordem prática, Craven, Bjørn, Henriksen, Nansen, Larsen e Lendal (1998) realizaram um estudo com 3 AH de grupos diferentes em 42 quintas dinamarquesas e calcularam e interpretaram o TRCOF segundo 5 métodos diferentes por forma a determinar qual o método com mais sensibilidade na detecção de resistências. Concluíram que o método utilizado para ovelhas e recomendado pela WAVVP (Coles *et al*, 1992) é o método preferido face ao recomendado pela mesma associação para cavalos e face aos outros métodos utilizados. Os resultados do estudo são apresentados na Tabela 1.

Métodos	Espécie Alvo	Média	Grupo Controle	TRCOF (critérios para estabelecer resistência)	Detecção Resistências (por quinta com >12 cavalos)	Referências dos autores:
1	Ovelhas	Aritmética	Sim	TRCOF < 95% e LIC95% < 90% (suspeita se só cumprir um destes critérios)	BZD R 33/42 BZD SR 5/42 PIR R 3/15 PIR SR 1/15	Coles, Bauer, Borgsteede, Geerts, Klei, Taylor e Waller, 1992
2	Cavalos	Aritmética	Sim	TRCOF < 90%	BZD R 28/42 PIR R 1/15	Coles, Bauer, Borgsteede, Geerts, Klei, Taylor e Waller, 1992
3	Cavalos	Aritmética	Sim	TRCOF < 80%	BZD R 22/42 PIR eficaz...	Dash, Hall e Barger, 1988
4	Cavalos	Geométrica	Sim	TRCOF < 80%	BZD R 19/42 PIR eficaz...	Anderson, Martin e Jarret, 1988
5	Cavalos	Geométrica	Não (cada animal é o seu controle)	TRCOF < 95% e LIC95% < 90% (suspeita se só uma)	BZD R 24/42 BZD SR10/42 PIR SR 4/15	BjØrn, Sommer, Schougård, Henriksen e Nansen, 1991

Tabela 1 Quadro comparativo dos métodos de cálculo da TRCOF avaliados por Craven, Bjørn, Henriksen, Nansen, Larsen e Lendal (1998).

Face à elevada prevalência de resistências aos AH nos estrôngilos de equídeos, os autores recomendam que a eficácia deve ser avaliada regularmente através do TRCOF com um limiar de 95% para declarar a existência de resistências. Uma revisão aos métodos de detecção de resistências foi levada a cabo em 2006 mas os autores continuam a adoptar o limiar de 90% para cavalos indicando que é necessária mais investigação sobre o assunto, apesar de reconhecerem a ampla difusão de resistência e que o encurtamento do período de reaparecimento de ovos poderá ser um indicador do aparecimento de resistências às lactonas macrocíclicas (Coles, Jackson, Pomroy, Prichard, von Samson-Himmelstjerna, Silvestre, Taylor e Vercruysse, 2006).

Face ao panorama registado para ovinos e que está a tornar-se uma realidade em equinos, o limiar de 95% é o limiar por mim considerado, sempre que haja dados para tal, na interpretação dos estudos de eficácia realizados com outros limiares.

Período de Reaparecimento de Ovos nas fezes (PRO)

O PRO pode ser definido como o período após a administração de AH em que não são eliminados ovos nas fezes ou, quando o são, em números baixos mas aceitáveis (Demeulenaere, Vercruysse, Dorny e Claerebout, 1997). No entanto, esta definição de número "pequeno" ou "aceitável" é arbitrária e varia de acordo com o autor, podendo o limite ser de 100OPG (Caeiro, 1998; Boersema,

eysker, van der Aar, 1998; Dopfer, Kerssens, Meijer, Boersema e Eysker, 2004) ou 200OPG (Piché, Kennedy, Bauck e Goonewardene, 1990; Parry, Fisher, Grimshaw e Jacobs, 1993), como vimos anteriormente. Outros autores avaliam a eficácia com base na persistência temporal do efeito do AH e consideram-no eficaz até à data em que ainda mantenha uma eficácia superior a 90% calculando a TRCOF para várias datas (Campos Pereira, Kohec, Campos, Lima e Foz, 1991; Mathee, Krecek, Milne, Boshoff e Guthrie, 2002) embora na prática apresentem os resultados das contagens e se possam inferir os limiares indirectamente. Face a esta disparidade na apresentação de resultados, os períodos de reaparecimento para ambos os limiares foram calculados com base nos dados dos estudos de eficácia analisados, por forma a que fosse possível estabelecer comparações entre eficácias do mesmo AH.

O PRO é utilizado como forma de avaliar a eficácia dos anti-helmínticos: um PRO mais curto que o esperado (PRO da primeira introdução do composto no mercado) sugere o aparecimento de resistências na população parasitária alvo (Coles *et al*, 2006). Por outro lado, pode também fornecer-nos pistas quanto à eficácia sobre estádios parasitários enquistados no caso dos ciatostomíneos, pois um período mais curto sugere baixa eficácia sobre os mesmos.

Testes *in vitro*: egg-hatch assays (EHA) e larval development assay (LDA)

Estes testes são testes em que ovos e larvas de parasitas são sujeitos *in vitro* a meios com concentrações variáveis do AH a testar e pretendem determinar as concentrações que inibem a eclosão de ovos ou o desenvolvimento de larvas. Existem várias medidas, sendo a LD₅₀ a mais utilizada: dose que impede a eclosão ou o desenvolvimento de 50% dos ovos ou larvas.

Em 1995 Varady, Praslicka e Corba testaram o EHA em estirpes sensíveis e resistentes de *H. contortus* e *O. circumcincta* em cordeiros e concluíram que existia variabilidade significativa nos resultados, tornando difícil a determinação dos valores de referência LD₅₀. Craven, Bjørn, Barnes, Henriksen e Nansen (1999) comparam ambos os testes, EHA e LDA, segundo Coles *et al* (1992) e a TRCOF segundo Craven *et al* (1998), ou seja, utilizando o método recomendado por Coles *et al* (1992) para ovinos (ver secção sobre TRCOF). A resistência aos BZD foi demonstrada em 79% quintas pela TRCOF (33/42) e em 62% pela EHA (32/52) mas não foi possível determinar o nível de resistência pela LDA porque a estirpe de referência não era totalmente susceptível aos BZD apesar de ter provindo de quinta onde nunca se usou BZD (os autores admitem a possibilidade de contaminação do pasto por garanhão portador de parasitas resistentes levado para a quinta). A conclusão deste trabalho foi de que as correlações entre os testes são fracas e não é possível prever o resultado de um teste com base noutro. Pook, Power, Sangster, Hodgson e Hodgson (2002)

compararam a relação entre a TRCOF e os valores do LDA e com base nos coeficientes de correlação concluem que a LDA tem potencial para avaliar a resistência dos ciatostomíneos a antihelmínticos mas que era necessária uma maior standardização e investigação. Com base nestes trabalhos podemos concluir que os estudos de resistência através de EHA e LDA são pouco conclusivos nomeadamente pela dificuldade de se obter estirpes de referência que sejam totalmente susceptíveis aos AH existentes.

No sentido de tentar resolver este problema, Cernea, Cernea, Raileanu e Madeira de Carvalho (2009) testaram valores LDA de referencia para FBZ, MBZ e IVM em ovos provenientes de 126 amostras de fezes de equinos selvagens do delta do Danúbio, nunca submetidos a tratamento. Os resultados foram calculados estatisticamente a partir das diluições utilizadas para os vários AH e os resultados podem ser apreciados na Tabela 2.

Composto	LC ₅₀ (µg/ml)	LC ₉₀ (µg/ml)	LC ₁₀₀ (µg/ml)	MIC (µg/ml)
FBZ	0,0089	-0,743	-0,9265	-18,6031
MBZ	-0,0078	-0,4566	-0,5688	21,4542
IVM	-0.00028	0,0011	0,0013	-250,004

Tabela 2 Valores de referência para concentrações letais e mínimas inibitórias de três anti-parasitários em LDAs.

Todos os compostos demonstram elevada actividade como seria de esperar em populações parasitárias nunca expostas à acção de AH, embora os autores alertem que o MBZ necessita de um maior tempo de contacto com os parasitas que o FBZ. Estes valores poderão ser utilizados como referência futura para avaliar as resistências em quintas onde não existam populações inteiramente susceptíveis.

Cronologia do aparecimento de resistências aos anti-helmínticos modernos

Organofosforados

Herd, Miller e Gabel (EUA, 1981) estudaram a eficácia do diclorvos em duas quintas onde havia resistência aos benzimidazóis e as eficácias eram baixas (91,7 a 93,3%), o que segundo Craven *et al* (1998) é indicador de resistência.

Também em 1981 na Austrália Webster, Baird, Gunawan, Martin e Kelly constataram a baixa eficácia do triclorfon em combinação com o febantel (57,5%) mas em contrapartida o haloxon ainda revelava eficácia alta (98,6%), e a combinação do triclorfon com a piperazina também, pelo que possivelmente a baixa eficácia dever-se-ia à resistência aos benzimidazóis. Esta baixa eficácia do

triclorfon também é patente no estudo de Piché, Kennedy, Bauck e Goonewardene em 1990 (Canadá), em que a eficácia da sua associação com o oxfendazole era de 34%, mas mais uma vez tal pode dever-se à existência de resistências aos BZDs.

Não existem relatos recentes sobre a eficácia destes compostos nos parasitas gastro-intestinais, talvez pela sua menor utilização, mas há relatos de resistência em ectoparasitas (mosca de ovinos *Lucilia cuprina*; Vercruyssen, Shetters, Knox, Willadsen e Claerebout, 2007).

Tetrahidropirimidinas

As resistências a este grupo estão amplamente difundidas, conforme se pode observar na análise cronológica efectuada abaixo. Em Portugal, não obstante o uso de pamoato de pirantel por apenas 21% dos proprietários e apesar de nenhum utilizar a forma diária de administração comum nos EUA, já há evidências de falhas terapêuticas do pamoato de pirantel (eficácia <90%) e de situações duvidosas com eficácia entre 90 e 95% (Madeira de Carvalho, Farrim, Afonso-Roque e Fazendeiro, 2003a). De acordo com Craven *et al* (1998), estes são já sinais de resistência ao AH.

Eficácia dos sais de pirantel (pamoato PPIR, embonato EPIR) e de morantel (tartarato, TMOR)

- 1978/9 – PPIR **94,4** a 100% em éguas e **95,3** e 96% em poldros; PRO>200 OPG 4 a 5 semanas, numa quinta OPG sempre >0 (EUA; Herd, Miller e Gabel, 1981)
- 1981 – TMOR 98,7% (Austrália; Webster, Baird, Gunawan, Martin e Kelly, 1981)
- 1981/2 – PPIR 95 a 100% em 1981, **<95% 1982**; PRO <<4 semanas (EUA; Herd, Willardson e Gabel, 1985)
- 1983 – PPIR **87%** (EUA; Herd, 1986)
- 1987 – PPIR 100%; PRO>200 OPG 42 dias (Canadá; Piche, Kennedy, Bauck e Goonewardene, 1990)
- 1991/2 – EPIR 99,8%; PRO>100 OPG 42 dias (Holanda; Boersema, Borgsteede, Eyker e Saedt, 1995)
- 1993 – PPIR 100%; PRO>200 42 dias (Inglaterra; Parry, Fisher, Grimshaw e Jacobs, 1993)
- 1994 – PPIR **<95%** em 2/3 quintas (Brasil, Paraná; Luz Pereira, Chavichiolli, Guimarães, Batiston e Gusmão, 1994)
- 1994/99 – PPIR **95,9%**, OPG≥200 dia 52 (n=10, valores mais baixos para poldros, Portugal; Madeira de Carvalho *et al*, 2003a)
- 1995 – EPIR **<95%** em 20% das quintas (Dinamarca; Craven, Bjorn, Henriksen, Nansen, Larsen e Lendall, 1998)

- 1998 – PPIR <95% em 1/3 quintas e suspeita (LCL95 <90%) nos outros 2/3 (Bélgica; Dorn, Meijer, Smets e Vercruysse, 2000)
- 1998 – TMOR 96%; PRO>100 OPG dia 31, PRO>200 OPG dia 40 (Austrália; Rolfe, Dawson e Holm-Martin, 1998)
- 1998/9 – PPIR 94,1% numa quinta e 96,1% noutra (Inglaterra, Davies e Schwalbach, 2000)
- 1998/9 – TPIR 91,4% numa quinta e 97% noutra (Eslováquia; Várady, Konigová e Corba, 2000)
- 2001 – PPIR <80% (EUA; Tarigo-Martinie, Wyatt e Kaplan, 2001)
- 2002 – PPIR 100% (Suécia; Osterman Lind, Eysker, Nilsson, Uggla e Hoglund, 2003)
- 2002 – MOR 3/7 quintas <95% (Austrália; Pook, Power, Sangster, Hodgson e Hodgson, 2002)

Fenotiazina e Piperazina

O estudo de Campos Pereira, Kohek, Campos, Lima e Foz (1991) realizado com diferentes eguadas no estado de São Paulo sugere que a diminuição gradual da eficácia da piperazina (96%) poderá estar associada ao aparecimento de resistências detectadas noutra eguada, visto o composto exibir eficácias elevadas de 99,9% em locais onde não era usado intensivamente (Austrália; Webster, Baird, Gunawan, Martin e Kelly, 1981). O período de reaparecimento de ovos mais curto também parece ser um bom indicador da presença de resistência, mas como não temos dados do PRO em estudos com eficácias elevadas, não podemos assumir o PRO esperado em situações de susceptibilidade.

Fenotiazina, piperazina e dissulfureto de carbono em combinação

- 1978/9 – 76,7% éguas e 70,8% poldros (EUA, Herd, Miller e Gabel, 1981)

Piperazina, tiabendazole (BZD) e triclorfon

- 1981 – 99,9%, em animais com parasitas resistentes aos BZD (Austrália; Webster, Baird, Gunawan, Martin e Kelly, 1981)

Piperazina (só ou com BZD)

- 1981 - >98,5%, sozinha e em combinação com BZD, numa população com resistência aos BZD (Austrália; Webster, Baird, Gunawan, Martin e Kelly, 1981)
- 1991 – PIP dia 7 98% e dia 14 96%; PRO>100 dia 30, PRO>200 dia 37 (Brasil, São Paulo; Campos Pereira, Kohek, Campos, Lima e Foz, 1991)

- 1991 – PIP+FBZ dia 7 58%; dia 14 **19%**; PRO dia 14 >1000 OPG suspeita de resistência à piperazina e ao febendazol (Brasil, São Paulo; Campos Pereira, Kohek, Campos, Lima e Foz, 1991)

Benzimidazóis e pró-benzimidazóis

A resistência aos BZD foi detectada pela primeira vez por Drudge e Lyons em 1965 apenas 4 anos após a sua introdução no mercado (Herd, Miller e Gabel, 1981) e actualmente é prevalente em países de vários continentes, sendo os únicos relatos com eficácia total um de 1979 na Islândia (Eydal, 1983) e outro em 2002 na Suécia (Osterman Lind, Eysker, Nilsson, Uggla e Hoglund, 2003), mas em ambos os casos a desparasitação dos animais era pouco frequente e pode não se aplicar à generalidade das quintas desse país ou ao momento actual. Os períodos de reaparecimento de ovos estão tipicamente encurtados nos casos de resistência, como se pode observar na lista abaixo.

- 1977/9 – Cambendazol 100%, PRO>0 OPG 35 dias PRO>100 70 dias e PRO>200 84 dias (animais de pasto; Islândia; Eydal, 1983)
- 1978/9 – Mebendazol **36 a 56%**, Febendazol **25 a 58%**, Cambendazol **42%**, Febantel **13,3%**; as éguas mantiveram a eliminação inicial e os poldros retomaram-na em **30 dias**. Noutra quinta só com poldros ainda havia eficácia de 95,3% ao febendazol 100% ao febantel (éguas e poldros em pasto e no Inverno em *paddocks*; EUA, Ohio; Herd, Miller e Gabel, 1981)
- 1981 – Febantel+triclorfon **57,5%** Febantel **62%** Mebendazol **42,7%** (quinta 1). Cambendazol e Mebendazol <**30%** e Oxibendazol 99,7% único com eficácia (quinta 2); (Austrália; Webster, Baird, Gunawan, Martin e Kelly, 1981)
- 1983 – Oxfendazol **23%** Mebendazol **48%** Oxibendazol **70 a 89%** em pasta e 94% em granulado. O autor na altura suspeitava de resistências aos BZD, mas face aos conhecimentos actuais os dados confirmam essas suspeitas. (EUA; Herd, 1986)
- 1984 – Febendazol 95,5 a 98,6%, Tiabendazol com boa eficácia para estrôngilos e variável para ascarídeos, febantel bom para estrongilídeos mas não eliminava oxiurídeos nem ténias. O autor refere a importância de complementar a informação comercial com ensaios de campo (Alemanha; Hasslinger, 1984)
- 1985 – Albendazol 99% em Maio, **80% em Junho** e 95% em Julho, com PRO>200 de menos de 28 dias (Grupo 1). 100% e **PRO de 42 dias** (Grupo 2) Suspeita de resistências

confirmada com CT: 8,3 a 100% adultos e sem eficácia nas larvas enquistadas (Países Baixos; Eysker, Boersema, Kooyman e Bergen, 1988)

- 1990 – Febendazol **51** a 100% (<95% em 3/10 quintas e =95% 1/10) (Inglaterra; Mair e Cripps, 1991)
- 1991 – Febendazol **7 a 53%** dia 14 (Brasil, São Paulo; Campos Pereira, Kohek, Campos, Lima e Foz, 1991)
- 1991 – Mebendazol <**80%** 1º caso relatado de resistência BZD em Espanha (Garcia-Perez, Muñoz, Povedano e Juste, 1994)
- 1993 – Febendazol <**60%** (Inglaterra; Parry, Fisher, Grimshaw e Jacobs, 1993)
- 1994 – Mebendazol <**90%** e Oxibendazole <**90 a 94%** (Brasil, Paraná; Luz Pereira, Chavichiolli, Guimarães, Batiston e Gusmão, 1994)
- 1994/99 – Febantel + metrifonato 99,3%, OPG \geq 200 dia 34, mas EHA com TBZ mostrou eclosão de **65% dos ovos em 0,5ug/ml** (n=2, Portugal; Madeira de Carvalho *et al*, 2003a)
- 1995 – Febendazol: **79% quintas resistência** num ensaio em 42 quintas com mais de 12 cavalos cada. (Autores usaram grupo C, média aritmética e limite de TRCOF 95% com intervalos de confiança 90%; Dinamarca; Craven *et al*, 1998)
- 1996 – Febendazol **95,6% no 1º tratamento, 67,7 e 65,1% nos seguintes**. Desparasitação efectuada quando OPG médio atingia 200 (França; Dorchies, Clément, Mazaud, Flochlay e Blond-Riou, 1997)
- 1997 – Mebendazol **31,1%** Febendazole **83,9%**; BZD usados desde os anos 70 quase exclusivamente na Eslováquia (Várady e Corba, 1997)
- 1998 – Febendazol **72%** (Inglaterra; Chandler, Collins e Love, 2000)
- 1998 – Oxibendazol <**90%**, **PRO>100 dia 13** e **PRO>200 dia 31** (Austrália; Rolfe, Dawson e Holm-Martin, 1998)
- 1998 – Mebendazol **resistência em 12/13 quintas** com 185 cavalos (autores usaram grupo C, média aritmética e limite de TRCOF 95% com intervalos de confiança 90%; Bélgica; Dorn, Meijer, Smets e Vercruyssen, 2000)
- 1998/9 – Febendazol **80,8%** e 100% em duas quintas (África do Sul; Davies e Schwalbach, 2000)
- 1998/9 – Febendazol **17/19 quintas \leq 95%** (14<90% e 3 90-95%) (Eslováquia; Várady, Konigová e Corba, 2000)
- 2001 – Oxibendazol <**88%** em 10 quintas com 283 PSI (África do Sul; Mathee, Dryer, Hoffmann e van Niekerk, 2002)

- 2000/2001 – Febendazol **54,8 a 93,5%** em 60/60 quintas com 1383 animais (Alemanha norte; Witherle, Schnieder, von Samson-Himmeldtjerna, 2004)
- 2001 – Febendazol **82 a -114%** (EUA; Tarigo-Martinie, Wyatt e Kaplan, 2001)
- 2002 – Oxbendazol **6/7 quintas <90%** (Austrália; Pook, Power, Sangster, Hodgson e Hodgson, 2002)
- 2002 – Febendazol 100% em 27 animais de 1 a 5 anos, em que os poldros são desparasitados 2x/ano e os adultos raramente (Suécia; Osterman Lind, Eysker, Nilsson, Uggla e Hoglund, 2003)

Lactonas macrocíclicas

Ivermectina

A eficácia avaliada pela TRCOF para as formas orais de ivermectina situa-se entre 98,4 e 100% nos estudos analisados (Anexo VII) exposto mais abaixo. Apenas um estudo menciona uma eficácia mais baixa, de 96%, numa quinta onde existe uso intensivo de avermectinas/milbemicinas (Mathee, 2003). No entanto, a redução nos períodos de reaparecimento de ovos (PRO) num estudo australiano (Rolfe, Dawson e Holm-Martin, 1998) e num americano (Tarigo-Martinie, Wyatt e Kaplan, 2001) são sugestivos do início de aparecimento de resistências. A IVM quando administrada subcutaneamente apresenta eficácia reduzida, mas neste caso não por uma questão de aparecimento de resistências mas porque em 70% dos casos há refluxo do produto e em 5% encapsulamento no local da injeção (Garcia-Perez, Muñoz, Povedano e Juste, 1994). No que diz respeito à eficácia contra estádios enquistados verificada à necrópsia em três testes críticos de controlo, ela é nula para a IVM, que só actua eficazmente nos estados luminais (L4 e adultos).

Ivermectina em pasta oral (IVM)

- 1982/3 – TRCOF 100%; PRO>200 OPG 56 dias (EUA, Ohio; Herd, Williardson e Gabel, 1985)
- 1982/3 – 100% (até dia 30); PRO>200OPG>49 dias (Portugal, Alter do Chão; Caeiro, 1998)
- 1987 – 99,9% ; PRO OPG>100 e >200 no dia 84 (Canadá, Alberta; Piché, Kennedy, Bauck e Goonewardene, 1990)
- 1990 – 100% (Inglaterra; Mair e Cripps, 1991)
- 1991 – 100%; PRO>100 e 200 OPG dia 56 (Brasil, São Paulo; Campos Pereira, Kohek, Campos, Lima e Foz, 1991)
- 1991/2 – 100% (Espanha, Cantábria; Garcia-Perez, Muñoz, Povedano e Juste, 1994)

- 1994 – 100%; PRO>100 OPG >63 dias (Portugal, Alter do Chão; Caeiro, 1998)
- 1994 – 100%; PRO>0 OPG 56d, PRO>100 >>84dias (Eslováquia; Corba, Praslika, Várady, Andrasko e Holakovs, 1995)
- 1994 – 99,9 a 100% (EUA, Ohio; Xiao, Herd e Majewsky, 1994)
- 1994/5 - >99% (até 60 dias); PRO>200 70 a 91 dias (Bélgica; Demeleunaere, Vercruysse, Dorny e Claerebout, 1997)
- 1994/99 – **96-98%**, OPG≥200 dia 70-80 (n=61, Portugal; Madeira de Carvalho *et al*, 2003a)
- 1995 – 100% (EUA; Monahan, Chapman, Taylor, French e Klei, 1996)
- 1995 – 100% (Dinamarca; Craven, Bjorn, Henriksen, Nansen, Larsen e Lendal, 1998)
- 1995 – 100%; PRO>0 OPG 56dias PRO>100 OPG 84 dias (França; Alzieu, Bourdenx, Flochlay, Blond-Riou e Dorchies, 1997)
- 1995/6 – 100%; PRO>0 OPG 56 dias PRO>100 OPG 84 dias (Holanda; Boersema, Eysker e van der Aar, 1998)
- 1997 – dia 7 98,9%; PRO>100 OPG dia 54 PRO>200 OPG dia 75 (Islândia, Paulrud, Pedersen e Eydal, 1997)
- 1998 – 100%; PRO>0 OPG dia 49 PRO>100 OPG dia >>63 (Portugal, Alter do chão; Pais Caeiro, 1999)
- 1998 – 100%; **PRO>100 e >200 OPG dia 53**, presente resistência BZD (Austrália; Rolfe, Dawson e Holm-Martin, 1998)
- 1998 – 100%; CCT 99,87% para adultos de nemátodes e 98,92% contra formas imaturas luminais de ciatostomíneos (Brasil, São Paulo; Costa, Barbosa, Moraes, Acuña, Rocha, Soares, Paulillo e Sanches, 1998)
- 1995/8 – 100%; PRO>0 dia 56 Verão e >84 dias Inverno em poldras (Argentina, Buenos Aires; Fusé, Saumell, Rodriguez e Passucci, 2002)
- 1998/9 – 100% em animais desparasitados com >3 meses intervalo (África do Sul; Davies e Schwalbach, 2000)
- 1998/9 – 98,4 a 100% (Eslováquia; Várady, Konigová e Corba, 2000)
- 2001 – 100% (África do Sul; Mathee, Dreyer, Hoffmann e van Niekerk, 2002)
- 2001 – 100% (Alemanha; Witherle, Schnieder, von Samson-Himmeldtjerna, 2004)
- 2001 – 100%; **PRO>0 OPG 28 dias PRO>100 OPG 42 dias** (EUA, Geórgia; Tarigo-Martinie, Wyatt e Kaplan, 2001)
- 2002 – **96% IVM. Resistência MOX e DOR injeção IM.** Uso intensivo durante 4 anos de DOR inj, e de MOX e IVM orais (África do Sul; Mathee, 2003)

- 2002 – 100% (Austrália; Pook, Power, Sangster, Hodgson e Hodgson, 2002)
- 2002 – 100% (Suécia; Ostermann Lind, Eysker, Nilsson, Uggla e Hoglund, 2003)
- 2003 – 100% (Coles, Hillyer, Taylor e Villard, 2003)

Ivermectina administrada subcutaneamente (IVM SC)

- 1991/2 – **81%** em animais adultos e 97,3% em poldros (Espanha, Cantábria; Garcia-Perez, Muñoz, Povedano e Juste, 1994)
- 1994/99 –99-100%, OPG \geq 200 dias 62 a 131 (n=21, Portugal; Madeira de Carvalho *et al*, 2003a)

Ivermectina oral: eficácia contra estádios enquistados

- 1993 – CCT: redução de 35% estádios da mucosa (enquistados) e 87% L4 lúmen vs 99% de adultos (Estudo com 6 pôneis adultos no grupo controlo e 6 no grupo IVM; EUA, Louisiana; Klei, Chapman, French e Taylor, 1999)
- 1994 – CCT: 0% contra estádios da mucosa e 98,8 a 100% eficaz contra adultos e L4 luminais (EUA, Ohio; Xiao, Herd e Majewsky, 1994)
- 1995 – CCT dia 14: sem eficácia contra enquistados, 100% adultos (Manahan, Chapman, Taylor, French e Klei, 1996)

Moxidectina e Doramectina

A moxidectina e a doramectina começaram a ser utilizada na década de 90 nos países anglófonos (Commonwealth) e o seu uso passou a ser generalizado na década passada, havendo já evidências da existência de resistências no uso da Moxidectina injectável na dose de 0,2mg/Kg, metade da recomendada e usada na pasta oral, e da Doramectina injectável na mesma dosagem (Mathee, 2003). Neste estudo a quinta era uma coudelaria de produção de poldros Puro Sangue Inglês onde havia historial de desparasitação intensiva com DRM injectável nos quatros anos que precederam o estudo, bem como de IVM oral e MOX injectável. Curiosamente a IVM oral nesta quinta apresentava também eficácia mais baixa (96%).

O PRO mais curto da MOX num estudo holandês (Eysker, Boersema, Grinwis, Kooyman e Poot, 1997) e noutro australiano (Austrália; Rolfé, Dawson e Holm-Martin, 1998) podem ser um indicador da selecção de resistência nas quintas analisadas.

Os estudos *post mortem* que avaliaram a eficácia da MOX relativamente aos estádios enquistados evidenciam que há uma tendência para a redução dos números de L4 enquistadas, os autores

concluem que a MOX não é eficaz contra estádios enquistados (Eysker, Boersema, grinwis, Kooyman e Poot, 1997; Xiao, Herd e Majewsky, 1994; Monahan, Chapman, Taylor, French e Klei, 1996). O estudo de Vercruysse, eysker, Demeleunaere, Smets e Dorny (1998) em que os animais de grupo controlo e tratamento foram submetidos a infecção experimental com L3 de ciatostomíneos per os (200000L3 a cada animal nos dias 0,7,14 e 28) mostra uma carga de L4 enquistadas 10 vezes menor no grupo tratamento que no controlo, mas os autores não consideram esta diferença estatisticamente significativa.

Os três estudos que advocam a eficácia da MOX contra estádios enquistados carecem de alguns pré-requisitos que põem em causa o seu significado estatístico:

1. Bello e Lanigham (1994) usam animais de idades e maneios díspares, não descrevem a eficácia para todos os estádios parasitários e consideram a eficácia para valores considerados de redução de menos de 90%;
2. Bairden, Brown, McGoldrick, Parker e Talty (2001) apresentam valores de eficácia muito diferentes dos autores supracitados e não utilizaram um grupo controlo;
3. No trabalho de Steinbach, Bauer, Sasse, Baumgartner, Rey-Moreno, Hermosilla, Damryasa e Zahner (2006) a eficácia era advogada com base nas necrósias de apenas 2 animais de 6 e 9 meses de idade (número insuficiente), com a agravante de aos 6 meses de idade poderem não haver formas enquistadas em números significativos.

Moxidectina em pasta oral (MOX)

- 1994 – 100% (EUA; Bello e Lanigham, 1994)
- 1994 – 100%; PRO>0 OPG 70d, PRO>100 >>84dias (OPG médio 1,3 no dia 84) (Eslováquia; Corba, Praslika, Várady, Andrasko e Holakovs, 1995)
- 1994 – 100%; **PRO>0 OPG 35 dias** (Países Baixos; Eysker, Boersema, grinwis, Kooyman e Poot, 1997)
- 1994 – 99,9 a 100% (EUA, Ohio; Xiao, Herd e Majewsky, 1994)
- 1994/5 - >99% (até 60 dias); PRO>0 60 dias PRO>200 154 a 158 dias (Bélgica; Demeleunaere, Vercruysse, Dorny e Claerebout, 1997)
- 1995 – 100%; PRO>0 OPG 84 dias PRO>100 OPG >>140 dias (OPG<100) (França; Alzieu, Bourdenx, Flochlay, Blond-Riou e Dorchie, 1997)
- 1995 – 100% (EUA; Monahan, Chapman, Taylor, French e Klei, 1996)
- 1995/6 – 100%; PRO>0 OPG 63 dias PRO>100 OPG >>175 dias (OPG 0-30) (Holanda; Boersema, Eysker e van der Aar, 1998)

- 1996 – 100% dia 10; PRO>0 OPG dia 60; PRO>100 OPG dia 192; PRO>200 OPG >>212dias (França; Dorchies, Clement, Mazaud, Flochlay e Blond-Riou, 1997)
- 1998 – 100%; PRO>0 OPG dia 154 dias PRO>100 OPG dia >>168 (OPG = 84mg) (Portugal, Alter do chão; Pais Caeiro, 1999)
- 1998 – 99%; **PRO>100 dia 83 e >200 OPG dia 109; presente resistência aos BZD** (Austrália; Rolfe, Dawson e Holm-Martin, 1998)
- 1998 – 100%, resistência ao FBZ (França; Collobert, Bernard, Clément, Hubert, Kerboeuf, Flochlay e Blond-Riou, 1998)
- 1998 – 100%; CCT 99,89% para adultos de nemátodes e 98,98% contra formas imaturas luminais de ciatostomíneos (Brasil, São Paulo; Costa, Barbosa, Moraes, Acuña, Rocha, Soares, Paulillo e Sanches, 1998)
- 1998 – 100%; CCT dia 14: Adultos, L5 e L4 luminais ciatostomíneos; 99,9%; 100% adultos *S. vulgaris* vs 12-66% contra L4 e L5; 92% L5 *S. edentatus* (Espanha, País Basco; Dorchies, Ducos de Lahitte, Flochlay e Blond-Riou, 1998)
- 1998 – 100%; PRO>100 OPG >>156 dias (França; Mage, Arnaud, Flochlay e Blond-Riou, 1998)
- 1997/1999 – 100% em asininos (África do Sul; Mathee, Krecek, Milne, Boshoff e Guthrie, 2002)
- 2001 – 100% (Inglaterra; Bairden, Brown, McGoldrick, Parker e Talty, 2001)
- 2006 – 100% (Alemanha; Steinbach, Bauer, Sasse, Baumgartner, Rey-Moreno, Hermosilla, Damryasa e Zahner, 2006)

Moxidectina administrada subcutaneamente (MOX)

- 2002 – **0% MOX IM** em meia dose 0,2mg/Kg; na quinta de PSI com 40 poldros de desmame havia uso intensivo de DOR injectável IM a 0,2mg/Kg, meia dose, durante 4 anos, assim como MOX e IVM orais e **a IVM oral apresentou apenas 96% de eficácia** (África do Sul; Mathee, 2003)

Moxidectina oral: eficácia contra estádios enquistados

- 1994 – CCT: EL3 67,3% cego a 81% cólon LL3 89,7% cólon 90,7% cego (40 pôneis, 28 machos e 12 fêmeas, 1,5 a 25 anos, diferentes origens; EUA; Bello e Lanigham, 1994)
- 1994 – CCT aos 35 dias: EL3 18% (m. geométrica) a 24% (m. aritmética); L4 mucosa 76,5%ma e 89,6%mg; L4 lúmen: 93,3%ma 98,8%mg; L5 e Adultos 97,8% ma e 98,8%mg.

Não eficaz contra estádios da mucosa; não eficaz contra *Cyl insigne* e *Cyl elongatus* (12 pôneis 1 ano, várias origens; Países Baixos; Eysker, Boersema, grinwis, Kooyman e Poot, 1997)

- 1994 – CCT dia 14: não eficaz contra estádios da mucosa: EL3, LL3 e L4 mucosa 62 a 79%; Adultos e L4 luminais 98,8 a 100%; não eficaz contra *Gasterophilus spp* vs IVM 95,4% (24 animais em 2 grupos MOX e 1 um grupo C; EUA, Ohio; Xiao, Herd e Majewsky, 1994)
- 1995 – CCT dia14: sem eficácia contra estádios enquistados, embora com tendência para reduzir os seus números mas sem significado estatístico, 100% adultos (Monahan, Chapman, Taylor, French e Klei, 1996)
- 1998 – CCT dia 42: 100% contra estádios luminais (0 parasitas MOX vs 86000 L4, 44000 adultos, 325 L4 *Triodontophorus* grupo C); L4 mucosa 10x menos na MOX, mas cargas de EL3 e LL3 semelhantes C e MOX; Eficaz contra as 13 espécies de ciatostomíneo encontradas (9 poldros livres SPF durante 5 meses antes do estudo; Dia 0 desparasitação de 5 poldros; infecção experimental dias 0, 7, 14 e 28 com 200000L3/dia ciatostomíneos; nenhum animal com sinais clínicos; Vercruyse, eysker, Demeleunaere, Smets e Dorny, 1998)
- 2001 – CT: 100% adultos e L4; 90,8% EL3 e 99,9% outros estádios (18 pôneis de 1 a 1,5 anos pasto; Inglaterra; Bairden, Brown, McGoldrick, Parker e Talty, 2001)
- 2006 – CTT dia 14: 100% contra adultos em 2 poldros de 6 a 9 meses. Os autorem defendem eficácia contra estádios enquistados mas os resultados são de difícil interpretação (Alemanha; Steinbach, Bauer, Sasse, Baumgartner, Rey-Moreno, Hermosilla, Damryasa e Zahner, 2006)

Doramectina (DRM)

- 1994 – 100% DRM 0,2mg/Kg oral (Dectomax[®]), resistência PIR e BZD na quinta (40 animais de pasto, Brasil Paraná; Luz Pereira, Chavichiolli, Guimarães, Batiston e Gusmão, 1994)
- 1994/99 –97,4%, OPG \geq 200 dia 89 (n=3, Portugal; Madeira de Carvalho *et al*, 2003a)
- 1998/9 – 100% 0,2mg/Kg IM (Dectomax[®]) (África do Sul; Davies e Schwalbach, 2000)
- 2002 – 0% 0,2mg/Kg IM. Resistência MOX e baixa eficácia IVM 96% (uso intensivo de DRM injectável 4 anos anteriores; África do Sul; Mathee, 2003)

A situação em Portugal

Num registo de 97 desparasitações realizadas numa coudelaria entre 1994 e 1999, 63% das desparasitações foram feitas com IVM oral, 22% com IVM SC, 3% com DRM SC ou IM, 10% com PPIR e 2% com FBT-MTF (Febantel-Metrifonato, Pró-BZD). As eficácias e PRO (≥ 200 OPG) apresentados pelos cavalos estabulados foram: IVM oral 96 a 98%, 70-80 dias; IVM SC 99-100% e 62-131 dias; DRM 97,4% e 89 dias; PPIR 95,9% e 52 dias; FBT-MTF 99,3% e 34 dias. Os cavalos do pasto apresentaram eficácias equivalentes, mas os PRO eram mais curtos para a DRM (20-34 dias) e PPIR (28 dias). Houve animais com resultados inferiores a 95% de redução para a IVM oral e SC, para a DRM injectável e para o PPIR (Madeira de Carvalho, Farrim, Afonso-Roque e Fazendeiro, 2003a). De acordo com Craven *et al* (1998) podemos assumir que naquela quinta já existiam animais com ciatostomíneos resistentes às avermectinas/milbemicinas, o que resulta numa diminuição dos valores de eficácia calculados para o grupo, que desceram todos abaixo dos 99 a 100% esperados. O PRO da IVM também é significativamente mais curto que o esperado nas situações de eficácia de 100% (Pais Caeiro, 1999; Fusé, Saumell, Rodriguez e Passucci, 2002). A eficácia baixa, o PRO curto do PPIR e a ocorrência de falhas terapêuticas também sugere a ocorrência de parasitas resistentes a este AH na quinta estudada.

A IVM em Portugal é usada por cerca de 78% dos proprietários (Martins, Sousa e Madeira De Carvalho, 2007) e é possível que os fenómenos de resistência (falhas terapêuticas) tenham aumentado nos últimos 10 anos, sobretudo nas quintas em que a desparasitação tem sido feita sistematicamente com este AH.

O advento das resistências às lactonas macrocíclicas (avermectinas/milbemicinas)

A resistência aos benzimidazóis e às tetrahidropirimidinas (pirantel e morantel) é generalizada a nível mundial e os fenómenos de resistência múltipla são cada vez mais frequentes em equinos. O único grupo eficaz disponível actualmente é o grupo das avermectinas/milbemicinas, mas infelizmente os relatos de detecção de resistências têm vindo a aumentar. Em 2007 foi detectada resistência às lactonas macrocíclicas num santuário de burros do Reino Unido e resistência múltipla às LM (moxidectina, ivermectina, abamectina) e a outros grupos AH comercializados numa quinta de criação de Puro Sangue Inglês no Brasil com eficácias muito baixas: 84% para a abamectina (dosagem 2%), abaixo de 65% para IVM (dosagens a 1,8 e 2%) e para a moxidectina (dosagem 2%) (Molento 2008). Num estudo epidemiológico em 60 explorações (988 cavalos) em Itália, 22 (396) no Reino Unido e 20 (320) na Alemanha, a resistência ao FBZ era patente em 80% das quintas no Reino Unido e na Alemanha, sendo significativamente menor em Itália (38%). 25% das quintas

apresentava resistência ao pirantel nos 3 países e foi encontrada resistência à IVM em 2 quintas italianas e 3 Inglesas (3%). Não foi detectada resistência à MOX. Em 20% (Itália) 23% (Alemanha) e 29% (Reino Unido) foram encontradas resistências múltiplas ao FBZ e ao PIR, excepto numa quinta Italiana e duas inglesas com resistência ao FBZ e à IVM (Traversa, Von Samson-Himmelstjerna, Demeler, Milillo, Schurmann, Barnes, Otranto, Perrucci, Frangipane Di Regalbono, Beraldo, Boeckh e Cobb, 2009). Os autores utilizaram o limiar de 90% na TRCOF, de acordo com as recomendações da WAAVP para cavalos, mas menos sensível que o limiar de 95% (Craven *et al*, 1998). Devemos no entanto analisar com muito cuidado estes resultados porque são incluídos no estudo animais com $OPG \geq 50$, um valor muito baixo que está no limiar de detecção da técnica de MacMaster (os autores consideram *high-shedder* ≥ 150 OPG) e não sabemos quais as médias de eliminação fecal. Apesar disso, os dados do estudo em Itália (Milillo, Boeckh, Cobb, Otranto, Lia, Perrucci, Frangipane di Regalbono, Beraldo, Von Samson-Himmelstjerna, Demeler, Bartolini e Traversa, 2009) mostram que as eliminações são muito baixas ou nulas em cerca de 2/3 dos animais, sendo as eliminações mais altas na ordem dos 1000 OPG (moderadas, portanto): em 1646 cavalos 32,5% OPG negativo, 25,3% entre 50 e 150 OPG e 42,2% com contagens superiores a 150 OPG. Estes dados reflectem o que se observa na maioria dos países onde a desparasitação é frequente, sistemática e onde têm aparecido as resistências aos AH. Donato (2010) revê a situação europeia e conclui que ainda existe pouca informação relativa a inquéritos para averiguar a presença de resistências mas considera que a resistência às LM é inevitável, face aos casos já reportados no Brasil e Reino Unido, e acrescenta que há já evidência de eficácias da IVM inferiores a 90% em países europeus, como a Itália e a Alemanha.

O aparecimento de resistências está ligado à frequência de desparasitação (Hutchens e Dipietro, 1996; Collobert, Bernard, Clément, Hubert, Kerboeuf, Flochlay e Blond-Riou, 1998) ou seja, quanto maior a frequência maior a probabilidade do aparecimento de resistências, e podemos concluir após análise dos estudos apresentados que tanto a diminuição dos valores de eficácia (<99%) como PRO mais curtos são indicativos de selecção de resistências antes da TRCOF ser inferior a 95%. O controlo individual dos animais de cada quinta com realização de coprologias para cálculo da TRCOF e do PRO é fundamental para uma detecção precoce (Chandler, Collins e Love, 2000; Hasslinger, 1984) e será certamente mais económico que a realização de análises *in vitro* para detecção de estirpes resistentes antes do fenómeno se tornar generalizado.

Influência dos estudos e recomendações no aparecimento de resistências

O impacto da frequência da desparasitação

Muitos autores e clínicos fazem recomendações que são contraproducentes, nomeadamente a recomendação de desparasitações frequentes que podem acelerar o aparecimento de resistências:

- 1981 – Herd, Miller e Gabel detectaram resistências múltiplas (benzimidazóis e pró-BZDs, fenotiazina e piperazina) numa quinta onde era efectuada rotação rápida das várias classes de AH durante 4 anos e onde se havia usado BZD e piperazina nos 10 anteriores (em esquemas supressivos);
- 1981 – Kelly, Webster, Griffin, Whitlock, Martin e Gunawan constataram que a resistência não era um problema nas quintas que faziam rotação lenta entre as várias classes de AH, usavam combinações de classes e desparasitavam com intervalos superiores a 16 semanas, e verificaram uma correlação directa entre a ocorrência e o nível de resistência aos BZD com a frequência do uso deste grupo;
- 1990 - Drudge, Lyons, Tolliver e Fallon fazem um estudo retrospectivo numa quinta do Kentucky central onde a FTZ (fenotiazina) foi utilizada a longo termo desde 1950 de 3 em 3 semanas e estudos feitos em 1960 e 1961 mostram uma redução da eficácia de FTZ e que se encontravam presentes animais com ciatostomíneos resistentes ao TBZ (tiabendazole, apenas utilizado em 1961). A análise das contagens e ovos na mesma quinta de 1962 a 1965 mostra a emergência de ciatostomíneos resistentes ao TBZ, com um aumento gradual das contagens de ovos ao longo dos anos com a utilização do TBZ (TRCOF inferior a 58%).
- 1995 – Boersema, Borgsteede, Eysker e Saedt recomendam o uso de embonato de pirantel de 6 em 6 semanas em animais com história prévia de resistência aos BZD, como tratamento estratégico para evitar a contaminação do pasto (neste caso surgirá rapidamente resistência ao pirantel...);
- 1996 – Lyons, Tolliver, Drudge, Stamper, Swerczek e Granstrom efectuaram 91 testes críticos de eficácia a 13 compostos AH simples ou em combinação usados desde 1977 a 1992 numa população de pôneis Shetland com ciatostomíneos resistentes aos BZD. Os ensaios foram realizados na sua maioria em pôneis com menos de um ano de idade que provinham de uma égua tratada de 8 em 8 semanas com cambendazole entre 1974 e 1978 e oxibendazole de 1978 a 1992. Nos primeiros dois anos a eficácia do oxibendazole era 95% ou superior, tendo declinado para 1% em 1991. A resistência colateral a outros BZDs e pró-BZDs era evidente em 6 espécies de ciatostomíneos. A actividade AH em grandes estrôngilos, gasterófilos, ascarídeos e oxíuros manteve-se.

- 1997 - Demeulenaere, Vercruyse, Dorny e Claerebout estudaram eficácia de 2 esquemas profiláticos estratégicos com base no PRO da MOX e da IVM e concluíram que nos animais de um a três anos tratados com IVM as contagens eram consistentemente mais altas que nos outros grupos etários – os autores consideram que os AH são menos eficazes devido a maior número de larvas enquistadas nos jovens ainda não imunizados (fenómeno de refúgio). Dada a eficácia elevada da MOX e maior PRO que a IVM, aconselham apenas 2 tratamentos/ano com a MOX face a 4 com IVM, o que poderá contribuir para o menor aparecimento de resistências (não sabemos bem se isto é verdade: a MOX também tem uma maior persistência nos tecidos que a IVM e alguma capacidade de redução das L4 da mucosa, pelo que o tempo de contacto com os parasitas poderá ser maior e por esse motivo seleccionar mais resistências...)
- 1997 – Nickelin, Kivipelto e Ott (EUA, Florida) suspeitam da resistência ao FBZ num estudo de programa diário de Pamoato de Pirantel vs desparasitação rotacional tradicional com IVM e FBZ (administrados alternadamente de dois em dois meses), dada a eliminação contínua de ovos de esrongilídeo no Verão e no Inverno no segundo esquema. (Mais um exemplo da utilização frequente de AH)
- 1999 – Apesar da elevada prevalência mundial da resistência aos BZD, Hutchens, Paul, DiPietro, Lock Jones Rowley e Wallace avaliam a eficácia de duas formulações de febendazol (suspensão oral e granulado) com excelentes resultados de eficácia *post mortem*, mas efectuam o ensaio em cavalos de 1 a 4 anos nunca expostos a anti-parasitários e consideram “excelentes” eficácias de 95 a 100% nos adultos de estrongilídeos;
- 2000 – Chandler, Collins e Love estudaram a eficácia da utilização do FBZ a 15mg/Kg durante 5 dias (dose dita “larvicida”) em ciatostomíneos resistentes FBZ e obtiveram uma TRCOF de 72% (a resistência manteve-se);
- 2010 – Donato, a propósito das resistências às LM, afirma que é necessário manter a eficácia das ML e aconselha tratamento selectivo com limiar de 200 OPG em vez de tratamento estratégico baseado no PRO (o conselho é positivo, mas o limiar é demasiado baixo).

O problema das resistências nos ovinos e o paralelismo com a ciatostominose equina

Jackson e Coop (2000) consideram que a resistência coloca problemas sérios ao futuro da ovinicultura. Nos países do hemisfério sul em que há já múltiplas resistências a produção deixou de ser sustentável. Estudos no Reino Unido e na Europa continental sugerem que o processo de selecção é mais lento que nas regiões tropicais e temperadas do sul, e que nalgumas espécies de ovinos (de maior produção) a reversibilidade dos fenómenos de resistência é nula ou ligeira após anos de não utilização do respectivo AH. Os estudos dos mecanismos de resistência às avermectinas e milbemicinas sugerem a existência de alterações em vários locais alvo das drogas. Na Europa os endectocidas (AP externos e internos geralmente na formulação *pour on*) destes dois grupos são a base do controlo das nematodoses e acaridoses (sarna) dos ovinos e a conservação da sua eficácia deve ser a maior preocupação, face ao facto de ser pouco provável o aparecimento de novos compostos com diferentes mecanismos de acção num futuro próximo. Khöler (2001) revê os mecanismos acção dos principais grupos: os BZDs realizam ligação selectiva de alta afinidade à sub-unidade β da proteína do microtúbulo, as tetrahidropirimidinas e o febantel são agentes nicotínicos que actuam no receptor nicotínico de acetilcolina nos nemátodes e as lactonas macrocíclicas são agonistas dos canais de cloro inibitórios específicos que são activados por ácido glutâmico (embora segundo Hejmadi, Jagannathan, Delany e Coles, 2000, estes receptores não estejam relacionados com fenómenos de resistência à IVM). O autor considera que a existência de resistências aos AH amplamente difundida constitui uma ameaça ao controlo eficaz das helmintoses, sobretudo em medicina veterinária. Os mecanismos bioquímicos e genéticos da resistência não são bem compreendidos e parecem variar entre espécies e isolados, mas os principais mecanismos de aquisição de resistências parecem dever-se à perda de receptores ou diminuição da afinidade do local de acção. Kholer acredita que a compreensão destes mecanismos será a chave para resolver o problema das resistências.

Dobson, Besier, Barnes, Love, Vizard, Bell e LeJambre (2001) a propósito da emergência da resistência às avermectinas/milbemicinas em ovelhas na Austrália, advocam princípios de uso de AH para evitar seleccionar resistências a estes grupos. Assim aconselham: monitorização regular da eficácia, evitar utilizar as LM em anos consecutivos, não utilizar em animais com baixo risco e recorrer a AH de curto espectro e baixa eficácia como o naftalofos quando apropriado. Os autores reconhecem a pressão de selecção efectuada pela ausência de L3 susceptíveis no pasto, mas o medo

da contaminação do pasto por L3 resistentes leva-os a advogar uma quase esterilização de todos os animais, como de resto a maioria dos autores o fazem para equinos.

Sutherland, Moen, e Leathwick (2002) concluíram que a administração de cápsulas de libertação prolongada de IVM a cordeiros sujeitos a infecção experimental com estirpes resistentes e susceptíveis à IVM de *Ostertagia circumcincta* resultaram na aquisição de cargas parasitárias resistentes maiores que o esperado. As fêmeas adultas dos parasitas do grupo de desafio com as cápsulas de IVM eram significativamente maiores e continham mais ovos *in utero* que as dos outros grupos. Os fenómenos de resistência às LM continuam a aumentar face ao uso quase exclusivo das mesmas: Suter (2004) verificou que a resistência à IVM constatada em 38% das 127 quintas do Sudoeste da Austrália estudadas em 1999-2000 aumentou para 44% em 2001, e os relatos multiplicam-se até ao presente.

É de esperar, face ao cenário da produção ovina actual, que a resistência às AVM e MBM (LM) seja uma realidade próxima no contexto da produção equina e por isso se torna premente evitar ou atrasar o mais possível este cenário, já previsto por Kaplan e Little em 2000: “a alta prevalência de resistência à IVM em parasitas próximos dos ciatostomíneos em cabras e ovelhas levou muitos parasitologistas a concluir que o desenvolvimento de resistência às avermectinas/milbemicinas nos ciatostomíneos é inevitável”.

Parte II: Trabalho Prático

Objetivos

OBJECTIVOS

O grande objectivo deste trabalho é propor uma abordagem inovadora e integrada na desparasitação de equinos, com vista a produzir orientações de boas práticas de desparasitação e manejo em clínica, evitando ou retardando o aparecimento de resistências aos anti-parasitários. Para esse fim foi levada a cabo a revisão teórica apresentada anteriormente e foi realizado um trabalho prático no âmbito do controlo anti-parasitário em equinos num esquema selectivo de desparasitação.

Assim, os objectivos principais do trabalho prático desenvolvido no âmbito desta tese são:

1. Validação da utilização de um limiar individual de 500 ovos por grama (OPG) na desparasitação selectiva por contraposição ao de 200 OPG mais comumente utilizado, assumindo que este limiar não implica uma maior prevalência de patologia gastro-intestinal associada;
2. Determinação de um intervalo de tempo para as colheitas de fezes e análise de OPG individuais, de acordo com a consistência na eliminação de ovos prevista para a idade, sexo, função e condição corporal;
3. Validação económica do método, através de uma análise custo-benefício anual com base na abordagem selectiva proposta vs. abordagem tradicional de desparasitação (desparasitação anual de todos os animais).

Os objectivos secundários do estudo são:

1. Observar a variação da excreção de ovos e de parâmetros sanguíneos em grupos animais jovens e adultos submetidos a nível mais elevado de stress que a restante população estabulada;
2. Avaliar a variação individual da condição corporal dos animais e determinar se existe alguma relação com a variação da excreção de ovos.

Objetivos

MATERIAL E MÉTODOS

Estudo 1 – CMEFD 2004 (Estudo Retrospectivo)

1. Caracterização da População Estudada

1.1 Composição

Os 74 animais analisados neste estudo constituíam a população de equídeos de trabalho residente do Centro Militar de Educação Física e Desporto do Exército Português, situado em Mafra. Além dos equinos de trabalho estabulados, também foram incluídas as éguas de ventre e os seus poldros de desmame com cerca de seis meses no início do estudo.

Os dados colhidos foram objecto de estudo retrospectivo e análise estatística no presente trabalho e todos os animais do CMEFD são incluídos nos vários aspectos da análise estatística e para efeitos de avaliação da viabilidade económica. Nos resultados de eficácia (cálculo da TRCOF) e no cálculo do PRO foram incluídos todos os animais presentes no dia 14 ou que apresentaram contagens positivas após a desparasitação durante o período de estudo, respectivamente.

1.2 Sexo

A maioria dos 74 animais (39) eram machos castrados (52,7%), 24 eram fêmeas (32,4%) e apenas 11 machos inteiros (14,9%).

1.3 Idade

Os animais do CMEFD apresentavam idades dos 1 a 25 anos (média $10,69 \pm 6,16$ anos).

1.4 Raça

Os 73 animais residentes são de várias raças, representando o Cruzado Português, o Português de Desporto e o Anglo-Luso 85% (63) e o Puro Sangue Lusitano 15% (11).

1.5 Função

Os animais do CMEFD foram divididos em grupos funcionais e etários para melhor avaliação da excreção parasitária e outros parâmetros avaliados:

- Animais no pasto
 - Adultos
 - 6 éguas de ventre (reprodutoras) com actividade leve;
 - Jovens
 - 6 poldros de desmame com cerca de 6 meses no pasto com as mães (que constituem o grupo anterior) e actividade leve;
- Animais estabulados:
 - Idosos doentes
 - 4 animais idosos de 18, 20, 24 e 25 anos, inactivos devido a problemas músculo-esqueléticos;
 - Jovens (animais com menos de três anos, inclusivé)
 - 5 poldros de 3 anos em desbaste (estabulados e castrados em Janeiro, começaram a ser ensinados em Abril) com actividade intensa;
 - Adultos (incluem 18 animais séniores entre 15 e 20 anos, ainda activos e em boa condição geral)
 - 9 cavalos de desporto (animais que participam em provas desportivas) e que têm uma actividade intensa;
 - 10 cavalos de G1/G2 (aulas de obstáculos, ensino e ajudas) com actividade intensa;
 - 8 cavalos da Reprise (espectáculo de ensino) com trabalho moderado;
 - 7 cavalos de atrelagens com trabalho moderado;
 - 19 animais divididos em 2 grupos de 9 e 10 animais com função mista em aulas e trabalho moderado ou ligeiro.

A actividade dos animais é classificada como intensa quando é mais exigente fisicamente (nomedamente quando inclui trabalho de obstáculos ou corta-mato,

como no caso dos cavalos de desporto e G1/G2) ou física e psicologicamente, como no caso dos poldros de 3 anos.

1.6 Maneio

1.6.1 Alojamento

Os animais encontravam-se todos estabulados em boxes ou baias individuais de alvenaria com portas metálicas, contíguas e localizadas em pavilhões adjacentes. As camas eram feitas com aparas comerciais apropriadas e as fezes eram removidas duas vezes por dia.

1.6.2 Alimentação

A alimentação era a mesma para todos os animais, que dispunham de palha *ad libitum* administrada no chão e de concentrado distribuído duas vezes por dia na manjedoura (três vezes no caso dos animais de desporto e de G1/G2, com actividade mais intensa).

1.6.3 Trabalho

Os animais apresentavam intensidades de trabalho diferentes, ligeira, moderada e intensa. Já os tempos de trabalho diário durante a semana iam de 30 minutos a 1 hora, no máximo duas para animais em aulas de volteio (animais com actividade ligeira pertencentes a um dos grupo de animais com funções mistas).

Durante o tempo do estudo há alguma variação nos tempos de trabalho e intensidade do mesmo nalguns animais devido a lesões músculo-esqueléticas.

1.6.4 Maneio médico-veterinário

As vacinações e desparasitações são feitas anualmente em Dezembro a todos os animais. Os poldros de 3 anos que são recolhidos do pasto são submetidos à primo-vacinação e a uma desparasitação na altura da colocação em baias, podendo as datas não coincidir com a da desparasitação anual em Dezembro. Todas as acções de profilaxia são registadas informaticamente, assim como todos os tratamentos médicos realizados no Hospital de Equinos do CMEFD.

As desparasitações efectuadas durante o período de estudo (Janeiro a Junho de 2004) foram efectuadas com pasta oral contendo ivermectina (Eqvalan[®] pasta oral a 1,87% de ivermectina) ou ivermectina e praziquantel (Equimax[®]). Ambas as formulações são administradas na dose de 0,2mg/Kg de ivermectina. Em Dezembro de 2003 foram realizadas com recurso a ivermectina injectável na dose de 0,2mg/Kg (Ivomec[®] injectável).

2. Desenho Experimental

2.1 Objectivo

Pretendeu-se com o presente trabalho estudar as variações na eliminação de ovos nas fezes dos animais residentes no CMEFD durante um período de controlo anti-parasitário selectivo com um limiar de desparasitação de 500 OPG (ovos por grama de fezes) em que apenas os animais com uma contagem de ovos igual ou superior a 500 OPG são desparasitados. Os animais foram divididos em grupos de acordo com a função e idade para avaliar as relações existentes com a eliminação de ovos. Adicionalmente foram avaliados parâmetros hemáticos em dois grupos etários distintos sujeitos a um nível elevado de stress fisiológico e/ou psicológico. A incidência de patologia gastro-intestinal também foi registada com vista a comparação com a de anos anteriores.

2.2 Período do estudo

O estudo foi realizado entre Janeiro e Junho de 2004.

2.3 Dados recolhidos

2.3.1 História clínica (Anamnese)

Foram colhidos os dados relativos à identificação dos animais (nome, sexo, idade, raça, função), ao maneio (alojamento, alimentação, trabalho) e à história médica do animal (acções de profilaxia, patologias e tratamentos).

2.3.2 Avaliação de parâmetros sanguíneos

Foi efectuada recolha mensal de sangue durante os períodos de maior actividade de dois grupos sujeitos a maior *stress*, o grupo dos poldros de desbaste e o dos cavalos de desporto. As recolhas foram efectuadas no dia 23 dos meses de Maio a Junho de 2004. O sangue era recolhido e processado imediatamente após a colheita no laboratório do CMEFD. Foi realizada contagem diferencial de leucócitos e pesquisa de hemoparasitas em esfregaços de sangue fresco corados com Diff-Quick[®], as proteínas do soro foram avaliadas com um densitómetro de mão após centrifugação do sangue com EDTA e o microhematócrito foi determinado com sangue heparinizado.

2.3.3 Colheita de Fezes

Foram colhidas amostras individuais de fezes a todos os animais alojados no CMEFD à data das avaliações (no dia 23 de cada mês durante o estudo). Adicionalmente foram colhidas amostras aos animais desparasitados – animais que apresentaram valores iguais ou superiores a 500 OPG na última colheita – nos dias 0 e 14, para efectuar o cálculo da Taxa de Redução da Contagem de Ovos Fecais (TRCOF). O PRO foi avaliado com base nas amostragens mensais posteriores à desparasitação.

A colheita de amostras de fezes foi feita em luvas de palpação rectal numeradas, cada uma com 5 a 6 amostras individuais colhidas sequencialmente. A identificação dos animais era registada em papel, aposta aos números das luvas correspondentes (cerca de 15 luvas numeradas de 1.1 a 1.5, 2.2 a 2.5 etc) por forma a possibilitar a realização de um ensaio cego. A colheita e os registos foram sempre efectuados por mim do mesmo modo para evitar erros. As amostras eram colhidas durante a manhã, transportadas à temperatura ambiente para o Laboratório de Doenças Parasitárias da FMV/UTL em Lisboa e armazenadas de seguida em refrigeração (a cerca de 4°C) até ao dia seguinte, no qual eram todas processadas.

2.3.4 Colheita de erva do pasto

A colheita de erva do pasto foi realizadas nos meses de Março e Abril (início da Primavera) nos pastos onde se encontravam os grupos de éguas de ventre e poldros de desmame. A técnica de amostragem foi a do duplo W (Slocombe, Valenzuela e Lake, 1987) e a colheita foi realizada entre as nove e as dez horas da manhã. As L3 foram extraídas por lavagem com água da torneira, centrifugação e filtração com peneiros de malha decrescente de 1000, 500 e 20 µm, concentradas com funil de Buchner e bomba de vácuo e isoladas através de aparelho de Baermann. Não foram realizadas colheitas em datas posteriores devido aos resultados negativos obtidos em ambos os meses.

2.4 Administrações de anti-parasitários

As administração orais de desparasitante durante o estudo foram sempre efectuadas ou supervisionadas por mim ou por médico veterinário responsável do CMEFD.

2.5 Processamento laboratorial das amostras de fezes

Para determinação do nível de OPG utilizou-se o método de McMaster de acordo com a técnica de Thienpont *et al.* (1986), com um limiar de detecção de 50 ovos/g de fezes (OPG). Foi utilizada uma solução sacarose ($\rho=1,2$) para a suspensão dos ovos. Os resultados foram expressos pela média aritmética do OPG do grupo para cada colheita. Todas as análises foram efectuadas sequencialmente da mesma maneira e observadas pelo mesmo operador (autora da tese).

Coproculturas de grupo em duplicado foram realizadas no início, no meio e no fim do ensaio, sendo efectuadas de acordo com a metodologia de Madeira de Carvalho (2001). Foram efectuadas ainda coproculturas individuais após desparasitação. Cada coprocultura era efectuada com cerca de 20g de fezes e os pesos exactos registados com uma balança electrónica com precisão de $\pm 0,1$ g para estimativa do número de L3/g detectadas em cada amostra. As coproculturas foram incubadas durante 11-14 dias à temperatura de 26-28 °C e humidade relativa de 70-80%. As L3 foram recolhidas pelo método de Ueno e Gutierrez (1983): depois de retiradas da estufa é colocada água nos copos de plástico com as amostras e os mesmos são invertidos sobre placas de Petri com água durante cerca de 24h, findas as quais é retirada a água com as larvas para tubos de ensaio que são armazenados em refrigeração (4°C) até observação.

2.6 Análise Estatística

A análise estatística dos resultados foi efectuada com recurso à utilização do programa Microsoft® Excel 2008 para Mac e do programa SPSS® 17.0.

A TRCOF é calculada individualmente, sendo cada animal o seu próprio controlo, considerando o limiar de 95% para avaliação do aparecimento de resistências (Craven *et al.*, 1998). Os valores do PRO para eliminações positivas e para eliminações de 100 ou 200 OPG serão interpretados face aos 56 e 84 dias apresentados em vários estudos de eficácia com TRCOF de 99,9 a 100% (Herd, Williardson e Gabel, 1985; Muñoz, Garcia-Pérez, Povedano e Juste, 1994; Alzieu, Bourdenx, Alzieu, Flochlay, Blond-Riou e Dorchies, 1997; Boersema, Eysker e van der Aar, 1998; Paulrud, Pedersen e Eydal, 1997), considerando a idade dos animais e as condições de manejo (pastoreio ou estabulação e intensidade do trabalho).

Estudo 2 – CMEFD 2008/2009

1. Caracterização da População Estudada

1.1 Composição

Os 75 animais analisados neste estudo constituíam a população de equídeos de trabalho residente do Centro Militar de Educação Física e Desporto do Exército Português, situado em Mafra. Em 2008 encontravam-se 29 dos animais presentes no CMEFD em 2004. Não foram incluídos no estudo animais a campo (éguas e poldros) nem poldros estabulados em desbaste, dada a impossibilidade de acompanhamento e recolha de amostras nos animais a campo e pela ausência de poldros em período de desbaste durante o estudo. Para efeitos de avaliação da viabilidade económica, foram incluídos todos os animais do CMEFD. Nos resultados de eficácia (cálculo da TRCOF), bem como no cálculo do PRO foram incluídos os animais presentes no dia 14 ou que apresentaram contagens positivas após a desparasitação durante o período de estudo, respectivamente. A amostra analisada para avaliar a variação de eliminação de acordo com a idade e com a condição corporal (CC) foi de 42 animais, pois foram apenas incluídos os animais que estavam presentes no CMEFD em todas as datas de recolha de dados durante o estudo.

1.2 Sexo

A maioria dos 75 animais (43) eram machos castrados (57,3%), 22 eram fêmeas (29,3%) e apenas 10 machos inteiros (13,3%). Esta prelação alterou-se ligeiramente na amostra analisada para a variação da CC e da idade (n=42): 20 machos castrados (47,6%), 15 fêmeas (35,7%) e 7 machos inteiros (16,7%). No entanto as proporções gerais mantêm-se nesta amostra e são equiparáveis às do estudo de 2004.

1.3 Idade

Os animais do CMEFD apresentavam idades dos 3 aos 23 anos (média $10,68 \pm 5,16$). Dos animais incluídos na análise estatística para estudo da variação de eliminação em função da idade e da condição corporal ($n=42$), as idades variavam também entre 3 e 23 anos, com uma média de $10,4 \pm 4,57$ anos. A distribuição etária é semelhante à de 2004, excepto pelo facto de existirem menos animais com menos de 3 anos e com mais de 20 anos.

1.4 Raça

Os 75 animais residentes são de várias raças, representando o cruzado português 48% (36), o Puro Sangue Lusitano 24% (18), o Anglo-Luso 10,7% (8), o Português de Desporto 9,3% (7) e as restantes raças, Puro Sangue Árabe, Holandês e Sela Francês, 8% (6). Dos animais incluídos na análise estatística ($n=42$), 50% são Cruzado Português, 26,2% (11) são Puro Sangue Lusitano, 9,5% (4) são de raça Anglo-Lusa e 9,5% (4) Português de Desporto, sendo os restantes 4,8% (2) de outras raças. A proporção de raças mantém-se nesta amostra, mas face a 2004, é notória uma maior proporção de animais PSL incluídos no estudo.

1.5 Função

Os animais estabulados do CMEFD são animais de desporto, sendo a maioria cavalos de sela e apenas quatro cavalos de atrelagem (animais mais pesados e com menos aptidão para sela mas que também são montados). As modalidades desempenhadas são essencialmente as de ensino e obstáculos, tendo alguns animais aptidão mista, tal como ocorria em 2004. Não foram separados grupos relativamente à função por se tratarem na sua totalidade de animais com aptidão de sela, desempenhando apenas ocasionalmente a função reprodutiva (garanhões Puro Sangue Lusitano).

1.6 Maneio

1.6.1 Alojamento

Idêntico ao de 2004.

1.6.2 Alimentação

O maneio alimentar era idêntico ao realizado em 2004. No final de Dezembro de 2008 foi no entanto alterado o fornecimento de concentrado, que passou a ser de qualidade superior, pois a maioria dos animais apresentava condição corporal abaixo do desejável.

1.6.3 Trabalho

Os animais apresentavam intensidades de trabalho diferentes, suave e moderada, mas nenhum se encontrava em trabalho intenso (como em 2004) e os tempos de trabalho diário durante a semana iam de 30 minutos a 1 hora. Durante o tempo do estudo há alguma variação nos tempos de trabalho e intensidade do mesmo nalguns animais devido a lesões músculo-esqueléticas, tal como em 2004. Não foram separados grupos de acordo com a função e intensidade do trabalho por não haver animais sujeitos a trabalho ou *stress* intenso, tal como os poldros em desbaste ou animais de desporto em competição.

1.6.4 Maneio médico-veterinário

O maneio é idêntico ao realizado em 2004 e as desparasitações efectuadas desde Dezembro de 2004 foram efectuadas com pasta oral contendo ivermectina (Eqvalan[®] pasta oral a 1,87% de ivermectina) ou ivermectina e praziquantel (Equimax[®]).

No presente estudo (Novembro de 2008 a Maio de 2009) foi utilizada a pasta oral Equimax[®], com 18,7mg de ivermectina e 140,3mg de praziquantel em 6,42g de pasta graduada de 50 em 50Kg para um total de 600Kg de peso corporal (dosagem de 0,2mg/Kg de ivermectina).

2. Desenho Experimental

2.1 Objectivo

Pretendeu-se com o presente trabalho estudar as variações na eliminação de ovos nas fezes dos animais residentes no CMEFD, assim como as variações na condição corporal dos mesmos durante um período de controlo anti-parasitário selectivo com um limiar de desparasitação de 500 OPG.

Subsidiariamente, pretendeu-se avaliar as relações existentes entre a eliminação de ovos e outros parâmetros, como o sexo, idade, a raça e a existência de patologia gastro-intestinal, tal como no estudo 2004.

2.2 Período do estudo

O estudo foi realizado entre Novembro de 2008 e Maio de 2009, com colheita de amostras e avaliação da condição corporal com periodicidade mensal (perfazendo um total de 6 avaliações mensais).

O único mês em que não foram colhidos dados foi no mês de Março de 2009, pois nesse mês a data da colheita coincidiu com a realização da Semana Equestre no CMEFD, o que fez com que mais de metade dos animais residentes não encontrassem nas instalações CMEFD para que pudessem ser alojados animais vindos de outras unidades.

2.3 Dados recolhidos

2.3.1 História clínica (Anamnese)

Procedimento idêntico ao de 2004.

2.3.2 Avaliação da Condição Corporal (CC)

Foi avaliada a condição corporal individual de todos os animais alojados no CMEFD à data das avaliações (28 de Novembro de 2008, 19 de Dezembro de 2008, 23 de Janeiro de 2009, 20 de Fevereiro de 2009, 17 de Abril de 2009 e 19 de Maio de 2009).

O método escolhido para a avaliação da condição corporal foi o da utilização da escala francesa (Arnaud, Dubroeuq e Rivot, 1997), em que é feita uma apreciação visual (linha do dorso, pescoço, garrote, costado e garupa) e uma avaliação dos depósitos adiposos superficiais por palpação (crineira, garrote, atrás da espádua, costado e base da cauda). A notação é feita numa escala de 0 a 5, podendo a apreciação ser feita a $\frac{1}{2}$ ou $\frac{1}{4}$ de ponto. No presente trabalho a nota foi atribuída a $\frac{1}{4}$ de ponto, sendo a nota a média das notas atribuídas aos vários locais apreciados. A apreciação visual do estado da pelagem não é incluída na nota por poder ser inadequadamente avaliada: a pelagem de inverno, a sujidade e doenças de pele podem influenciar o estado da pelagem, não obstante a existência de condição corporal desejável (Arnaud *et al*, 1997).

2.3.3 Colheita de Fezes

Foram colhidas amostras individuais de fezes a todos os animais alojados no CMEFD à data das avaliações (28 de Novembro de 2008, 19 de Dezembro de 2008, 23 de Janeiro de 2009, 20 de Fevereiro de 2009, 17 de Abril de 2009 e 19 de Maio de 2009). O procedimento de colheita e análise foi em tudo idêntico ao realizado em 2004.

2.4 Administrações de anti-parasitários

As administração orais de desparasitante durante o estudo foram sempre efectuadas ou supervisionadas por mim ou por médico veterinário responsável do CMEFD à semelhança de 2004.

2.5 Processamento laboratorial das amostras de fezes

O procedimento foi idêntico ao de 2004.

2.6 Análise Estatística

A análise estatística dos resultados foi efectuada com recurso à utilização do programa Microsoft[®] Excel 2008 para Mac e do programa SPSS[®]17.0. e as considerações relativas à TRCOF e ao PRO foram as mesmas utilizadas para o estudo de 2004. Para a realização de testes interpretação e resultados em análises multivariadas de modelo linear geral foram utilizadas as recomendações de Field (2009).

RESULTADOS

1. Avaliação da Eliminação Parasitária

1.1 Evolução das contagens de ovos (OPG) durante os ensaios

I. CMEFD 2004

Evolução das contagens do ovos de strongilídeos (SOPG)

Podemos observar uma clara diferença entre as contagens de três dos grupos do estudo e os restantes: os poldros de desbaste com 3 anos, as éguas de ventre e os poldros de desmame (com 6 a 7 meses de idade no início do estudo) apresentam contagens mais elevadas que todos os outros grupos no início do estudo. No entanto, estes grupos não tinham sido sujeitos à desparasitação de rotina realizada em Dezembro de 2003, sendo-o em Janeiro de 2004. Apesar disso, os animais jovens retomam contagens elevadas durante o estudo: os poldros de desbaste apresentam uma subida acentuada em Abril e são sujeitos a nova desparasitação (seta amarela) e os poldros de desmame apresentam contagens elevadas no final do estudo. Durante o estudo apenas foram desparasitados selectivamente apenas 4 animais dos outros grupos (2 em Janeiro, 1 em Março e 1 em Maio).

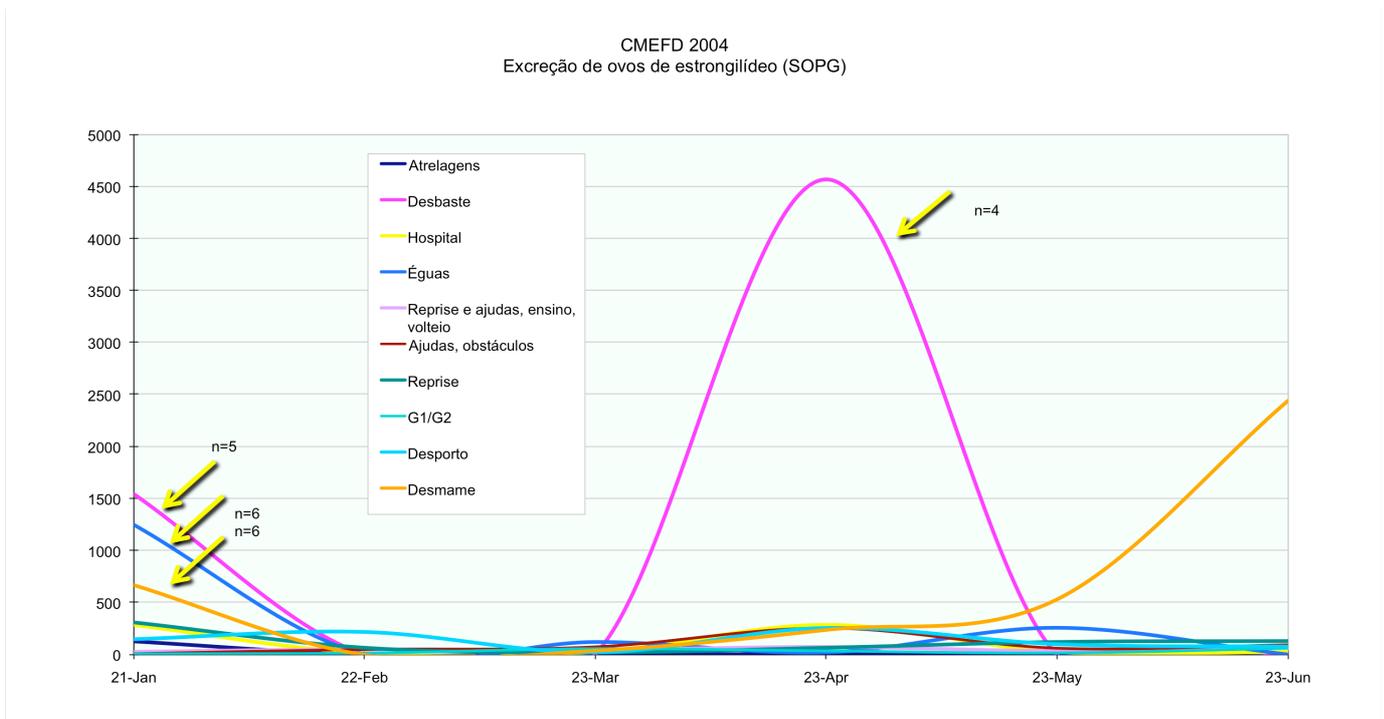


Fig. 12 Eliminação de ovos de strongilídeo (SOPG) no estudo CMEFD 2004¹. As setas amarelas indicam a data da desparasitação e na legenda constam os números de animais desparasitados.

Evolução das contagens do ovos de Parascaris equorum (POPG)

Apenas os poldros de desmame apresentaram contagens significativas de ovos de ascarídeo, que ocorreram dois meses após a desparasitação. No entanto, e seguindo o padrão deste tipo de infecção, após um segundo mês a eliminar ovos os poldros deixaram praticamente de o fazer em Maio e Junho (rápida aquisição de imunidade).

Nos outros grupos apenas um animal do grupo das éguas apresentou contagens no mês de Abril (400 SOPG) e um animal dos outros grupos estabulados em Maio e Junho (150 e 100 OPG). Este último teve no entanto acesso a um parque onde tinham estado previamente os poldros com as mães.

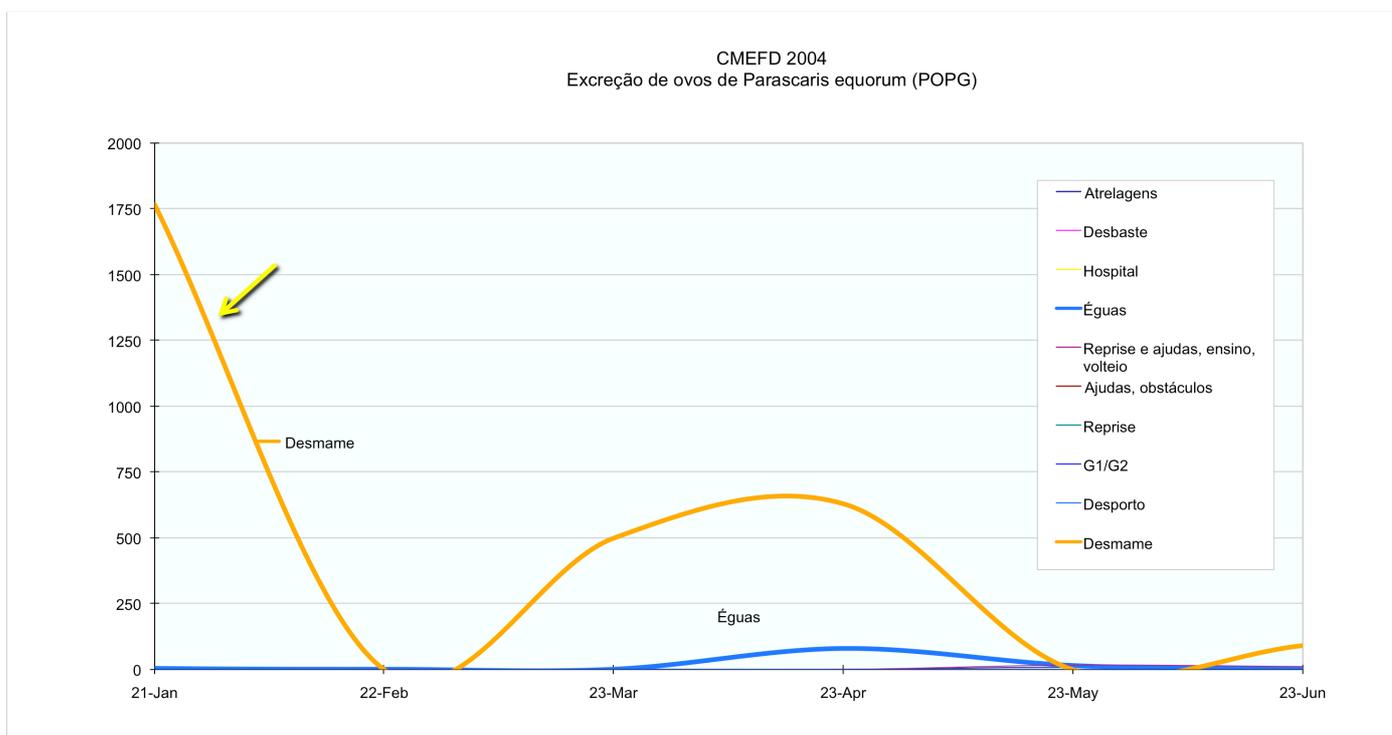


Fig. 13 Eliminação de ovos de ascarídeo (POPG) no estudo CMEFD 2004. A seta amarela indica a data da desparasitação do grupo dos poldros de desmame.

II CMEFD 2008-2009

Evolução das contagens do ovos de estrogilídeos (SOPG)

Podemos observar que os 75 animais estabulados apresentaram contagens médias inferiores a 500 OPG durante todo o estudo. Na amostra utilizada para análise estatística multivariada (n=42) mantém-se esta eliminação, mas o impacto da primeira desparasitação realizada em Dezembro é superior ao do grupo e as contagens posteriores mais baixas.

Estes resultados devem-se ao facto de que a amostra (n=42) incluiu 2/3 dos animais desparasitados em Dezembro, Janeiro e Fevereiro, assim como todos os animais da última desparasitação em Maio.

CMEFD 2008/9 Excreção de ovos de estrogilídeo (SOPG)
em animais estabulados (n=75) e na amostra (n=42)

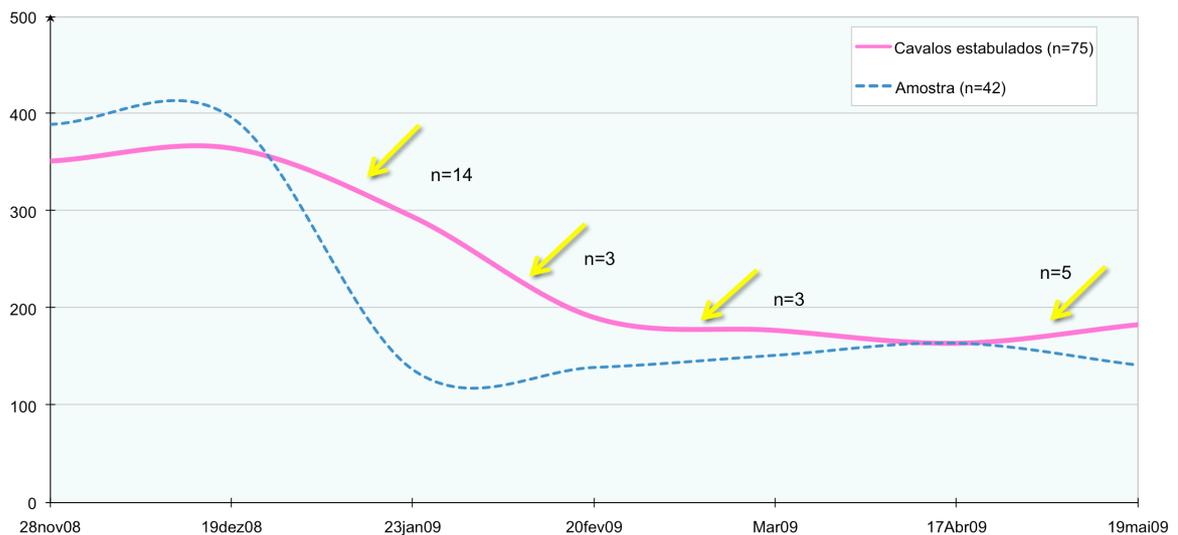


Fig. 14 Eliminação de ovos de estrogilídeo (SOPG) no estudo CMEFD 2008/9.

Evolução das contagens do ovos de Parascaris Equorum (POPG)

Os animais estabulados apenas pontualmente eliminam de ovos de *P. equorum*. Um animal de 7 anos apresentou contagens positivas em Novembro, Abril e Maio (150, 250 e 950 POPG com valores respectivos de SOPG baixos: 50, 50 e 150), um outro animal de 7 anos apresentou uma contagem de 50 OPG em Fevereiro e um de 3 anos (quase 4) apresentou contagens positivas de 350 POPG em Dezembro. Neste caso os animais possivelmente contaminaram-se como resultado da sua colocação esporádica em parque onde são colocados poldros de mama e as suas mães, tal como ocorreu em 2004.

1.2 Influência do clima na eliminação de ovos

Para a elaboração dos gráficos foram utilizados os dados de temperatura e pluviosidade na zona da grande Lisboa para 2003, 2004, 2008 e 2009 (Instituto de Meteorologia, IP).

1.2.1 Avaliação da eliminação de ovos (SOPG) em animais éguas e poldros em pastoreio (CMEFD 2004)

As éguas de ventre e os poldros de desmame com 6 a 7 meses de idade apresentavam contagens moderadas a elevadas em Janeiro, motivo pelo qual os dois grupos foram desparasitados a seguir à análise. As éguas mantiveram até ao final do estudo contagens baixas (abaixo de 500 OPG) mas os poldros apresentaram a típica subida de Primavera (*spring rise*) entre Maio e Junho, coincidente com o aumento da temperatura média e níveis elevados de precipitação (em Maio).

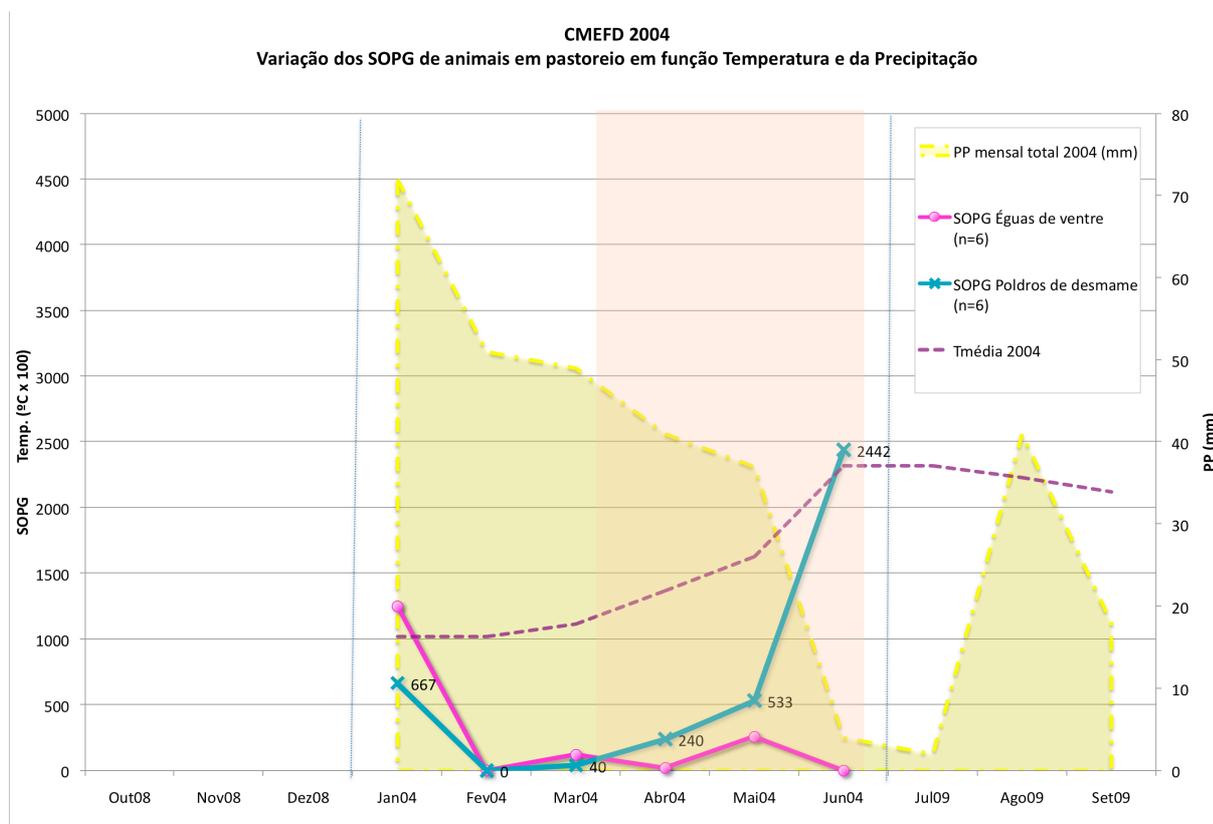


Fig. 15 Variação de SOPG de animais em pastoreio (CMEFD 2004).

1.2.2 Avaliação da eliminação de ovos (SOPG) em animais estabulados, incluindo animais adultos e poldros de 3 anos recém-estabulados em ambos os estudos (CMEFD 2004 e CMEFD 2008/9): influência das contagens dos poldros nas médias de grupo

Em 2004 os níveis de eliminação mantiveram-se abaixo de 500 OPG mas a influência das contagens mais elevadas dos poldros de desbaste é patente (notar a forma da linha verde no gráfico e confrontar com o gráfico de 2004 – Fig. 12).

Apesar de as médias de grupo se situarem em valores abaixo de 600 OPG em 2009 (amostra de n=42 e 6 poldros de 3 anos recém-estabulados), é também patente a subida abrupta das contagens em Fevereiro, coincidente com a introdução das contagens de poldros de 3 anos (n=6) nesse mês: os animais adultos com maiores contagens foram desparasitados em Dezembro (n=9 na amostra de 42 animais, com 850 a 2000 OPG), sendo apenas desparasitados 2 animais em Janeiro (com 700 e 900 OPG), 2 em Março (500 e 1200 OPG) e 5 em Abril (500 a 1000 OPG). É de notar que os animais do estudo de 2009 não eram desparasitados desde Dezembro de 2007 e que os 6 poldros introduzidos só foram desparasitados após o fim do estudo, o que explica a manutenção de OPG acima de 500.

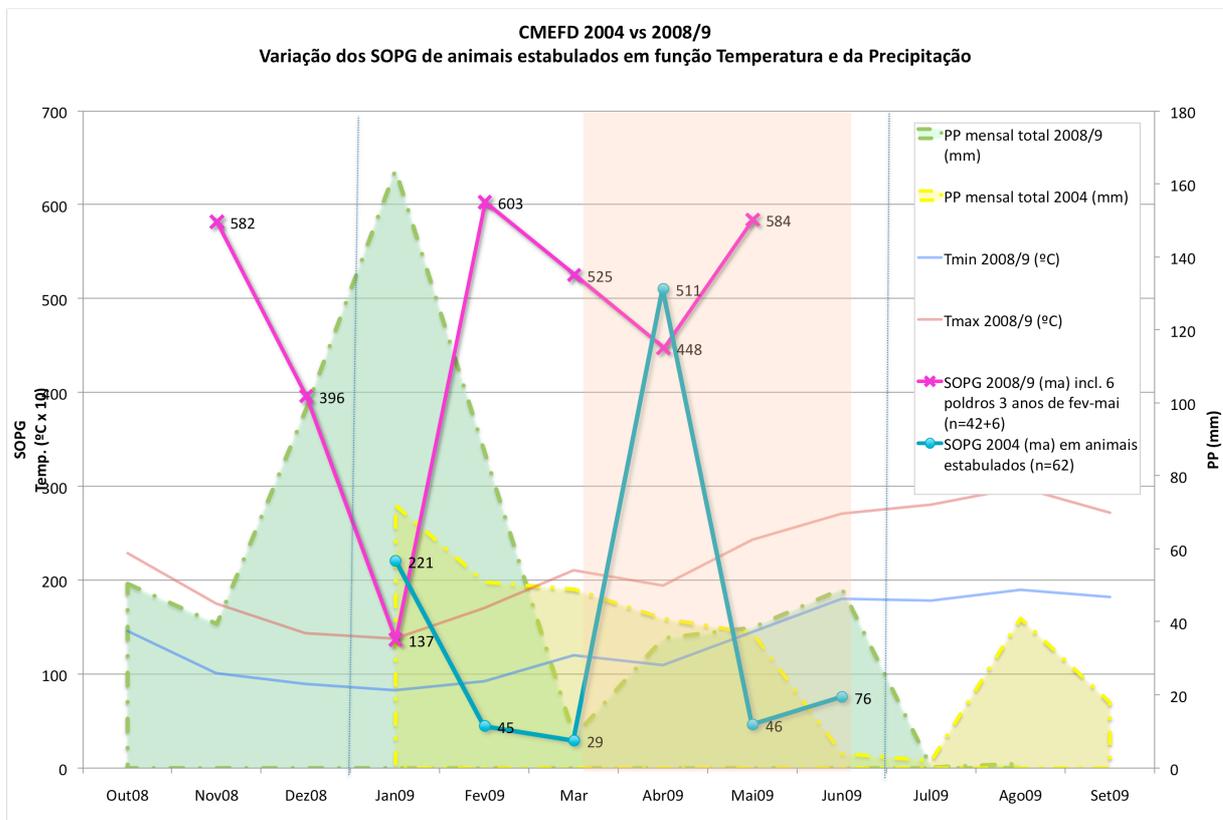


Fig. 16 Variação de SOPG de animais jovens e adultos estabulados (CMEFD 2004 e CMEFD 2008/9).

1.2.3 Avaliação da eliminação de ovos (SOPG) em poldros de 3 anos estabeledos (CMEFD 2004 e CMEFD 2008/9)

O que foi exposto relativamente às eliminações parasitárias dos poldros é bem patente no gráfico abaixo: os poldros de 3 anos em 2004 apresentam contagens elevadas em Janeiro que diminuem após a deparasitação e aumentam abruptamente em Abril, só diminuindo após segunda desparasitação. Já os poldros de 3 anos não desparasitados apresentam contagens elevadas (entre 3500 e 4500 OPG) durante todo o estudo em 2009, mostrando o padrão que influenciou os resultados das contagens de grupo (Fig. 16).

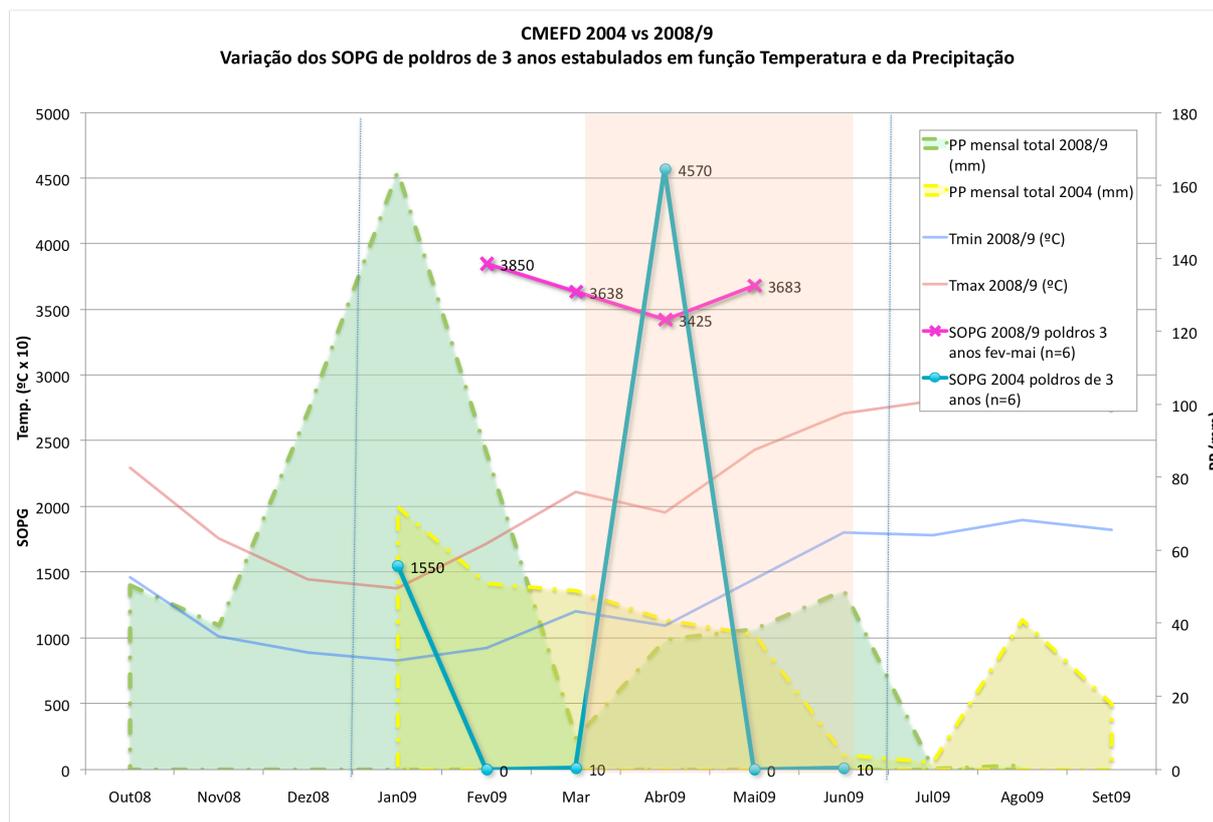


Fig. 17 Varição de SOPG de animais jovens estabeledos (CMEFD 2004 e CMEFD 2008/9).

1.2.4 Avaliação da eliminação de ovos (SOPG) em animais estabulados não desparasitados (CMEFD 2004 e CMEFD 2008/9)

No gráfico abaixo podemos observar a evolução das contagens dos animais não desparasitados durante os dois estudos. Apesar de se tratarem de contagens muito baixas, há uma tendência de aumento das contagens relacionado com o aumento da temperatura em ambos os estudos, mas seria necessário acompanhar o fenómeno durante mais tempo para averiguar as eliminações durante o Verão e o Outono. De notar é o facto de os animais não desparasitados em 2008/9 já não serem desparasitados desde Dezembro de 2007 e manterem apesar disso níveis de eliminação baixos.

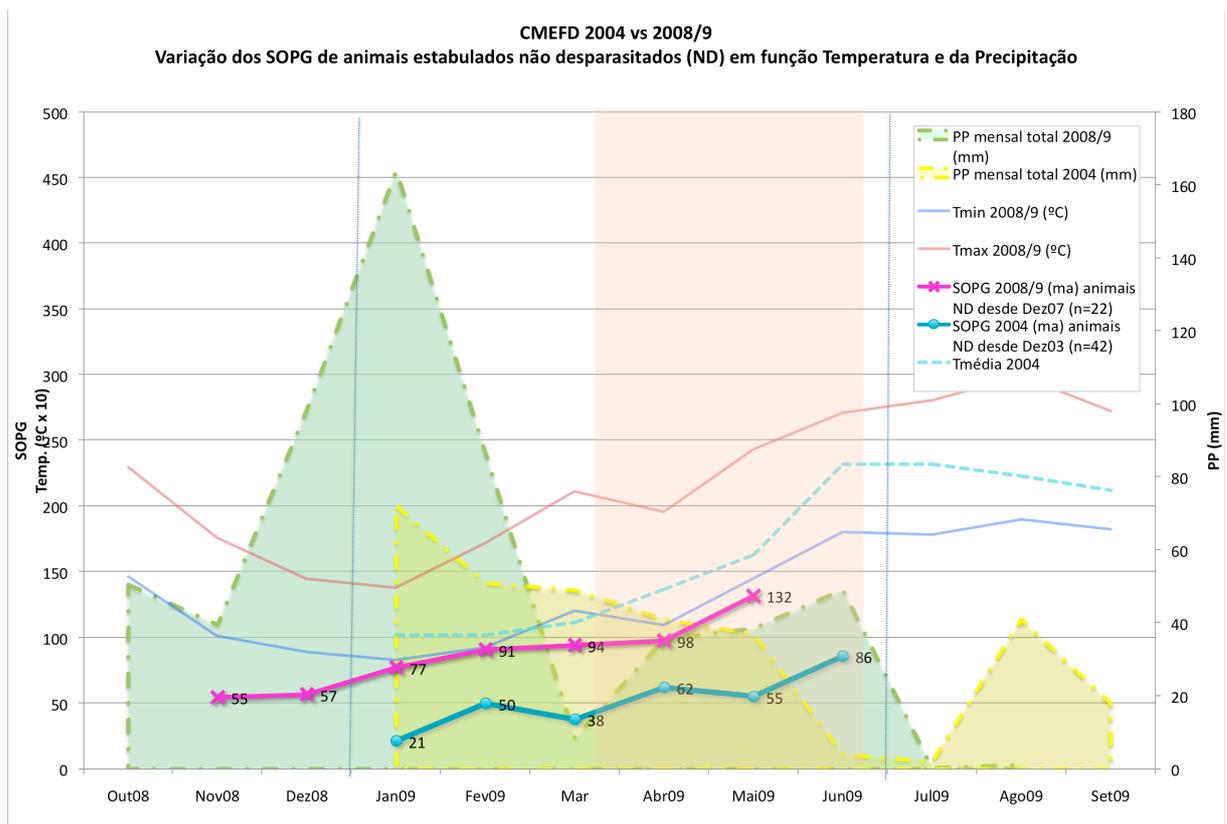


Fig. 18 Variação de SOPG de animais não desparasitados em estabulação (CMEFD 2004 e CMEFD 2008/9).

1.3 Influência da idade na eliminação de ovos

A elevada eliminação de ovos de *strongilídeo* em poldros de com menos de um ano em regime de pastoreio é observada no estudo de 2004, e em ambos os estudos é patente a influências das contagens de poldros com 3 anos recém-estabulados nas médias de SOPG nas contagens dos grupos de equinos estabeulados.

No entanto, em Novembro de 2008 também existiam 6 poldros de 3 anos estabeulados (dos deles na amostra analisada de 42 animais), embora estes equinos já tivessem praticamente quatro anos de idade e completado a fase inicial de ensino (desbaste) em Abril. Dado que na amostra estudada em 2009 apenas existiam dois poldros de 3 anos, e dado que já se verificou que os poldros de desbaste exibem contagens significativamente mais elevadas que as dos restantes animais estabeulados, procurou-se averiguar se existia diferença significativa entre as contagens dos animais estabeulados pertencentes a três grupos etários: adultos jovens com menos de 7 anos, adultos dos 7 aos 14 anos e animais com 15 ou mais anos.

Podemos observar com base na tabela 3 que 19% dos animais da amostra (n=42) têm menos de 7 anos, que dois terços têm entre 7 e 14 anos (66,7%) e que apenas 14% têm mais de 14 anos. É de notar que a idade considerada mais produtiva nos cavalos de sela é dos 7 aos 14 anos, podendo alguns animais manter-se desportivamente activos até aos 18 (embora constituam geralmente uma excepção).

		Classe etária			
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	[>=3 e <7]	8	19,0	19,0	19,0
	[7 a 14]	28	66,7	66,7	85,7
	>14	6	14,3	14,3	100,0
	Total	42	100,0	100,0	

Tabela 3 Número e percentagem de animais por classe etária.

Para analisar as relações entre a idade e a eliminação individual de ovos nas 6 datas de colheita foi utilizado um modelo linear geral (*General Linear Model*), que considera como variável dependente as medidas de SOPG nas diferentes datas (factores relativos ao indivíduo) e como variável independente a classe etária a que pertencem (factores em que cada grupo de indivíduos é comparado para cada nível da variável) (Tabelas 4 e 5).

Within-Subjects Factors

Measure:MEASURE_1

Data	Dependent Variable
1	SOPG28nov08
2	SOPG19dez08
3	SOPG23jan09
4	SOPG20fev09
5	SOPG17abr09
6	SOPG19mai09

Tabela 4 Variáveis dependentes.

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Class etaria	1	[>=3 e <7]	8
	2	[7 a 14]	28
	3	>14	6

Tabela 5 Variáveis independentes.

A estatística descritiva apresentada na tabela 6 mostra-nos que à primeira vista parecem existir diferença entre as contagens dos animais mais jovens (<7 anos) face aos restantes em todas as datas excepto Janeiro de 2009, com base nas médias e desvios-padrão mais elevados.

Resultados

Descriptive Statistics

	Class etaria	Mean	Std. Deviation	N
SOPG28nov08	[>=3 e <7]	1143,75	1167,854	8
	[7 a 14]	241,07	544,340	28
	>14	75,00	125,499	6
	Total	389,29	755,269	42
SOPG19dez08	[>=3 e <7]	825,00	684,001	8
	[7 a 14]	275,00	416,444	28
	>14	391,67	772,280	6
	Total	396,43	559,223	42
SOPG23jan09	[>=3 e <7]	118,75	173,076	8
	[7 a 14]	157,14	270,704	28
	>14	66,67	87,560	6
	Total	136,90	235,315	42
SOPG20fev09	[>=3 e <7]	206,25	424,632	8
	[7 a 14]	141,07	200,025	28
	>14	41,67	102,062	6
	Total	139,29	246,323	42
SOPG17abr09	[>=3 e <7]	262,50	324,863	8
	[7 a 14]	148,21	195,070	28
	>14	108,33	217,754	6
	Total	164,29	226,663	42
SOPG19mai09	[>=3 e <7]	331,25	535,149	8
	[7 a 14]	116,07	118,676	28
	>14	8,33	20,412	6
	Total	141,67	261,309	42

Tabela 6 Estatística descritiva de SOPG para as diferentes classes etárias.

Para sabermos se estas diferenças são significativas, teremos de fazer uma análise multivariada de variância (MANOVA). Este tipo de análise só é possível quando a população apresenta distribuição normal (não podem existir *outliers* ou indivíduos com valores extremos de SOPG), quando o número de indivíduos por classe etária é suficiente e quando existem suficientes dados (contagens). Assim sendo, é necessário verificar se estes e outros

pressupostos são validados por testes específicos, como o teste de Box, que verifica a homogeneidade das matrizes de co-variação (tabela 7).

Box's Test of Equality of Covariance Matrices^a

Box's M	87,496
F	2,694
df1	21
df2	609,299
Sig.	,000

Tests the null hypothesis that the observed covariance matrices of the dependent variables are equal across groups.

a. Design: Intercept + classeetaria Within Subjects Design: Data

Tabela 7 Teste de Box para a Igualdade das Matrizes de Co-variação.

De acordo com o teste de Box a variação das medidas das contagens entre animais não é uniforme nas várias classes etárias (existe diferença significativa, $p > 0,05$), pelo que será então necessário avaliar a homogeneidade da variância das diferenças entre medidas repetidas, neste caso SOPG nas diferentes datas para cada indivíduo, o que é feito com o teste de Mauchly para a esfericidade (tabela 8).

Mauchly's Test of Sphericity^b

Measure: MEASURE_1

Within Subjects Effect	Mauchly's W	Approx. Chi-Square	df	Sig.	Epsilon ^a		
					Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Lower-bound
Data	,079	94,004	14	,000	,474	,533	,200

Tests the null hypothesis that the error covariance matrix of the orthonormalized transformed dependent variables is proportional to an identity matrix.

a. May be used to adjust the degrees of freedom for the averaged tests of significance. Corrected tests are displayed in the Tests of Within-Subjects Effects table.

b. Design: Intercept + classeetaria Within Subjects Design: Data

Tabela 8 Teste de Mauchy para a esfericidade.

Como o pressuposto de esfericidade é violado, utiliza-se a correcção de Greenhouse-Geisser (tabela 9).

Tests of Within-Subjects Effects

Measure: MEASURE_1

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Data	Sphericity Assumed	4539312,590	5	907862,518	6,121	,000
	Greenhouse-Geisser	4539312,590	2,371	1914729,523	6,121	,002
	Huynh-Feldt	4539312,590	2,664	1704113,442	6,121	,001
	Lower-bound	4539312,590	1,000	4539312,590	6,121	,018
Data * classeetaria	Sphericity Assumed	4369573,413	10	436957,341	2,946	,002
	Greenhouse-Geisser	4369573,413	4,741	921565,881	2,946	,018
	Huynh-Feldt	4369573,413	5,327	820195,640	2,946	,014
	Lower-bound	4369573,413	2,000	2184786,706	2,946	,064
Error(Data)	Sphericity Assumed	2,892E7	195	148324,990		
	Greenhouse-Geisser	2,892E7	92,459	312825,160		
	Huynh-Feldt	2,892E7	103,886	278415,073		
	Lower-bound	2,892E7	39,000	741624,949		

Tabela 9 Resultados da correcção de Greenhouse-Geisser aplicada à análise inter-individual de SOPG e classe etária

F é significativo para a correcção de Greenhouse-Geisser ($p > 0,05$), ou seja, os níveis de SOPG diferem significativamente entre as diferentes épocas de colheita nas diferentes classes etárias.

Seguidamente, verifica-se se esta variação do SOPG é igual em todos os indivíduos dos vários grupos etários ou se há diferenças significativas para cada data de amostragem (tabelas 10 e 11). Da análise das tabelas podemos constatar que em Novembro, Fevereiro e Maio as diferenças entre grupos etários nas contagens não se devem a variações individuais comuns a todas as classes etárias (as diferenças são significativas, $p > 0,05$).

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
SOPG28nov08	7,827	2	39	,001
SOPG19dez08	1,198	2	39	,313
SOPG23jan09	1,169	2	39	,321
SOPG20fev09	3,683	2	39	,034
SOPG17abr09	,733	2	39	,487
SOPG19mai09	7,075	2	39	,002

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + classeetaria Within Subjects Design: Data

Tabela 10 Teste de Levine para a igualdade do erro associado à variância.

Por outro lado há que saber se esta diferença ocorre em indivíduos pertencentes a diferentes classes etárias (tabela 11).

Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	1,104E7	1	1,104E7	49,774	,000
classeetaria	3926855,159	2	1963427,579	8,849	,001
Error	8653829,365	39	221893,061		

Tabela 11 Teste de comparação

Podemos constatar com base no teste anterior que há diferença significativa do SOPG entre indivíduos, e que esta diferença se verifica em diferentes classes etárias, mas ainda não sabemos em quais. Assim, vamos utilizar um teste para saber quais as médias de SOPG que são significativamente diferentes para as três classes etárias (tabela 12). O teste mais recomendado é o de Dunnett C, que não assume uma variância igual entre as médias comparadas.

Multiple Comparisons

Measure: MEASURE_1

(I) Class etaria	(J) Class etaria	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
Scheffe	[>=3 e <7]	[7 a 14]	301,49*	77,095	,002	105,30	497,68
		>14	365,97*	103,858	,005	101,67	630,27
	[7 a 14]	[>=3 e <7]	-301,49*	77,095	,002	-497,68	-105,30
		>14	64,48	86,513	,759	-155,68	284,65
	>14	[>=3 e <7]	-365,97*	103,858	,005	-630,27	-101,67
		[7 a 14]	-64,48	86,513	,759	-284,65	155,68
Bonferroni	[>=3 e <7]	[7 a 14]	301,49*	77,095	,001	108,62	494,35
		>14	365,97*	103,858	,003	106,16	625,79
	[7 a 14]	[>=3 e <7]	-301,49*	77,095	,001	-494,35	-108,62
		>14	64,48	86,513	1,000	-151,94	280,91
	>14	[>=3 e <7]	-365,97*	103,858	,003	-625,79	-106,16
		[7 a 14]	-64,48	86,513	1,000	-280,91	151,94
Dunnnett C	[>=3 e <7]	[7 a 14]	301,49*	99,088		14,96	588,02
		>14	365,97*	110,302		31,40	700,55
	[7 a 14]	[>=3 e <7]	-301,49*	99,088		-588,02	-14,96
		>14	64,48	67,825		-143,35	272,32
	>14	[>=3 e <7]	-365,97*	110,302		-700,55	-31,40
		[7 a 14]	-64,48	67,825		-272,32	143,35

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 36982,177.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Tabela 12 Resultados do teste de Dunnnett C para comparações múltiplas.

Concluimos assim que a classe etária que apresenta valores significativamente diferentes das outras é a classe de equinos entre os 3 e os 6 anos de idade. As médias de SOPG para cada classe etária estão indicadas na tabela 13.

MEASURE_1

Class etaria	N	Subset	
		1	2
Scheffe ^{a,b} >14	6	115,28	
[7 a 14]	28	179,76	
[>=3 e <7]	8		481,25
Sig.		,774	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 36982,177.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9,164. b. Alpha = ,05.

Tabela 13 Divisão dos subgrupos etários com contagens SOPG significativamente diferentes.

No gráfico abaixo podemos ver as médias marginais estimadas para cada faixa etária durante as várias datas de recolha (médias que consideram o tamanho desigual das amostras nas diferentes classes etárias).

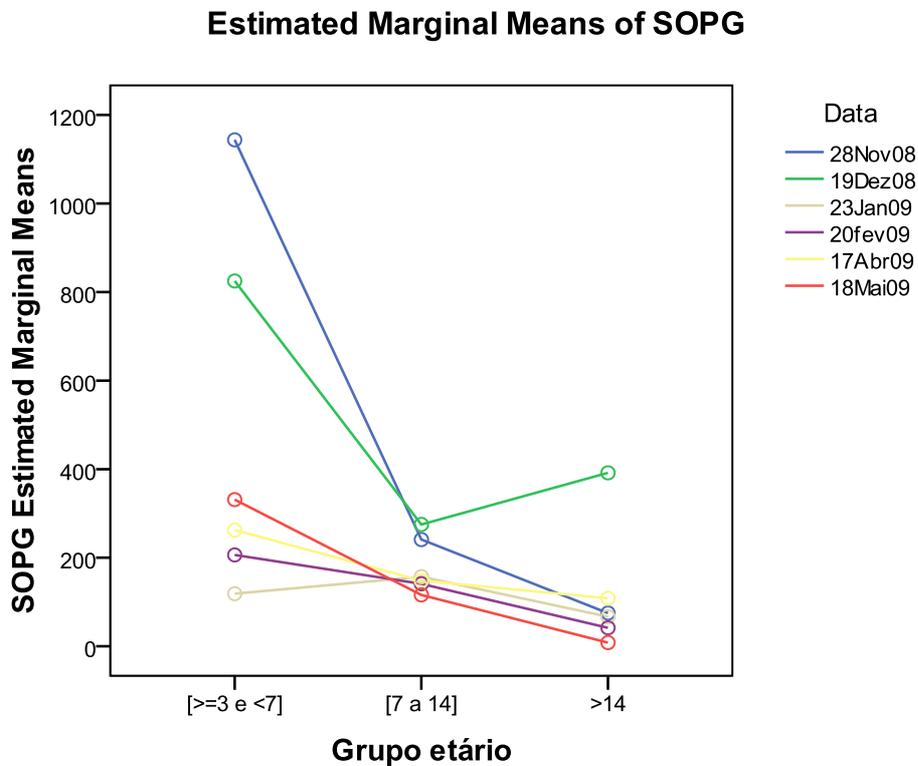


Fig. 19 Médias marginais de SOPG para diferentes grupos etários (n=42) (CMEFD 2008/9).

2. Avaliação da composição parasitária

2.1 Colheita de larvas no pasto (CMEFD 2004)

A colheita de erva foi negativa para L3 infectantes durante o início da Primavera, em Março e Abril, motivo pelo qual não foram efectuadas colheitas adicionais.

2.2 Coproculturas (CMEFD 2004 e CMEFD 2008/9)

I. CMEFD 2004

CMEFD 2004 (Ab. Rel)	Cyathostomum sl								Strongylus spp	
	Cyathostomum sl	A	C	D	E	F	G	Poteriostomum spp	S. equinus	S. edentatus
Éguas ventre	95,54	91,09	3,47	0,5			0,5	1	1,98	3,96
Poldros mama	100	97,95	1,37	0,46						0
Poldros de desbaste	100	94,23	1,44	1,44	1,44	0,96	0,48			
Adultos estabulados	100	95,37	1,88	3,56	1,17	0,96	0,92			

Tabela 14 Abundância relativa (%) das L3 dos diferentes géneros/espécies de strongilídeos presentes em animais jovens e adultos, em regime de estabulação e em pastoreio (CMEFD 2004).

Os resultados das coproculturas realizadas aos vários grupos de equinos mostra uma abundância relativa do subtipo larvar A de *Cyathostomum sensu lato* nos vários grupos etários e em ambos os regimes de manejo, estabulação e pastoreio. Apenas no grupo de éguas de ventre são detectadas espécies do género *Strongylus* e o achado de uma larva de *S. edentatus* numa coprocultura do grupo dos poldros de desmame (6 a 7 meses de idade) é um caso típico de pseudoparasitismo devido a coprofagia.

II. CMEFD 2008-2009

CMEFD 2008/9 (Ab. Rel.)	<i>Cyathostomum</i> sl							
	<i>Cyathostomum</i> sl	A	C	D	E	F	G	<i>Poteriostomum</i> spp
Equinos estabulados	100	95,25 (84 a 100)	1 (0 a 2)	0	0	0	0	3,75 (0 a 15)

Tabela 15 Abundância relativa (%) das L3 dos diferentes géneros/espécies de strongilídeos presentes em animais jovens e adultos, em regime de estabulação e em pastoreio (CMEFD 2008/9).

Nos animais estabulados é patente o predomínio do tipo A de *Cyathostomum sl* e observa-se uma menor diversidade de subtipos larvares que no estudo anterior.

Uma coprocultura realizada em animais de 3 anos em Maio de 2009 (animais não incluídos no estudo) revelou igualmente uma baixa diversidade de tipos larvares: 97.7% de ciatostomíneos (todos do tipo A) e 2,3% de *Tridontophorus serratus* (grande strongilídeo). Estes animais tinham sido desparasitados no início de 2009, o que sugere uma influência da desparasitação na biodiversidade apresentada, face aos dados de 2004.

3. Avaliação de níveis de stress e parâmetros sanguíneos em poldros de desbaste e cavalos de desporto (CMEFD 2004)

3.1 Stress no maneo e na colheita de sangue

As colheitas realizadas no CMEFD em ambos os grupos foram realizadas com os animais em repouso, no início da manhã, antes do trabalho e com o mínimo de *stress* possível.

Nos animais de desporto, adultos, a recolha foi rápida e sem incidentes, permanecendo os animais calmos durante a mesma (bastava chamar o animal, passar-lhe a corda do cabeção pelo pescoço e efectuar a recolha).

Nos poldros foi realizada uma abordagem nas baias com aproximação lenta, tom de voz suave e recurso a estímulo positivo (festas e cenouras). A recolha foi rápida e com sucesso devido a esta aproximação, sem ser necessário recolhê-los ao tronco de contenção nem submetê-los a contenção adicional com o aziar. Aliás, é importante frisar que a recolha de sangue apenas demorou alguns segundos depois da abordagem prévia de 2 a 3 minutos. O evento em si não foi traumático para os poldros, sobretudo se comparado com o *stress* que os mesmos demonstraram durante o maneo habitual e trabalho de desbaste.

Durante a higiene diária (limpeza de cascos, escovagem do pêlo e colocação dos arreios) os poldros exibiam algum nervosismo e medo, que foi melhorando ao longo do estudo. Em Abril, quando começou o maneo mais intenso com colocação de arreios, os animais moviam-se muito na baia e exibiam reflexos de fuga/luta (acuamento, tentativa de empinar, evitar a colocação do bridão, tentativa de escoicinhar com os posteriores ou atirar os membros anteriores) que não eram concretizados por estarem presos à manjedoura. A partir de meados de Maio, os animais já mostravam sinais de estarem habituados à rotina diária, mostrando ainda algum nervosismo ocasional mas sem reflexos de fuga evidentes. O mesmo se aplicou ao trabalho no picadeiro: no mês de Abril os poldros começaram a ser montados pelos alunos do curso de instrutores e nesse mês foi evidente o elevado grau de *stress* a que tanto os cavalos como os cavaleiros estiveram sujeitos, pois os cavaleiros encontravam-se bastante nervosos e tensos durante as aulas (um deles chegou a fazer uma tendinite no braço esquerdo) e os poldros do mesmo modo mostravam sinais de nervosismo (irrequietos, muito atentos e reactivos a qualquer ruído ou movimento súbito) com as subsequentes tentativas de fuga: acção de inverter o pescoço e morder o bridão para escapar ao controlo do cavaleiro, por

vezes com sucesso, empinar, fazer “cangochas” ou saltos com a garupa, recuar para fugir à acção na boca (acuamento). Numa aula de cerca de 40 minutos o esforço era intenso do ponto de vista físico e psicológico para cavalos e cavaleiros: tanto uns como outros suavam de esforço e nervosismo apenas 15 minutos após o início da aula...

Em meados de Maio os poldros começaram a mostrar-se adaptados ao trabalho no picadeiro, exibindo reflexos de fuga apenas ocasionalmente e já não suando profusamente no início da aula: já só reagiam se se assustassem com qualquer movimento súbito ou objecto estranho, ou se não conseguissem fazer o que lhes era pedido. Em Junho as reacções de fuga aproximavam-se das dos restantes cavalos do CMEFD (raras e só em resposta a movimentos súbitos ou objectos inesperados) e os animais estavam adaptados à rotina de trabalho.

Os cavalos de desporto não apresentaram sinais de *stress* se comparados com os restantes animais do CMEFD, apesar da actividade física intensa. Não foi feita uma medição quantitativa dos sinais exibidos, pelo que apenas foram apreciados qualitativamente os sinais de fuga/luta na avaliação do *stress* em ambos os grupos.

O aborrecimento ou tédio, outro indicador de *stress*, pode ser avaliado por sinais comportamentais como morder a madeira da porta ou a manjedoura, praticar aerofagia ou coprofagia (esta apenas natural em poldros de mama ou animais com deficiências nutricionais), bater com a pata dianteira na porta, agitar a cabeça e o pescoço lateralmente de forma contínua (“birra de urso”). No grupo dos poldros, que se encontravam em baias presos à manjedoura, era patente o aborrecimento demonstrado por acções repetidas diariamente: o afastar da palha para a zona mais afastada da manjedoura (brincar com a comida), o escavar das patas dianteiras na cama e a evidência das marcas de dentes nos bordos da manjedoura. Já os cavalos de desporto que se encontravam em boxes e por isso com maior liberdade de movimentos não exibiam sinais de aborrecimento aparentes.

Em conclusão: apesar de a avaliação comportamental ter sido efectuada de forma qualitativa, é patente a diferença entre os dois grupos no que concerne ao *stress* psicológico e físico a que foram submetidos, nomeadamente durante o mês de Abril, em que o *stress* no grupo dos poldros de desbaste foi bastante elevado com apresentação de frequentes e intensas reacções de fuga/luta e de reacções fisiológicas como o suar profusamente no início do trabalho (reacções ausentes no grupo de cavalos de desporto).

3.2 Variação dos parâmetros sanguíneos

Durante o estudo os grupos apresentaram valores médios normais para os parâmetros analisados, de acordo com os valores hematológicos de referência (Orsini e Divers, 2003) e todas as amostras foram negativas para hemoparasitas.

A nível individual foram no entanto observados alguns valores ligeiramente abaixo ou acima dos valores de referência:

- No grupo dos cavalos de desporto (n=10), 3 animais em Março, 1 em Abril e 1 em Maio apresentaram um valor de proteínas totais (PT) ligeiramente baixo (5,5 a 5,7g/dl vs referência 5,8 a 8,7g/dl). No grupo de poldros de desbaste (n=5) apenas um animal em Abril apresentou um valor baixo de PT (5,4g/dl).
- No grupo dos poldros de desbaste (n=5), 1 animal em Março e 2 animais em Abril apresentaram valores de hematócrito (HT) mais elevados (54 a 59% vs 32 a 53% de referência). Nos cavalos de desporto 1 animal em Maio apresentou um valor baixo de HT (30%) e outro animal apresentou valores elevados em Março e Junho (55 e 56%).
- Relativamente às contagens diferenciais de leucócitos apenas 2 animais do grupo de poldros de desbaste apresentaram valores fora do intervalo de referência: 1 animal em Março apresentou monocitose (21% vs 0 a 14% de referência) e 1 animal em Abril apresentou eosinofilia (13% vs 0 a 10% de referência).

A nível de tendência do grupo (fig. 20), os poldros de desbaste apresentaram um aumento do HT em Maio e uma diminuição em Junho, face aos meses anteriores, mantendo-se o nível de PT estável durante o estudo. O ratio neutrófilos/linfócitos variou durante o estudo, mas dentro dos limites de referência (0,8 a 2,8). Quanto ao aumento de eosinófilos em Abril, este foi devido ao animal que apresentou 13% na contagem diferencial. Em Junho o mesmo animal e outro contribuíram para o aumento, com 6% cada. Estes dois animais foram os que apresentaram as contagens (SOPG) mais altas dentro do grupo: 8200 e 8100 SOPG em Abril (por contraposição a 4750, 1100 e 700 dos restantes 3 animais nesse mês) tendência iniciada em Janeiro com 3000 e 2750 SOPG (vs 350, 1250 e 1500 dos restantes animais).

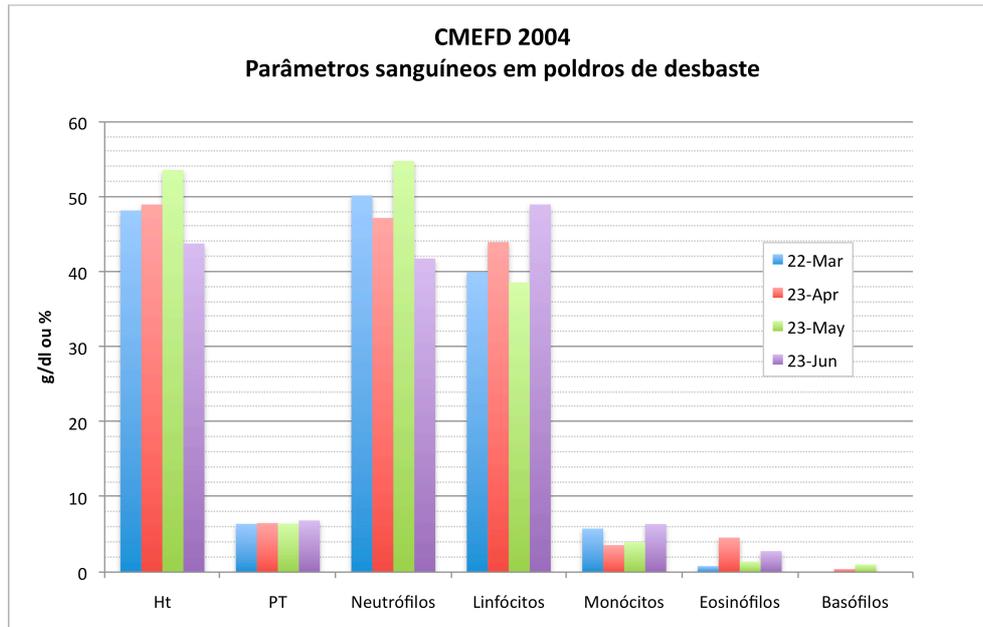


Fig. 20 Parâmetros sanguíneos em poldros de desbaste (CMEFD 2004).

Nos cavalos de desporto (Fig. 21) houve um aumento do HT em Junho face aos valores anteriores, embora o valor da PT se tenha mantido constante. Foi administrado Hemo 15[®] da Sterivet (suplemento injectável de vitaminas do complexo B, cobre, ferro, aminoácidos e vitaminas) durante o mês de Abril aos animais de desporto. O ratio neutrófilos/linfócitos variou entre 1,33 e 1,64, dentro dos limites de referência (0,8 a 2,8).

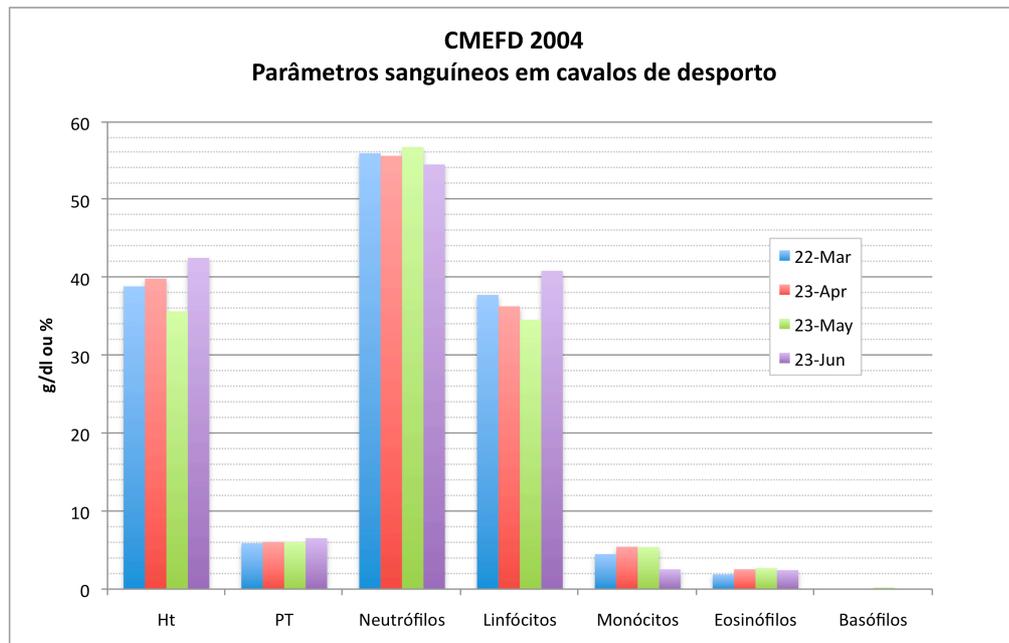


Fig. 21 Parâmetros sanguíneos em equinos de desporto (CMEFD 2004).

A diferença de eliminação de ovos entre estes dois grupos é evidente. Os poldros de desbaste vieram do pasto em Janeiro com uma média de 1500 OPG que subiu para o triplo da eliminação inicial em Abril, cerca dois meses após a primeira desparasitação, e que obrigou a nova desparasitação em Abril. Já os cavalos de desporto mantiveram sempre contagens abaixo de 500 OPG, sendo apenas desparasitado um animal em Maio por apresentar uma contagem de 1250 OPG.

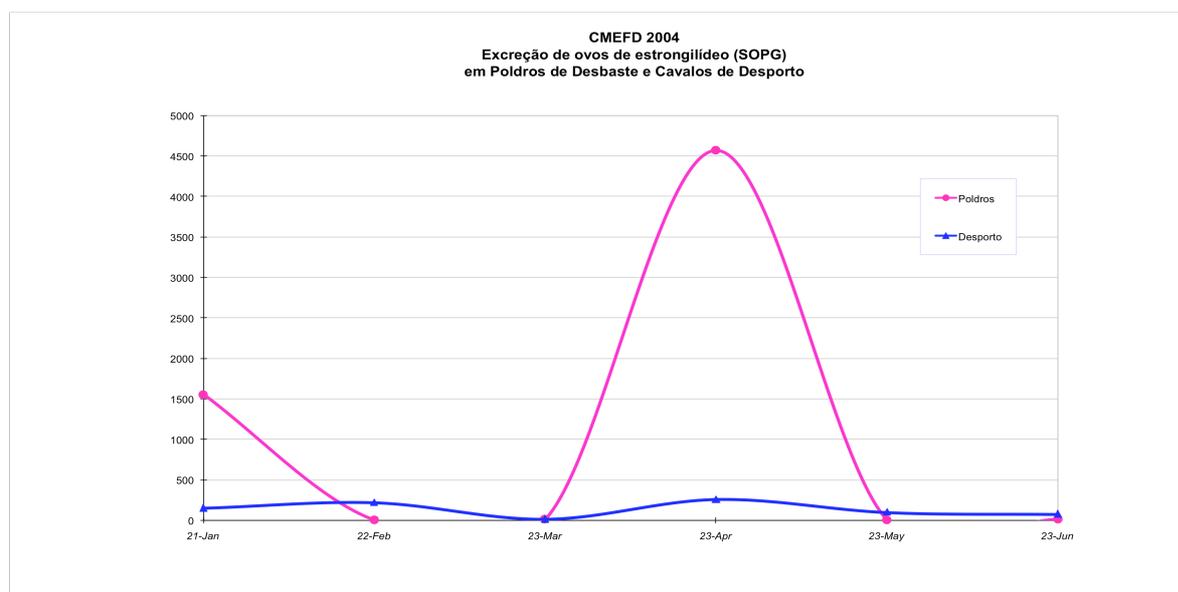


Fig. 22 Contagens (SOPG) em poldros de desbaste e equinos de desporto (CMEFD 2004).

4. Avaliação da condição corporal e da sua relação com as eliminações de SOPG (CMEFD 2008/9, amostra n=42)

A condição corporal dos animais da amostra (n=42) distribui-se da seguinte forma (fig. 23):

- Em Novembro de 2008 – 95% da população tinha notas entre 2,25 e 3,75 e 50% da população entre 2,75 e 3,25; metade da população tinha nota igual ou superior a 3;
- Em Maio de 2009 – 95% da população encontra-se com CC entre 2,5 e 4,25 (maior dispersão) e 50% da população com notas entre 3 e 3,5; neste caso 72,5% da população tinha nota igual ou superior a 3 e 12,5% inferior.

Houve portanto uma melhoria de condição corporal no grupo, com 25% dos animais a melhorar de nota inferior a 3 para nota superior ou igual a 3 no final do estudo.

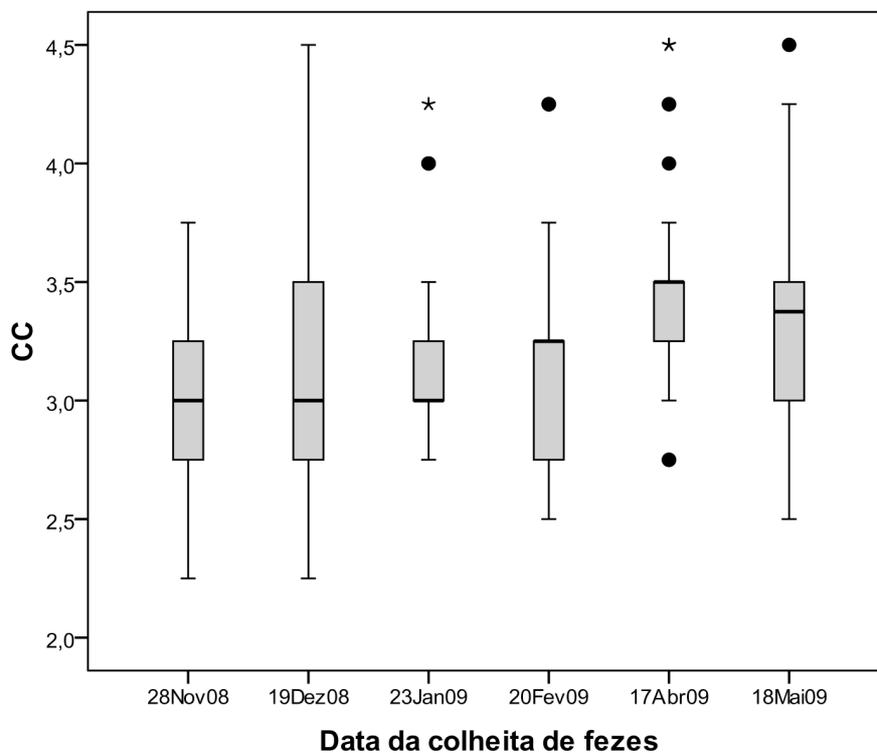


Fig. 23 Variação da distribuição população estabulada (n=42) de acordo com as notas de Condição Corporal (CMEFD 2008/9).

Como se trata de uma variável discreta, a evolução da CC é avaliada qualitativamente através da apreciação da evolução da mediana (fig. 24). Com base nos dados podemos constatar que há uma melhoria de cerca de meio ponto na escala no período entre Novembro de 2008 e Maio de 2009, o que vai ao encontro do observado com base na distribuição da população descrita.

A relação da CC com a eliminação de ovos não pode ser verificada através de análises multivariada pelo motivo já apontado (seria necessária uma variável contínua). Assim sendo, podemos no entanto averiguar se as contagens individuais dos animais numa data estão relacionadas com as contagens de datas posteriores, o que a ser verdade, poderia mostrar uma relação com a variação da CC.

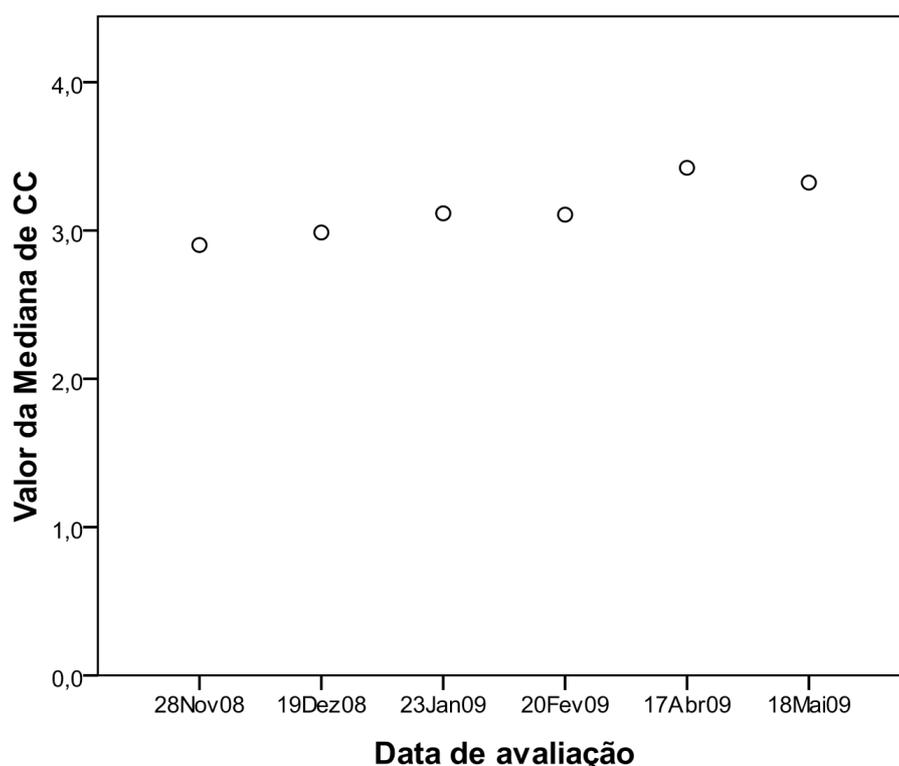


Fig. 24 Variação da mediana da Condição Corporal (CC) em animais estabulados (n=42) (CMEFD 2008/9).

Podemos avaliar a distribuição dos animais da amostra pelos diferentes valores de SOPG com base no gráfico abaixo:

- Novembro 2008 – mais de 62,5% da população apresenta contagens inferiores a 500 SOPG e 95% valores abaixo de 1000;
- Dezembro de 2008 – mais de 62,5% da população apresenta contagens inferiores a 1000 SOPG e 95% valores abaixo de 1500;
- De Janeiro a Maio 62,5% da população apresentou contagens inferiores a 200 SOPG e 95% abaixo de 500 SOPG.

Estas observações vão ao encontro do observado na fig. 14 em que podemos verificar que as desparasitações selectivas efectuadas contribuíram para um decréscimo acentuado do nível de eliminação na amostra analisada (n=42).

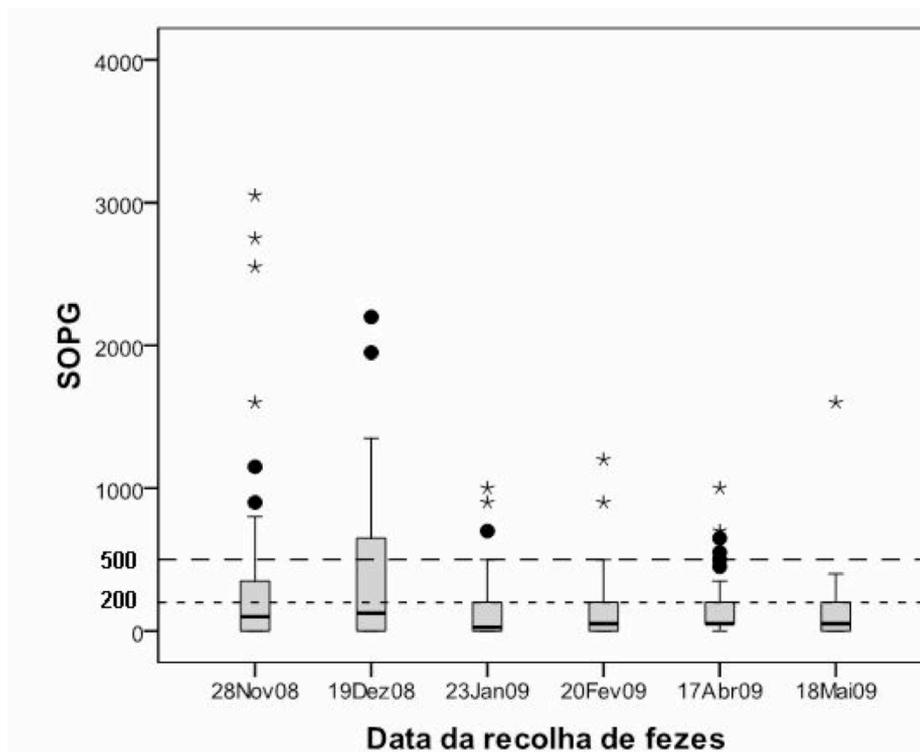


Fig. 25 Variação da distribuição da população estabelecida (n=42) de acordo com as contagens (SOPG) – (CMEFD 2008/9)

Para avaliar as relações das contagens individuais em diferentes datas efectuou-se uma análise multivariada utilizando um modelo linear geral, semelhante àquela realizada para as classes etárias dos animais.

Assim sendo as contagens nas diferentes datas são a variável dependente (tabela 16).

Within-Subjects Factors

Measure:MEASURE_1

Data	Dependent Variable
1	SOPG28nov08
2	SOPG19dez08
3	SOPG23jan09
4	SOPG20fev09
5	SOPG17abr09
6	SOPG19mai09

Tabela 16 Variáveis dependentes (contagens de SOPG)

O teste de Mauchly para a esfericidade foi violado (tabela 17) e o número de graus de liberdade foi corrigido utilizando as estimativas de esfericidade de Greenhouse-Geisser (tabela 18).

Mauchly's Test of Sphericity^b

Measure:MEASURE_1

Within Subjects Effect	Mauchly's W	Approx. Chi-Square	df	Sig.	Epsilon ^a		
					Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Lower-bound
Data	,062	109,034	14	,000	,440	,466	,200

Tests the null hypothesis that the error covariance matrix of the orthonormalized transformed dependent variables is proportional to an identity matrix.

a. May be used to adjust the degrees of freedom for the averaged tests of significance. Corrected tests are displayed in the Tests of Within-Subjects Effects table.

b. Design: Intercept Within Subjects Design: Data

Tabela 17 Teste de Mauchly para a esfericidade.

Assim, temos para esta correcção um valor de F significativo ($p > 0,05$), ou seja, os níveis de SOPG variam significativamente entre as diferentes épocas de colheita.

Tests of Within-Subjects Effects

Measure: MEASURE_1

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Data	Sphericity Assumed	3446636,905	5	689327,381	4,245	,001
	Greenhouse-Geisser	3446636,905	2,201	1565738,738	4,245	,015
	Huynh-Feldt	3446636,905	2,331	1478377,292	4,245	,013
	Lower-bound	3446636,905	1,000	3446636,905	4,245	,046
Error(Data)	Sphericity Assumed	3,329E7	205	162404,617		
	Greenhouse-Geisser	3,329E7	90,253	368885,970		
	Huynh-Feldt	3,329E7	95,586	348303,729		
	Lower-bound	3,329E7	41,000	812023,084		

Tabela 18 Resultado da correcção de Greenhouse-Geisser.

Podemos assim estabelecer as comparações entre os diferentes pares de medidas (tabela 19).

Pairwise Comparisons

Measure: MEASURE_1

(I) Data	(J) Data	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-7,143	91,661	,938	-192,256	177,971
	3	252,381	127,720	,055	-5,554	510,316
	4	250,000	125,194	,053	-2,835	502,835
	5	225,000	102,937	,035	17,115	432,885
	6	247,619	123,454	,052	-1,701	496,939
2	1	7,143	91,661	,938	-177,971	192,256
	3	259,524	94,863	,009	67,945	451,103
	4	257,143	95,676	,010	63,922	450,364
	5	232,143	75,455	,004	79,759	384,527
	6	254,762	98,180	,013	56,482	453,041

Resultados

3	1	-252,381	127,720	,055	-510,316	5,554
	2	-259,524*	94,863	,009	-451,103	-67,945
	4	-2,381	37,833	,950	-78,786	74,024
	5	-27,381	54,613	,619	-137,674	82,912
	6	-4,762	54,762	,931	-115,356	105,832
4	1	-250,000	125,194	,053	-502,835	2,835
	2	-257,143*	95,676	,010	-450,364	-63,922
	3	2,381	37,833	,950	-74,024	78,786
	5	-25,000	51,888	,633	-129,790	79,790
	6	-2,381	56,617	,967	-116,720	111,959
5	1	-225,000*	102,937	,035	-432,885	-17,115
	2	-232,143*	75,455	,004	-384,527	-79,759
	3	27,381	54,613	,619	-82,912	137,674
	4	25,000	51,888	,633	-79,790	129,790
	6	22,619	54,613	,681	-87,674	132,912
6	1	-247,619	123,454	,052	-496,939	1,701
	2	-254,762*	98,180	,013	-453,041	-56,482
	3	4,762	54,762	,931	-105,832	115,356
	4	2,381	56,617	,967	-111,959	116,720
	5	-22,619	54,613	,681	-132,912	87,674

Based on estimated marginal means

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Tabela 19 Relações entre os vários pares de medições (contagens de SOPG).

Da análise da tabela podemos concluir que apenas a segunda colheita (Dezembro de 2008) está relacionada significativamente com as seguintes e que a primeira está relacionada com a quinta, não sendo observada uma relação entre as sucessivas contagens durante o estudo.

Não se verifica portanto uma evolução linear das contagens e podemos concluir que a evolução do nível de eliminação ovos não está relacionado com a melhoria da CC observada durante o estudo.

No entanto é interessante constatar que a desparasitação em Dezembro (n=9) na amostra estudada (n=42) tem um impacto significativo na redução das contagens até ao final do estudo, pois vem comprovar o que observámos na análise da figura 14.

5. Avaliação da eficácia do anti-helmíntico utilizado

(CMEFD 2004 e 2008/9)

Em 2004 e em 2008-2009 foi utilizada uma combinação de IVM e PRZ (Equimax®). Neste estudo apenas avaliamos a eficácia da IVM, pois o PRZ apenas tem acção tenicida.

É importante referir que neste capítulo são consideradas todas as contagens úteis obtidas durante os estudos, incluindo as de animais que não foram incluídos na análise estatística prévia por não apresentarem contagens em todos os períodos de recolha. Esta opção foi tomada para que mais dados de eficácia pudessem ser contabilizados, pois no esquema de desparasitação selectiva são desparasitados menos animais e a desparasitação não é simultânea, ao contrário dos esquemas estratégicos comumente utilizados e referidos na literatura.

Assim, esclarece-se que em 2004 foram realizadas 34 desparasitações no total mas apenas 26 de maneira selectiva e em 2008/9 foram feitas 25 desparasitações selectivas durante o estudo em 75 animais, tendo sido adicionalmente desparasitados 16 animais deste grupo imediatamente antes e 14 animais imediatamente após o estudo (destes apenas 2 pertenciam ao grupo de 75 animais inicial, os restantes foram animais novos introduzidos durante o estudo). Em 2009 houve uma desparasitação selectiva realizada num animal de 7 anos com contagens de 950 POPG pertencente ao grupo de 75 animais (o animal apresentava contagens elevadas de ovos de ascarídeo mas contagens baixas para ovos de strongilídeo).

Mais, durante cada um dos estudos houve animais desparasitados mais que uma vez: em 2004, dos 21 animais desparasitados selectivamente, 5 foram desparasitados uma segunda vez (poldros de desbaste) e em 2008/9 três dos 38 animais foram desparasitados uma segunda vez durante o estudo, e outros 2 desparasitados uma segunda vez após o final do estudo (nas 14 desparasitações realizadas no fim de Maio/início de Junho de 2009). Estes resultados apontam para a existência de *high shedders* para o limiar de 500 OPG.

High Shedders

No estudo de 2004, em 6 meses os 5 poldros de desbaste com 3 anos foram desparasitados duas vezes, assim como outros quatro animais: um com 5 anos, dois com 8 e um com 18

(animal idoso incapacitado). Portanto temos 6 animais com menos de 7 anos num total de 9 *high shedders*.

No estudo de 2008/9 os três animais da segunda desparasitação durante o estudo tinham 3, 8 e 13 anos e actividade física moderada. O animal de 3 anos (A.) tinha sido desparasitado adicionalmente antes do estudo em Setembro (um total de 3 desparasitações em 9 meses). Na desparasitação realizada após o estudo foram detectados dois animais de 3 e 5 anos: ambos tinham sido desparasitados antes do estudo em 12 de Setembro de 2008, mas o animal de 5 anos (X.) foi também desparasitado durante o estudo (um total de 3 desparasitações em 9 meses, como o caso anterior). Dos animais desparasitados antes do estudo em Setembro (n=16) e que voltaram a ser desparasitados durante ou depois do estudo (n=6) um tinha 3 anos (A.), dois tinham 4 anos, um tinha 5 (X.) e um tinha 8. Assim, temos dois animais desparasitados 3 vezes em 9 meses (3 e 5 anos) e 6 animais desparasitados duas vezes no mesmo período (um animal com 3 anos; dois com 4; dois com 8 e um com 13). Assim temos 8 *high shedders*, dos quais 5 com menos de 7 anos.

5.1 Taxa de Redução da Contagem de Ovos Fecais (TRCOF)

Dada a inexistência de grupo controlo, cada animal é considerado como o próprio controlo, sendo utilizada a fórmula 1 apresentada na introdução (Parte I – capítulo da avaliação da eficácia dos anti-helmínticos).

Em 2004 foram feitas 34 desparasitações selectivas e não selectivas, sendo desparasitados 30 animais, 4 deles duas vezes (21 em Janeiro, 1 em Março e 12 em Maio), sendo que 4 apresentavam contagens nulas pré-tratamento e em 3 não se pode efectuar a recolha no dia 14 por estarem no campo. Assim, foi calculada a TRCOF para as restantes 27 desparasitações em que os animais exibiam contagens positivas pré-tratamento (50 a 8200 SOPG, média aritmética 1765 SOPG).

Em 2008/9 foram efectuadas 41 desparasitações selectivas e não selectivas durante o estudo (14 em Dezembro de 2008, 5 em Janeiro de 2009, 4 dia 23 de Fevereiro, 4 dia 13 de Março e 14 dia 20 de Abril) e mais 14 em Junho (após o final do estudo). Estas desparasitações foram feitas no grupo de 75 animais e noutros animais que deram entrada no CMEFD. Destas 55 desparasitações, apenas se pode verificar a eficácia em 43, pois os restantes animais desparasitados não se encontravam nas instalações do CMEFD no dia 14. As contagens pré-tratamento iam de 100 a 11000 SOPG, com uma média aritmética de 2156 SOPG.

A TRCOF para todos os animais desparasitados em 2004 e em 2008/9 é de 100%, ou seja, 14 dias após desparasitação, a contagem de ovos é considerada nula (inferior a 50 OPG) em todos os animais desparasitados.

A eficácia da ivermectina oral a 0,2mg/Kg em ambos os estudos foi de 100% na eliminação da excreção de ovos de estrongilídeos. Relativamente à eliminação de ovos da espécie *Parascaris equorum*, a eficácia individual também foi de 100% em 2004 e em 2009.

5.2 Cálculo do Período de Reaparecimento de Ovos (PRO)

Para cada animal desparasitado imediatamente antes e durante os ensaios foram calculados três PRO: >0, >100 e >200 SOPG.

No estudo de 2004 apenas foi possível determinar o PRO com base nas contagens de 8 adultos e 5 poldros desparasitados no início do estudo (26 de Janeiro 2004) pois para os outros animais desparasitados nessa data não foi possível recolher contagens suficientes e nos animais desparasitados em datas posteriores não houve reaparecimento de ovos nas fezes (contagens nulas) até ao final do estudo.

Assim, para os 8 animais adultos com mais de 4 anos, houve contagens positivas de ovos de estrôngilo a partir do dia 88 pós-desparasitação: a 23 de Abril havia 1 animal com 100 SOPG e a 23 de Maio o mesmo animal apresentava 350 SOPG. Contagens superiores a 100 e 200 SOPG ocorreram a partir do dia 149 (23 de Junho), sendo que apenas metade dos animais apresentava contagens positivas nesta data.

Nos poldros as contagens elevaram-se a valores três vezes superiores aos do início do estudo no dia 88 pós-desparasitação (23 de Abril), sendo subsequentemente desparasitados no dia 7 de Maio.

PRO (CMEFD 2004)						
	Dia 0 (26jan04)	Dia 27 (22fev04)	Dia 57 (23mar04)	Dia 88 (23abr04)	Dia 118 (23mai04)	Dia 149 (23jun04)
<i>Adultos</i> (n=8)	744	0	0	12,5	44	206
<i>Poldros de desbaste</i> (n=5)	1402	0	0	4570	0	0

Tabela 20 Média aritmética do SOPG ao longo do estudo em 2004.

Em 2008 e 2009 foi possível avaliar o PRO em 12 dos 14 animais desparasitados em Dezembro de 2008, com idades dos 3 aos 23 anos ($9,64 \pm 5,58$ anos). Apenas um dos animais tinha 3 anos de idade (quase 4) e as contagens não eram significativamente diferentes dos restantes.

PRO (CMEFD 2008/9)				
	Dia 0 (19dez08)	Dia 35 (23jan09)	Dia 63 (20fev09)	Dia 119 (17abr09)
<i>(n=12)</i>	1317	0	16,7	266,7

Tabela 21 Média aritmética do SOPG ao longo do estudo em 2008/9.

No dia 63 apenas 1 animal apresentava contagem positiva de 200 SOPG. No dia 119, 8 dos 12 animais apresentavam contagens positivas entre 100 e 1000 SOPG.

Com base nos resultados de ambos os estudos podemos deduzir que:

1. O reaparecimento de ovos de estrogilídeo nas fezes ocorre entre os dias 57 e 88 (8 a 12 semanas) após a desparasitação com ivermectina, sendo a data em que a eliminação ultrapassa 100 ou 200 SOPG variável consoante a idade do animal (88 a 149 dias);
2. O reaparecimento de ovos em poldros é mais rápido que em animais com idade superior ou igual a 4 anos e ao mesmo tempo o nível de eliminação de ovos após a desparasitação é superior nos poldros de 3 anos recém-estabulados em desbaste face aos animais mais velhos.

6. Avaliação do impacto do esquema de desparasitação selectiva no número de desparasitações efectuado

6.1 Número de desparasitações efectuadas nos estudos CMEFD 2004 e CMEFD 2008/9

As desparasitações selectivas (animais com 500 OPG ou mais) realizadas nos 74 animais estudados foram apenas 26 durante o período de 6 meses em 2004. Foram desparasitados selectivamente 21 animais, 5 deles duas vezes (poldros de desbaste). As restantes desparasitações foram feitas no grupo de éguas e poldros em pastoreio (n=12) e em 4 animais estabulados. As restantes desparasitações não selectivas (n=9) foram efectuadas com contagens inferiores a 500 OPG por motivos de manejo médico-veterinário de rotina do CMEFD (os 7 animais do grupo de atrelagens foram desparasitados com contagens muito baixas ou nulas em Janeiro, assim como dois animais de desporto em Março e Maio).

Os grupos de animais em pastoreio (6 éguas de ventre e 6 poldros de desmame) e o grupo de poldros de desbaste (n=5) não tinham sido submetidos à desparasitação de rotina em Dezembro de 2003. Para efeitos de cálculo do impacto económico do esquema selectivo, a desparasitação das éguas e dos poldros de desmama não é incluída por se tratarem de grupos com manejo diferente (animais em pastoreio) e também por constituírem uma amostra muito pequena com uma dinâmica de eliminação de ovos completamente diferente. Assim, podemos considerar que no grupo de 62 animais estabulados foram realizadas um total de 14 desparasitações selectivas, 10 delas nos poldros de desbaste. Considerando um grupo de 80 animais para comparação com o estudo de 2008, temos 36 desparasitações num grupo de 80 animais por ano.

Em 2008/9 foram feitas 41 desparasitações selectivas numa população média de 79 animais durante um período de 7 meses (Novembro de 2008 a Maio de 2009).

É importante notar que no estudo de 2004 os animais estabulados tinham sido desparasitados em Dezembro de 2003 (com excepção dos poldros de desbaste apenas estabulados no início de 2004). Já no estudo de 2008/9 os animais na sua maioria tinham sido apenas desparasitados em Dezembro de 2007, sendo que o número de desparasitações em 2008 e 2009 corresponde a um total de 57, com 16 desparasitações efectuadas antes do início do estudo a animais vindos do pasto (41+16). Assim, temos apenas 57 desparasitações em 18 meses, o equivalente a 38 desparasitações num ano.

Resultados

DISCUSSÃO

1. Padrões de eliminação parasitária num esquema de desparasitação selectivo

Influência do tipo de manejo na eliminação parasitária

Animais em pastoreio

Os poldros de ano em regime de pastoreio têm níveis de eliminação significativamente superiores aos das éguas no final da Primavera: 2500 OPG (150 – 4650) nos poldros e contagens nulas nas éguas. Podemos daqui inferir que a desparasitação em Janeiro contribuiu para evitar ou atrasar o pico de Primavera nas éguas mas não nos poldros. As contagens dos poldros são também significativamente superiores às dos animais adultos estabulados (animais com 4 ou mais anos).

Animais em estabulação

No grupo de animais estabulados são evidentes as diferenças entre os poldros recém-estabulados de 3 anos em desbaste e os restantes animais: os poldros com maiores contagens apresentavam de 8000 OPG (2004) até 13500 OPG (2008/9). Estes animais não apresentavam sinais clínicos de parasitismo apesar das contagens elevadas, tal como verificado por Madeira de Carvalho (2001).

Já os animais com mais de 4 anos apresentavam em 2009 contagens médias abaixo de 500 OPG e os animais desparasitados apresentaram contagens máximas de grupo de 400 OPG (máximo individual 2850 OPG). Adicionalmente, constatou-se nos animais estabulado sem 2009 uma diferença significativa entre as eliminações de ovos de animais dos 3 aos 6 anos de idade face a animais mais velhos, embora a diferença na amplitude das eliminações não seja tão grande como nos casos dos poldros mais jovens em fase de desbaste.

High shedders e frequências de amostragem

Neste estudo foram considerados *high shedders* os animais que necessitassem de mais de uma desparasitação durante 6 meses. Não são considerados na primeira desparasitação porque a frequência de administração de AH na população estudada é feita com uma frequência anual, muito reduzida se comparada com o referido na bibliografia (geralmente mais de quatro vezes por ano) e por isso é de esperar que na ausência de administração de AH durante mais de 6 meses exista uma proporção significativa de animais com contagens superiores a 500 OPG (no estudo de 2009 eram cerca de 20%).

Adicionalmente, para podermos considerar que existe uma tendência para níveis individuais de eliminação superiores aos da restante população, temos que avaliar os níveis de eliminação ao longo de um tempo de observação suficiente que nos permita estabelecer qual é a tendência para a globalidade dessa população. Considerando que existem diferenças significativas na eliminação média de ovos entre diferentes faixas etárias e que animais com menos de 7 anos apresentam contagens significativamente maiores que os mais velhos, não é de estranhar que dois terços (66%) dos *high shedders* se encontrem nessa faixa etária. Estes animais constituem por sua vez 10 a 12% dos indivíduos da população analisada. Com base no estudo de 2009 podemos ainda distinguir animais que são desparasitados 3 vezes num período de 9 meses, cerca de 25% dos *high shedders* em 2009 e 2,5% da população total estabulada para o mesmo ano.

A frequência média de desparasitação nos dois estudos é de 0,5 desparasitações anuais por animal e nos *high shedders* observados essa frequência seria de cerca de 3 vezes por ano. Assim, com base nestes dados, no manejo realizado no CMEFD e no facto de muitos dos animais com contagens elevadas serem animais jovens e as apresentarem na Primavera (indicando uma tendência semelhante à de animais em regime de pastoreio na ausência de controlo AH) seria aconselhável realizar um rastreio aos animais mais jovens três vezes por ano durante os períodos mais sensíveis: no início da Primavera (Abril), altura coincidente com o início do desbaste em poldros de 3 anos (mais sensíveis ao *stress*), no Verão em Julho e no final do Outono. Já a restante população adulta apresenta contagens baixas durante todo o ano, pelo que duas análises por ano, idealmente na Primavera e no Outono, seriam suficientes. Apesar de cerca de 1/3 (33%) dos *high shedders* pertencer a este último grupo, pressupõe-se que estes animais já teriam sido detectados em rastreios de anos anteriores.

No estudo de 2009 verificou-se que 22 animais permaneceram com contagens inferiores a 500 OPG até ao final do estudo em Maio apesar de terem sido desparasitados pela última vez em Dezembro de 2007 (cerca de 30% da população residente durante um período de 18 meses). Em 2004 a proporção era de 42 animais (60% da população estabulada durante 6 meses), mas todos tinham sido desparasitados em Dezembro de 2003. Estas observações vão ao encontro da estimativa de 0,5 desparasitações anuais por animal: espera-se por aproximação que 45% da população mantenha contagens baixas durante 12 meses.

É importante no entanto ter em conta que estas observações se aplicam a um sistema de manejo em estabulação com uma composição etária equivalente à do CMEFD e com mais de 40 animais residentes, podendo não ser extrapolável para situações com menor número de animais ou diferente manejo.

Validação do limiar de 500 OPG na desparasitação selectiva em animais estabulados

A utilização de um limiar de 500 OPG em dois estudos na mesma população demonstrou resultados comparáveis e consistentes na redução da eliminação fecal de ovos sem comprometer a saúde dos animais face ao sistema estratégico anual utilizado tradicionalmente. O esquema selectivo contribuiu ainda para um menor número de administrações de anti-helmínticos, o que poderá contribuir para o atraso do aparecimento de resistências (Eysker, Boersema, Kooyman e Berghen,

1988; Lyons, Tolliver e Drudge 1999). Este limiar é assim um limiar aceitável nas condições de manejo do CMEFD.

Num estudo de avaliação da eliminação fecal de ovos em 484 equinos na Holanda, desparasitados 3 a 4 vezes por ano, 57 e 66% apresentavam contagens baixas (<100 OPG) no dia 0 e às 6 semanas, e neste intervalo de tempo mais de 400 animais (80%) apresentaram eliminações abaixo de 500 OPG (Dopfer, Kerssens, Meijer, Boersema e Eysker, 2004). Os intervalos de desparasitação situavam-se entre os 3 e os seis meses, 76,7% dos animais tinha acesso a pasto, 10% tinha menos de 5 anos e 7% mais de 23. 54,3% eram éguas, 44,8% machos castrados e 0,8% garanhões pertencentes a várias raças e os animais não foram desparasitados durante o estudo.

Com base neste estudo, o limiar de 500 OPG por nós utilizado parece ter significado numa população de equinos adulta sem sinais de doença onde é feito um controlo já frequente do parasitismo, semelhante ao dos nossos cavalos de recreio (3 a 4 vezes por ano). O estudo foi realizado entre Setembro e Novembro, altura em que a eliminação de ovos costuma aumentar em climas temperados.

2. Avaliação da composição parasitária

Amostragem de erva da pastagem

Os resultados negativos para as colheitas efectuadas em 2004 podem ser explicadas pelo facto de os animais serem mudados de parque com frequência, até duas vezes por mês, o que reduziria a contaminação por L3. Por outro lado havia parques onde os animais eram mantidos com suplementação de palha e concentrado e a erva era muito escassa e seca, com alturas abaixo de 10cm e solo bem visível, condições que juntamente com a dessecação evidente das massas fecais não eram propícias à migração das L3 (Ogbourne, 1972; Ogbourne, 1973; English, 1979a; English, 1979b; Herd e Williardson, 1985a; Fusé, Castillo e Saumell, 1992). Outro motivo adicional pode ter sido o horário de recolha, que era posterior à ocorrência do orvalho matinal, o que reduziria em mais de 85% as L3 recolhidas (Hasslinger, 1984; Slocombe, Valenzuela e Lake, 1987; Langrová, 1999).

Biodiversidade dos estrongilídeos gastro-intestinais dos equídeos

Com base nos resultados de 2004 podemos observar que existe uma biodiversidade maior no pequeno grupo de 6 éguas de ventre face aos animais estabulados, nomeadamente no que concerne a presença de grandes estrongilídeos. Este achado é interessante se tivermos em conta que este grupo também foi desparasitado no início do estudo e corrobora o papel da contaminação do pasto no estabelecimento de infecções por grandes estrôngilos com longos períodos pré-patentes (a infecção na estação de pastoreio anterior permitiu aos animais o estabelecimento de uma nova população parasitária adulta no intestino).

Os dados de 2009 sugerem uma menor variedade de espécies em animais estabulados face aos dados do estudo anterior, mas tal poderá dever-se ao facto de terem sido realizadas coproculturas

com cerca de 20 animais e não coproculturas com 10 animais como em 2004, o que faz com que tipos larvares pouco abundantes deixem de ser detectados numa contagem de 100 ou 200 larvas por amostra.

Não obstante, estes resultados vão ao encontro dos resultados de Madeira De Carvalho, Martins, Sousa, Gersão, Gomes, Lucena, Fazendeiro e Afonso-Roque (2007), que levaram a cabo a análise de 100 coproculturas em 4 grupos de cavalos domésticos e um grupo de cavalos silvestres. Os autores constataram abundâncias relativas para o tipo A de 65 a 98% e para os tipos C e D 6 a 8% tendo as restantes expressão reduzida (tipo B de 1,4-2,2% e E to H 0,3 a 3,2%). Nos animais desparasitados os autores encontraram claro predomínio do tipo A, à semelhança do observado em ambos os estudos práticos no CMEFD, e nos animais não desparasitados observava-se um predomínio do tipo B. Num estudo na Roménia foram também encontradas abundâncias elevadas para o tipo A, embora inferiores às observadas em Portugal: o tipo A era o mais abundante (59-71%), seguido pelos tipos D (11,3-20,3%) e C (16,8-23,7%), e os tipos B e H apresentavam abundâncias entre 0,7 e 1%. (Madeira De Carvalho, Cernea, Martins, Sousa, Gersão e Cernea, 2008c).

A importância destes achados prende-se com o facto de o tipo A (subtipo larvar de ciatostomíneo com 8 células intestinais) provir das espécies mais prevalentes a nível mundial: *Cylicocyclus nassatus*, *Cylicostephanus longibursatus*, *Cyathostomum catinatum* (Madeira De Carvalho, Martins, Sousa, Gersão, Gomes, Lucena, Fazendeiro e Afonso-Roque, 2007; Corning, 2009). Assim, podemos assumir que na população estudada a maior proporção de ovos eliminados nas fezes provem destas espécies, que parecem ser as mais abundantes e por isso as que têm maior possibilidade de persistir após a desparasitação através da eventual sobrevivência de pequenos números de adultos e da emergência das larvas enquistadas, que serão em maior número que as restantes espécies.

3. Alteração de parâmetros sanguíneos e nível de eliminação de ovos em resposta ao stress

Prevalência de hemoparasitas na população equina

Não foram encontrados hemoparasitas nas amostras analisadas em 2004, o que poderá ser explicado pelo facto de a recolha ter sido efectuada a meio da manhã em sangue colhido na veia jugular e não ao amanhecer ou anoitecer em sangue periférico, reduzindo assim a possibilidade de encontrar formas parasitárias de *Babesia caballi* ou *Theileria equi* em circulação (Urquhart *et al*, 1998). Assim sendo, não podemos estimar a prevalência destes parasitas na população equina do CMEFD com base nas amostras analisadas, pelo seria necessário recorrer a análises sorológicas de titulação de anticorpos.

Parâmetros sanguíneos, stress e parasitismo

A diferença entre poldros de 3 anos e adultos sujeitos a elevado nível de *stress* é patente na eliminação parasitária de ovos: os animais jovens revelam uma eliminação muito superior à dos adultos, possivelmente devido a imunossupressão provocada pela incapacidade de lidar com o stress

(Alexander e Irvine, 1998). Já no que diz respeito aos parâmetros sanguíneos, ambos os grupos mantiveram os valores de hematócrito, proteínas totais e contagem diferencial de leucócitos dentro dos valores normais. Este achado leva-nos a crer que apesar da maior eliminação de ovos no grupo de poldros de desbaste possivelmente associada à presença de maior número de parasitas adultos de ciatostomíneos no intestino (e/ou à maior fertilidade das fêmeas presentes) não teve influência significativa na homeostasia dos animais.

A presença de alguns valores individuais ligeiramente acima ou abaixo dos valores de referência também não é significativa dado o tamanho dos grupos em análise e as pequenas variações exibidas, mas a sua origem poderá ter explicações simples. No grupo dos poldros de desbaste, apenas 10% (3/30) das amostras exibiam valores de hematócrito superiores ao normal, o que poderá ser explicado pela ocorrência de contracção esplénica devida ao *stress* de recolha pois as amostras foram colhidas em Março e Abril, meses em que os animais ainda estavam a começar a ser trabalhados. O único animal deste grupo que mostrou valores de proteínas totais abaixo do normal em Abril era um dos animais com contagens mais elevadas nesse mês (8100 OPG), o que sugere influência do parasitismo, mas o outro animal com contagem semelhante (8200 OPG) apresentava valor normal das PT. Já os 2 animais que apresentaram ligeira eosinofilia em Abril e monocitose em Março, respectivamente, eram os animais com maiores contagens (8100 e 8200 OPG em Abril – o dobro dos outros animais) e estes resultados apontam para reacções ligeiras ao parasitismo gastrointestinal por helmintas (Loukas e Prociv, 2001) e vão ao encontro aos resultados do trabalho de Collobert *et al* (2002). Os eosinófilos fazem parte da resposta imunitária ao parasitismo no cavalo e noutros mamíferos, como o homem, mas o seu papel na evolução da relação hospedeiro-parasita permanece desconhecido (Lanzi, Pacheco, Pelajo-Machado, Panasco, romanha e Lenzi, 1997). Sabe-se que a eosinofilia se encontra associada à presença de parasitas helmintas no organismo, nomeadamente no tracto gastrointestinal, mas não é específica do parasitismo e pode ser encontrada na reacção adversa a fármacos, em certos tipos de cancro ou em síndromes específicas (Rothenberg, 1998).

Nos cavalos de desporto apenas um animal apresentou em Maio hematócrito e PT ligeiramente mais baixos que nos meses anteriores, o que pode estar relacionado com o aumento de participação em competições em Abril e maior exigência física nos treinos. Como o animal não apresentava sinais clínicos associados a esta alteração não foi possível determinar a causa. Já os valores de HT acima da média podem estar relacionados com o facto de os animais ainda estarem a recuperar da actividade física de rotina devido à contracção esplénica: Wilkins (2008) refere que o hematócrito do cavalo em repouso deve ser avaliado sequencialmente para detectar tendências e os valores aberrantes devem ser reavaliados, uma vez que cerca de 1/3 da massa potencial de eritrócitos em circulação pode ser armazenada no baço.

4. Avaliação da condição corporal e níveis de eliminação de ovos

A condição corporal dos animais estudados em 2008/9 evoluiu positivamente durante o estudo mas a variação não estava significativamente relacionada com o nível de eliminação de ovos. Podemos

no entanto concluir que a melhoria das CC nos animais estabulados se terá devido à melhoria da qualidade nutricional do concentrado administrado aos animais a partir de Dezembro de 2008. Estas observações vão ao encontro das do estudo de Mage (1996), em que um grupo de éguas foi mantido durante três anos sem desparasitação mas com manejo nutricional adequado, apresentando eliminações médias de 200 a 1600 OPG durante a época de pastoreio sem que os animais exibissem sinais de parasitismo gastro-intestinal nem alterações nas taxas de crescimento e condição corporal.

5. Avaliação da eficácia do anti-helmíntico utilizado

Com base nos resultados obtidos, podemos afirmar que a ivermectina manteve a eficácia apesar do seu uso na população estudada desde Novembro de 2003. Não foram assinaladas falhas terapêuticas, sendo a TRCOF de 100% para todos os animais jovens e adultos, e também não houve diminuições no PRO relativamente às contagens positivas (OPG>0), pois em todas as faixas etárias as contagens permaneceram nulas até ao dia 56 (8 semanas). Os animais jovens até aos 3 anos apresentaram contagens de reaparecimento significativamente superiores às de animais adultos, pelo que o PRO para contagens superiores a 100 e 200 OPG era mais curto neste grupo (56 dias) por comparação aos de animais adultos (88 dias).

6. Impacto económico do esquema de desparasitação selectiva com um limiar de 500 OPG

Desparasitação selectiva vs desparasitação estratégica

Para termos uma ideia aproximada da despesa decorrente, com base nos dados de 2004 seriam efectuadas cerca de 36 desparasitações selectivas durante um ano em 80 animais, o correspondente a pouco menos de metade do número de animais estabulados. Com base nos dados de 2008/9 seriam efectuadas 38 desparasitações selectivas num ano, ou seja, um número que corresponde também a sensivelmente metade da população residente.

Os dados dos dois estudos são consistentes e podemos assumir que a despesa em desparasitante será de metade no esquema selectivo utilizado face ao esquema estratégico anual. É preciso no entanto contabilizar também a despesa decorrente da contagem de ovos nas fezes. Para contabilizar esta última despesa podemos considerar não uma recolha mensal como efectuado nos estudos, mas duas recolhas por ano em animais com 7 e mais anos e três recolhas por ano entre os 3 e os 6 anos. Assim, numa população de 100 animais com 80 maiores de 7 anos e 20 menores de 6, temos um total 220 análises anuais. Consideremos o impacto para o CMEFD e para um proprietário individual ou criador face às diferenças de meios (as análises podem ser feitas a menor preço no CMEFD e esta instituição também pode adquirir os desparasitantes directamente ao fornecedor). As análises das contagens pós-desparasitação (dia 14) e as análises para detecção de *high shedders* (em animais com elevados OPG na data da avaliação) não são incluídas nos gastos porque devem ser análises realizadas em qualquer sistema de desparasitação. Os preços de cálculo têm por base os valores de 2009.

Caso I – CMEFD

Custos da desparasitação estratégica anual:

- 100 embalagens de Equimax[®] a preço do fornecedor: 1605 euros

Custo da desparasitação selectiva:

- 50 embalagens de Equimax[®] a preço do fornecedor: 802,5 euros;
- 220 análise no laboratório a 5 euros (1100 euros) ou 35 horas de trabalho anuais (318,46 euros para um técnico superior de 2ª classe);
- Custo total: 1902,5 euros ou 1121 euros.

Conclusão: no caso particular do CMEFD o uso da desparasitação selectiva com requisição externa sai 18,5% mais caro que a desparasitação estratégica anual e sai 30% mais económico se as análises forem efectuadas no Centro.

Caso II – Proprietário de animais, Centro Equestre

Custos da desparasitação estratégica anual:

- 100 embalagens de Equimax[®] PVP: 2408 euros

Custo da desparasitação selectiva:

- 50 embalagens de Equimax[®] a preço do fornecedor: 1204 euros;
- 220 análise no laboratório a 5 euros (1100 euros);
- Custo total: 2304 euros.

Conclusão: no caso do criador ou proprietário o custo da abordagem selectiva face à estratégica anual fica ao mesmo preço (5% mais económico). No entanto, como já vimos anteriormente, a maioria dos proprietários desparasita os animais duas a quatro vezes por ano (Martins, Sousa e Madeira de Carvalho, 2007). Assim sendo, a poupança desta abordagem pode ir de 48 a 76%.

Caso III – Criador de cavalos

Se se tratar de um criador, temos de considerar que os animais se encontram em regime de pastoreio (eguada, poldros de mama/ano, poldros de dois e três anos), a população adulta será de cerca de 25% e as eliminações parasitárias mais elevadas. Assim sendo, podemos considerar 3 rastreios por ano a todos os animais no início da Primavera, a meio do Verão e no Outono em regime de pastagens de sequeiro (Madeira de Carvalho *et al*, 2005; Madeira de Carvalho *et al*, 2007c) e uma a duas desparasitações por ano aos animais.

Custos da desparasitação estratégica anual:

- 100 embalagens de Equimax[®] PVP: 2408 euros

Custo da desparasitação selectiva:

- 100 a 200 embalagens de Equimax[®] a preço do fornecedor: 2408 a 4816 euros;
- 300 análise no laboratório a 5 euros (1500 euros);
- Custo total: 3908 a 6316 euros.

Assim, ficará 62,3% a 2,6 vezes mais cara no caso do criador que tem como sistema a abordagem estratégica anual. No entanto a tendência é a realização de uma desparasitação estratégica 2 a 4 vezes por ano, com custos de 4816 a 9264 euros/100 animais, pelo que face à desparasitação quatro vezes ao ano a abordagem selectiva é certamente mais económica (32 a 60%).

Há que considerar ainda que os dados relativos a poldros jovens em pastoreio são muito pouco expressivos no estudo de 2004 e que os limiares considerados para animais em regime de pastoreio poderão ser superiores ao regime de estabulação. Assim sendo, serão necessários estudos de desparasitação selectiva em regime de pastoreio que incluam a reavaliação do limiar de eliminação de ovos escolhido, eventualmente para 1000 OPG (Soulsby, 1986) para que seja possível avaliar correctamente o seu impacto económico.

Parte III: Conclusão

Conclusão

I. Eliminação de ovos e patologia clínica: a desconstrução de um mito com base nos resultados de um esquema de desparasitação selectiva com um limiar de 500 OPG

Em todos os grupos de animais e nos vários tipos de manejo (estabulação e pastoreio) a abundância relativa de ciatostomíneos em coproculturas é de 95 a 100%, com prevalência de 100% em todas as coproculturas positivas. Já as larvas de grandes estrongilídeos do género *Strongylus* spp só são observadas em regime de pastoreio e apresentam abundâncias relativas baixas (2% para *S. equinus* e 3% para *S. edentatus*).

A presença de níveis elevados de eliminação de ovos de ciatostomíneos nas fezes não é um sinal de doença parasitária clínica, pois poldros jovens recém-estabulados apresentam elevadas contagens (de 4000 a 13500 OPG) durante o período de desbaste sem que sejam alterados significativamente parâmetros hematológicos como as proteínas totais, o hematócrito ou as contagens diferenciais de leucócitos. Este grupo de animais encontra-se exposto a um maior nível de *stress* que os restantes e apresenta também contagens mais elevadas que todos os outros grupos de animais, incluindo poldros de ano em pastoreio, o que nos leva a concluir que o manejo destes animais deve ser a nossa maior preocupação de modo a reduzirmos o impacto do *stress* na imunidade aos ciatostomíneos neste grupo de animais.

Os animais adultos estabilados também apresentam esporadicamente contagens elevadas (1000 a 3000 OPG) sem sintomatologia clínica associada. Nestes, as contagens são significativamente mais elevadas para animais entre os três e os seis anos de idade face aos animais de sete ou mais anos. Os animais de três anos considerados nesta análise são animais de quase quatro anos que já não se encontram em fase de desbaste e que apresentam contagens mais baixas à semelhança dos outros animais estabilados (a magnitude da variação é menor que a verificada nos poldros de desbaste).

No esquema selectivo de desparasitação utilizado com um limiar de 500 OPG apenas é necessário desparasitar metade dos animais durante um ano, o que se traduz numa dupla vantagem: a redução da frequência de desparasitação conduz a uma menor pressão de selecção para resistências nos ciatostomíneos e ao mesmo tempo traz benefícios do ponto de vista económico. As poupanças deste esquema face a uma desparasitação estratégica realizada duas ou quatro vezes ao ano pelo

Conclusão

proprietário ou criador de cavalos podem ir de 32 a 76%, incluindo a despesa com anti-helmínticos e as análises coprológicas de rastreio, que deverão ser realizadas três vezes por ano na faixa etária entre os três e os seis anos e duas vezes nos animais com sete e mais anos, com base nos dados fornecidos pelas frequências de desparasitação observadas.

A presença de animais *high shedders* para o limiar utilizado (500 OPG) é patente quando se observam duas ou mais desparasitações selectivas num período de seis meses, pois a média da população é de 0,5 desparasitações anuais por animal. Estes animais constituem cerca de 10% da população e encontram-se na sua maioria na faixa etária entre os 3 e os 6 anos (66%). Este é um dado interessante se considerarmos que esta faixa etária é também aquela que apresenta maior risco de incidência de sintomas associados à ciatostominose. Este dado reforça a ideia que a monitorização e manejo dos animais entre os 3 e os 6 anos é de grande importância, pois é nestes animais que as contagens são mais elevadas e é no grupo dos poldros de desbaste que se verificam e apresentam níveis de OPG cerca de duas vezes superiores aos considerados para poldros e éguas em pastoreio (valores de eliminação acima de 5000 OPG não são valores observados em nenhum sistema de manejo mesmo que os animais não sejam desparasitados).

Face ao advento de resistências múltiplas que começa já a ser observado nos equinos a nível mundial e do qual já há relatos em Portugal (falhas terapêuticas individuais), o esquema selectivo poder-se-á revelar uma ferramenta útil na manutenção da eficácia aos anti-helmínticos existentes em combinação com medidas de manejo alimentar (com a avaliação das necessidades baseada na apreciação mensal da condição corporal) e medidas de controlo do *stress* a que os animais são submetidos.

Medidas complementares e alternativas adicionais poderão ser implementadas de forma a diminuir a utilização de anti-helmínticos, como será exposto de seguida.

II. Guerra química vs guerrilha biológica: como vencer as batalhas do controlo das estrogilidoses gastrointestinais em equinos?

Face à emergência global de resistências múltiplas dos ciatostomíneos do cavalo aos anti-helmínticos modernos (incluindo as avermectinas-milbemicinas), é urgente substituir a profilaxia química por métodos de controlo alternativos que permitam reservar os anti-helmínticos ainda eficazes para a utilização em situações clínicas concretas, permitindo a manutenção de um arsenal terapêutico na parasitologia gastro-intestinal de equídeos.

As medidas de controlo alternativo para as estrogilidoses gastro-intestinais disponíveis actualmente e de eficácia verificada em situações de campo podem ser incluídas em dois grupos: as medidas dirigidas ao ambiente e as medidas dirigidas ao animal. Estas medidas são seguidamente apresentadas do ponto de vista da abordagem prática e destinam-se a fornecer ao clínico indicações facilmente aplicáveis no terreno.

1. Medidas que visam a diminuição da contaminação dos pastos com ovos e L3 infectantes de estrogilídeos (controlo ambiental):

- a. Promover o encabeçamento correcto, cerca de 1 animal por hectare, para evitar sobrepastoreio e ingestão de elevado número de larvas infectantes (Lyons, Tolliver, Collins e Drudge, 2001; Lyons, Tolliver, Collins, Drudge, Granstrom 1997; Mage, Trillaud-Geyl e Arnaud, 1995; Mage, 1996; Mage, Arnaud, Flochlay e Blon-Riou, 1998);
- b. Cultivar adequadamente as pastagens com forragens de bom valor nutritivo e mudar os animais de pastagem caso a mesma comece a escassear, ou suplementar caso a qualidade não seja suficiente (Mage, Trillaud-Geyl e Arnaud, 1995; Mage, 1996; Mage, Arnaud Flochlay e Blon-Riou, 1998). Os testes de solo e de forragens devem ser associados ao aconselhamento nutricional e à avaliação da condição corporal dos animais, de preferência numa abordagem multidisciplinar.
- c. Promover a rotação de pastagens com ruminantes e/ou com cultivo: os cavalos são os primeiros a pastar a erva jovem, os ruminantes pastam a erva quando ela desce dos 10-15cm, onde ela é menos nutritiva, geralmente já lenhificada e onde se encontram a maioria das larvas infectantes de estrogilídeos (Fusé, Castillo e Saumell, 1992). Posteriormente podem ser cultivadas com novo pasto, com outras culturas ou deixadas em pousio.
- d. O pastoreio misto com ruminantes é possível mas deve ser feito com cautela se os animais nunca o fizeram ou se a prevalência de *Trichostrongylus axei* for baixa, pois é um parasita

comum a ambos os hospedeiros. Em Portugal (Agricultora *et al*, 2003; Madeira de Carvalho *et al*, 2007a; Madeira de Carvalho, 2006a), França (Collobert-Laugier, Lamidey, Brisseau, Moussu e Hamet, 2000) e Marrocos (Pandey, Ouhelli e Elkhalfane, 1981) é frequente o aparecimento de *T. axei* em animais de pastagem que muitas vezes fazem pastoreio misto ou alternado com bovinos.

- e. O pastoreio com burros não deve ser feito devido à possibilidade de infecção com *Dictiocaulus arnfieldi* (Urquhart *et al*, 1996; Boyle e Houston, 2006), bem como com *T. axei* e com estrongilídeos, pois parasitam ambos os hospedeiros. É de notar que tradicionalmente cavalos e burros nunca foram criados juntos, embora modernamente aumentem as quintas com as ambas as espécies como no caso dos pastos para animais reformados ou nas quintas que utilizam os burros como “pets”.
- f. Devem-se evitar as pastagens de regadio que simulam uma “Primavera eterna” (Madeira de Carvalho *et al*, 2007c), com maiores cargas de larvas infectantes e maior sobrevivência das mesmas durante todo o ano. Se não se puder optar pelas tradicionais pastagens de sequeiro, então neste caso a monitorização coprológica dos animais e o controlo biológico da estrongilidose são indispensáveis (ver adiante).
- g. Em caso de detenção de um pequeno número de animais, pode-se aumentar em 50% a área do pasto removendo as fezes dos animais duas vezes por semana (Herd e Willardson, 1985a; Herd, 1986), ao mesmo tempo que se diminui significativamente a carga de larvas infectantes no pasto. Esta medida pode ser importante para o pequeno proprietário ou para o *paddock* de recreio do Centro Hípico mas deve-se ter presente que o encabeçamento não deve ultrapassar os 2 animais/ha, neste caso.
- h. Implementar um programa de controlo biológico por fungos nematófagos: a utilização de *Duddingtonia flagrans* na razão de 1 milhão de esporos por animal e por dia é eficaz na redução de cerca de 90% das larvas infectantes que eclodem dos ovos eliminados pelos animais (Lukyanchenko, 1999 e 1999a) e na redução de 50 a 99% nas cargas de L3 infectantes no pasto (Madeira de Carvalho *et al*, 2008b; Baudena *et al*, 2000a). A eficácia é menor com esporos menos maduros (Fernandez *et al*, 1997). Este programa pode ser feito estrategicamente nas alturas sazonais de maior eliminação de ovos e sobrevivência das L3 no pasto ou durante toda a estação de pastoreio.
- i. Uma recomendação geral para animais a pasto ou em *paddock* é o fornecimento permanente de água *ad libitum* mesmo que os animais ali permaneçam apenas algumas horas por dia. Esta recomendação destina-se a evitar a desidratação e os desequilíbrios electrolíticos que podem ser factores desencadeantes de cólica e cerca de 80% das cólicas ligeiras a moderadas são de origem desconhecida e suspeita-se o envolvimento do manejo e dos parasitas gastro-intestinais na sua incidência (Tinker *et al*, 1997, White, 2008; Uhlinger, 1990).

2. Medidas a considerar ao nível individual no cavalo estabulado e/ou em regime de pastoreio:

- a. Bom manejo nutricional, não apenas em qualidade mas também em quantidade. A qualidade assegura a boa condição corporal mas no caso de animais estabulados a quantidade é da maior importância devido ao comportamento alimentar do cavalo, que em estado natural pasta cerca de 16 horas por dia (Morris, 2006). Assim, é aconselhável dispor na boxe de uma rede com feno que permita ao animal estar ocupado a comer durante os períodos de inactividade: evita o aborrecimento e reduz a incidência de vícios comportamentais como o morder a porta, lambe as paredes, a aerofagia (factor de risco para cólicas – White, 2008), a coprofagia e a “birra de urso”. Esta última apenas ocorre em animais de cativeiro e denota que o animal não consegue lidar com o *stress* imposto pelo confinamento (Morris, 2006).
- b. O concentrado deve ser dado em 3 a 4 vezes por dia para reduzir o risco de cólica devido às flutuações de pH intestinal (White, 2008) e a sua quantidade e qualidade devem ser calculadas adequadamente para evitar patologias metabólicas como a laminite ou “aguamento”. Não será demais reafirmar a necessidade de a água fornecida *ad libitum* em permanência através de bebedouro de bóia ou pressão, cujo funcionamento deve ser verificado diariamente.
- c. A condição corporal deve ser avaliada para determinar a adequação da nutrição ao manejo do animal (Mage, 1996). No pasto deve-se averiguar se há competição entre animais na manjedoura quando se fornece suplementação para saber qual a verdadeira origem do emagrecimento.
- d. O bom manejo de trabalho ou exercício desportivo é crucial sob vários aspectos, mas de maneira geral podemos dizer que pode evitar o aparecimento de *stress* crónico, situação em que o animal não consegue lidar com o *stress* e apresenta fadiga, apatia e imunodepressão (Alexander e Irvine, 1998). Assim recomenda-se o trabalho diário regular com um aumento gradual de intensidade e tempos de descanso apropriados, nunca se devendo deixar o animal parado (confinado na boxe) em dias subsequentes a episódios de exercício intenso e/ou prolongado (caso típico das “cólicas de fim-de-ano” que ocorrem durante as férias do cavaleiro). Além do mais o trabalho regular evita vícios comportamentais e doenças metabólicas como a rabdomiólise. A relação com o cavaleiro (e/ou com o tratador) é geralmente a relação social mais importante do cavalo estabulado, pelo que é necessário tratar o animal como um amigo, sem violência e sem provocar medo, para que ele confie nas pessoas e veja nelas uma relação social compensatória do confinamento e aborrecimento a que está sujeito.
- e. Utilizar a desparasitação natural: uso de desparasitantes à base de plantas de eficácia e segurança reconhecidas (por exemplo o Verm-X® da Paddocks Farm Ltd) até 3 a 4 vezes ao ano, de preferência estrategicamente durante as alturas de maior eliminação de ovos nos adultos, assim como em alturas de maior *stress* devido a mudanças de manejo em animais com menos de três anos. Também pode ser usado selectivamente em animais adultos

estabulados quando ultrapassam uma eliminação moderada (500 a 1000 ovos por grama) ou quando apresentam sinais de doença tais como o emagrecimento. Estes desparasitantes apresentam vantagens significativas: são suplemento nutricional natural de microelementos, têm um historial tradicional de utilização de pelo menos dois milénios (segurança) e a sua acção dever-se-á à presença de vários princípios activos com acção complexa e sinérgica, que por esse motivo é muito menos susceptível de levar ao aparecimento de resistências (Martin *et al*, 1998).

- f. Na utilização dos *paddocks* de recreio nos centros hípicas: deve-se ter em atenção que geralmente não são pastos e servem apenas para soltar os animais durante algum período do dia. No entanto também há contaminação pelas fezes e deve-se atentar a dois cuidados: manter o encabeçamento baixo (alternando os animais e evitando sobrelotação), remover as fezes e colocar à disposição dos animais redes com feno para que eles se possam entreter no caso do *paddock* não ser um pasto (pode-se aplicar esta medida a qualquer espaço fechado ou vedado, como um picadeiro).

Na produção equina existe um grande hiato de maneio entre o criador (poldro até aos 2-3 anos), o desbastador (poldro com cerca de 3 anos) e o proprietário final ou cavaleiro (cavalo a partir dos 4 anos). Estas fases do cavalo jovem são extremamente sensíveis por envolverem mudanças drásticas de maneio: mudança das relações sociais (incluindo humanos), mudança de ambiente e por vezes até mudança de clima, mudança de maneio nutricional, mudança da pastagem para o confinamento, aprendizagem e realização de diferentes tipos de actividade física. Considerando que muitas destas alterações são drásticas e simultâneas, podemos facilmente perceber o elevado nível de *stress* gerado se não houver uma transição suave entre as várias fases, assim como as possíveis consequências prejudiciais a nível da saúde do animal. O maior envolvimento do criador com os seus clientes (do desbastador ao comprador final), assim como com os cavaleiros, é assim crucial na manutenção da continuidade das boas práticas adoptadas ao nível da exploração, das quais o acompanhamento clínico dos animais pelo médico veterinário assistente é parte fundamental.

Em conclusão, é possível controlar o parasitismo gastro-intestinal em geral e a ciatostominose em particular sem que seja necessário recorrer sistematicamente aos anti-helmínticos químicos e recorrendo a medidas simples e objectivas de maneio higiénico, nutricional e de exercício. Cabe aos médicos veterinários do século XXI o importante desafio de educar e informar os seus clientes através do seu maior envolvimento em todo o processo multidisciplinar do maneio agrícola na produção equina: já não basta “dar umas injeções”, é preciso repensar a saúde do animal no seu todo e considerar mais atentamente o impacto do seu sistema de maneio.

III. Perspectivas futuras da investigação em parasitologia equina

Com base no panorama actual da publicação em parasitologia equina, parecem-me da maior importância a realização de várias iniciativas de sistematização de informação para melhor divulgação do conhecimento actual à escala global, e nomeadamente:

- Planeamento adequado de uma base de dados mundial (à semelhança da GenBank) sobre o parasitismo equino que permita uma melhor compreensão do fenómeno complexo do parasitismo gastro-intestinal multi-específico do cavalo. É urgente sabermos quais as prevalências e abundâncias dos vários parasitas, assim como a importância real da incidência e fatalidade da ciatostominose e outras parasitoses no panorama global da produção equina.
- É necessário proceder a uma maior uniformização e harmonização dos protocolos de testes de eficácia e de infecções experimentais ou estudos de campo e nomeadamente no que diz respeito ao número da amostra, à idade dos animais utilizados e aos pré-requisitos protocolares. Esta necessidade parece aparente na sequência da publicação de inúmeros estudos em que o número ou a idade dos animais ou insuficiências do protocolo experimental não permitem uma extrapolação para a generalidade da população equina. Há portanto a necessidade de distinguir os *case studies* dos estudos estatisticamente significativos e de fazer uma revisão crítica dos métodos estatísticos utilizados e da sua interpretação, bem como a tipificação das eliminações de ovos. (Alguns estudos de avaliação de eficácia publicados em revistas internacionais não respeitavam as recomendações da WAAVP (Duncan *et al*, 2002) em vários pontos e apesar disso alegavam bons resultados de eficácia do composto usado.)

Conclusão

A nível da investigação em parasitologia equina existem pelo menos cinco linhas principais que serão da maior importância num futuro próximo:

- Avaliação do impacto das alterações de manejo na produção cavalar nos últimos 50 a 100 anos na possível interrupção de mecanismos evolutivos do parasitismo gastro-intestinal (alteração das prevalências e abundâncias de diferentes espécies de parasitas e a sua associação com a emergência de síndromes clínicas como a ciatostomiose); averiguação da influência dos parâmetros de selecção das diferentes raças equinas (aplicando-se também aos pequenos ruminantes) na incidência de patologia gastrointestinal associada ao parasitismo.
- Reavaliação dos níveis de eliminação parasitária de animais saudáveis e a sua associação com a patologia clínica, nomeadamente com a introdução de métodos alternativos de controlo.
- Estudo das relações inter-específicas na comunidade parasitária intestinal e dos efeitos no hospedeiro em equilíbrio (potenciais efeitos protectores contra outro tipo de doenças por exemplo).
- Estudo da influência das hormonas ligadas ao ritmo circadiano e à subsequente actividade reprodutiva sazonal nos mecanismos de latência (hipobiose) e de reaparecimento sazonal dos nemátodes gastro-intestinais; avaliação da relação entre esta variação hormonal sazonal e o *stress* fisiológico por ela induzido (exemplo típico da égua no peri-parto); estudo do *stress* não associado à reprodução e impacto no sistema hormonal e imunitário do hospedeiro.
- Estudo da influência da nutrição na resiliência e na resistência ao parasitismo.

Bibliografia

Bibliografia

1. ABBOTT, J.B.; MELLOR, D.J. e LOVE, S. (2007). Assessment of serum protein electrophoresis for monitoring therapy of naturally acquired equine cyathostomin infections. *Veterinary Parasitology* 147, pp 110-117
2. AGRÍCOLA, R., JORGE, H., GILLESPIE, A. T., BARBOSA, M., FAZENDEIRO, I.M. e MADEIRA DECARVALHO, L.M. (2003). In *Actas das "II Jornadas da Associação de Estudantes de Medicina Veterinária da Universidade de Évora, Equinos – Produção e Clínica"*, Évora, 16-18 Maio de 2003, 2 pp.
3. ALEXANDER, S. e IRVINE, C.H.G. (1998). Stress in the racing horse: Coping vs not coping. *J. Equine Sci.*, 9-3, 77-81
4. ALZIEU, J.-P., BOURDENX, L., ALZIEU, C., FLOCHLAY, A., BLOND-RIOU, F. e DORCHIES, Ph. (1997). Persistance de l'activité d'un gel oral à 2% de Moxidectine sur les strongiles gastro-intestinaux de chevaux infestés naturellement. Resultats d'un essai dans le Sud-Ouest français. *Bulletin des G.T.V.*, n.º5, pp.79-83
5. AMERICAN COLLEGE OF VETERINARY INTERNAL MEDICINE (2006). ACVIM Consensus Statements: Anthelmintic Resistance of Gastrointestinal Parasites in Small Ruminants. *J Vet Intern Med*, 20, 435-444
6. ANDRADE, M. C. (edição facsimile sd, original de 1790). *Luz da Liberal e Nobre Arte da Cavallaria*. Lisboa, 454pp
7. ANDREWS, F.M., BUCHANAN, B.R., ELLIOT, S.B., CLARIDAY, N.A. E EDWARDS, L. H. (2005). Gastric ulcers in horses. *J Anim Sci*, 83, 18-21
8. ANTHONY, D.W. e DORCAS, R.B. (2007). The Secondary Products Revolution, Horse-Riding and Mounted Warfare. Acedido em 14 de Junho de 2010, disponível em: <http://users.hartwick.edu/anthonyd/harnessing%20horsepower.html>
9. APHIS (2007) United States Department of Agriculture: Animal and Plant Health Inspection Services. Acedido em 20 Jul 2010 em: nahms.aphis.usda.gov/equine/.../Equine05_is_Demographics.pdf
10. ARASU, P. (2001). In Vitro Reactivation Of Ancylostoma Caninum Tissue-ArrestedThird-Stage Larvae By Transforming Growth Factor- β . *J Parasitol.*, 87-4, 733-738
11. ARAÚJO, A., JANSEN, A.M., BOUCHET, F., REINHARD, K. e FERREIRA, L.F. (2003). Parasitism, the Diversity of Life, and Paleoparasitology. Rio de Janeiro: *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 98-I, 5-11
12. ARNAUD, M G et al (1997). *Notation de l'état corporel des chevaux de selle et de sport: Guide pratique*. Paris: Institut de l'Élevage, octobre 1997. 40p. ISBN 2-84148-023-2.

13. AVAZ, E., TUREL, I., GUL, A. e YLMAZ, O. (2008). Evaluation of the Anthelmintic Activity of Garlic (*Allium sativum*) in Mice Naturally Infected with *Aspicularis tetraptera* (Abstract). *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 3-2, 149-152(4)
14. BAIRDEN, K., BROWN, S.R., MCGOLDRICK, J., PARKER, L.D. e TALTY, P.J. (2001). Efficacy of moxidectin 2 per cent gel against naturally acquired strongyle infections in horses, with particular reference to larval cyathostomes. *The Veterinary Record*, 148, 138-141
15. BAUDENA, M.A., CHAPMAN, M.R., FRENCH, D.D. e KLEI, T.R. (2000). Seasonal development and survival of equine cyathostome larvae on pasture in south Louisiana. *Veterinary Parasitology*, 88, 51-60
16. BAUDENA, M.A., CHAPMAN, M.R., LARSEN, M. e KLEI, T.R. (2000a). Efficacy of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in reducing equine cyathostome larvae on pasture in south Louisiana. *Veterinary Parasitology*, 89, 219-230
17. BAUER, C., ÇIRAK, V.Y., HERMOSILLA, C. e OKORO, H. (1998). Efficacy of a 2 per cent moxidectin gel against gastrointestinal parasites of ponies. *The Veterinary Record*, 143, 558-561
18. BEAN, N. (sd). Przewalskishorses. Imagem acedida a 15 de Junho de 2010, disponível em: <http://www.arkive.org/przewalskis-horse/equus-ferus-przewalskii/>
19. BELLO, T.R. e LANINGHAM, J.E.T. (1994). A controlled trial evaluation of three oral dosages of moxidectin against equine parasites. *Journal of Equine Veterinary Science*, 14-9, 483-88
20. BEUGNET, F. (1998). Méthodes de lutte contre les strongyloses equines. *Prat Vet Equine*, 30-120, 45-55
21. BEUGNET, F. (1999). Comment vermifuger intelligemment: une stratégie raisonné. *Cheval Santé*, 1, 78-84
22. BEZDEKOVÁ, B., JAHN, P., VYSKOCIL, M., PLACHY, J. (2005). Prevalence of Equine Gastric Ulceration in Standardbred Racehorses in Czech Republic. *Acta Vet Brno*, 74, 59-65
23. BEZERRA, S.Q., MACHADO DO COUTO, M.C., MOURA DE SOUZA, T., BEVILAQUA, C.M.L., ANJOS, D.H.S., SAMPAIO, I.B.M. e RODRIGUES, M.L.A. (2007). Ciatostomíneos (Strongylidae-Cyathostominae) parasitas de cavalos: Ecologia experimental dos estágios préparasíticos em gramínea tifton 85 (*Cynodon spp. cv.Tifton 85*) na baixada Fluminense, RJ, Brasil. *Parasitol Latinoam*, 62, 27-34
24. BIGGIN, T.A., BRISTOL, A. e COLES, G.C. (1999). Parasite control in horses of members of pony clubs. *Equine vet. Educ.*, 11-6, 318-321
25. BIESKY, I.G.C. (2005). *Plantas medicinais e aromáticas no Sistema Único de Saúde da região sul de Cuiabá-MT* – monografia de Pós-Graduação em plantas medicinais pela Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brasil. 92pp

26. BIOLOGICAL LIBRARY (2010). *Equus hemionus onager*. Acedido em Mai. 3, 2010, disponível em: <http://www.biolib.cz/IMG/GAL/14111.jpg>
27. BIRD, J. e HERD, R.P. (1995). In vitro assessment of two species of nematophagous fungi (*Arthrobotrys oligospora* e *Arthrobotrys flagrans*) to control the development of infective cyathostome larvae from naturally infected horses. *Veterinary Parasitology*, 56, 181-187
28. BLOOD, D.C. e STUDERT, V.P. (1999). *Saunders Comprehensive Veterinary Dictionary*. (2nd ed.). Avon: WB Saunders
29. BODECEK, S., JAHN, P., DOBESOVA, O. e VAVROUCHOVA, E. (2010). Equine cyathostomosis: case reports. *Veterinarni Medicina*, 55-4, 187-193
30. BOERSEMA, J.H., BORGSTEEDE, F.H.M, EYSKER, M. e SAEDT, I. (1995). The reappearance of strongyle eggs in faeces of horses treated with pyrantel embonate. *The Veterinary Quarterly*, 17-1, 18-20
31. BOERSEMA, J.H., EYSKER, M. e VAN DER AAR, W.M. (1998). The reappearance of strongyle eggs in the faeces of horses after treatment with moxidectin. *The Veterinary Quarterly*, 20-1, 15-17
32. BOYLE, A.G. e HUSTON, R. (2006). Parasitic pneumonitis and Treatment in Horses (Abstract). *Clinical Techniques in Equine Practice*, 5-3, 225-232
33. BRILLARD, P. (1997). Les vers du cheval – Analyses coproscopiques sur 100 chevaux à "Cheval Passion 97" – Matériel, methode et interpretation. *Prat Vet Equine 1997*, 29-2, 123-128
34. BUCKNELL, D.G., GASSER, R.B. e BEVERIDGE, I. (1995) The Prevalence And Epidemiology Of Gastrointestinal Parasites Of Horses In Victoria, Australia. *International Journal for Parasitology*, 25-6, 711-724
35. BUCKNELL, D., HOSTE, H., GASSER, R.B. e BEVERIDGE, I. (1996). The structure of the community of strongyloid nematodes of the domestic equids [Abstract]. *Journal of Helminthology*, 70, 185-192
36. CAEIRO, V. (1998). A ivermectina na estrogilose equina. *Veterinária Técnica*, Maio /Junho 1998, 3, 26-28
37. CALDEIRA, R. (2006). *Avaliação da condição corporal em equinos – aplicação da escala francesa*. Acção de formação na FMV-UTL, 17 de Novembro
38. CAMPOS PEREIRA, M., KOHEK, I. Jr., CAMPOS, R., LIMA, S.B. e FOZ, R.P.P. (1991). A field evaluation of anthelmintics for controlo f cyathostomes of horses in Brazil. *Veterinary Parasitology*, 38, 121-129
39. CAVALO ALADO (2008) Fotografia de gravuras rupestres. Consultado em 13 de Junho de 2010, disponível em: <http://cavaloyalado.blogs.sapo.pt/114777.html>

40. CERNEA, M., CERNEA, C.L., RAILEANU, S. e MADEIRA de CARVALHO, L. (2009). Determination of Resistance Reference Parameters of Equine Strongyls to Anthelmintic. *Bulletin UASVM, Veterinary Medicine*, 66-1, 354-358
41. CHANDLER, K.J., COLLINS, M.C. e LOVE, S. (2000). Efficacy of a five-day course of fenbendazole in benzimidazole-resistant cyathostomes. *The Veterinary Record*, 147, 661-2
42. CHAPMAN, M.R, KEARNEY, M.T. e KLEI, T.R. (1999). An experimental evaluation of methods used to enumerate mucosal cyathostome larvae in ponies. *Veterinary Parasitology* 86, 191-202
43. CHAPMAN, M.R., FRENCH, D.D., TAYLOR, H.W. e KLEI, T.R. (2002). One season of pasture exposure fails to induce a protective resistance to cyathostomes but increases the number of hypobiotic third-stage larvae. *J Parasitol*, 88(4), 678-83
44. COLES, G.C., HILLYER, M.H., TAYLOR, F.G.R. e VILLARD, I. (2003). Efficacy of an ivermectin-praziquantel combination in equids against bots and tapeworms. *The Veterinary Record*, 152, 178-179
45. COLES, G.C., JACKSON, F., POMROY, W.E., PRICHARD, R.K., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., SILVESTRE, A., TAYLOR, M.A. e VERCRUYSSSE, J. (2006). The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 136, 167-185
46. COLLOBERT, C., BERNARD, M., CLÉMENT, F., HUBERT, J., KERBOEUF, D., FLOCHLAY, A. e BLOND-RIOU, F. (1998). Efficacy of oral moxidectin gel against benzimidazole-resistant cyathostomes in horses both naturally and artificially infected with a field population. *Journal of Equine Veterinary Science*, 18:9, 588-590
47. COLLOBERT-LAUGIER, C., LAMIDEY, C., BRISSEAU, N., MOUSSU, C. e HAMET, N. (2000). Prevalence of stomach nematodes (*Habronema* spp, *Draschia megastoma* and *Trichostrongylus axei*) in horses examined post mortem in Normandy. *Révue Méd. Vet.*, 151-2, 151-156.
48. COLLOBERT-LAUGIER, C., HOSTE, H., SEVIN, C., CHARTIER, C. e DORCHIES, P. (2002). Mast cell and eosinophil mucosal responses in the large intestine of horses naturally infected with cyathostomes. *Veterinary Parasitology* 107, 251-264
49. COLLOBERT-LAUGIER, C., HOSTE, H., SEVIN, C. e DORCHIES, P. (2002a). Prevalence, Abundance And Site Distribution Of Equine Small Strongyles In Normandy, France. *Veterinary Parasitology* 110, 77-83
50. COOP, R.L. e KYRIAZAKIS, I. (2001) Influence of host nutrition on the development and consequences of nematode parasitism in ruminants (Abstract). *Trends in Parasitology*, 17-7, 325-330
51. CORBA, J, PRASLICKA, J., VÁRADY, M., ANDRASKO, H. e HOLAKOVSKY, P. (1995). Efficacy of Moxidectin 2% Equine Gel and Equivalan 1% Paste against naturally acquired internal parasite infections in horses. *Helminthologia*, 32-4, 215-218

52. CORDEIRO, A.R. (2005). *Cavalo Lusitano: o Filho do Vento*. (6ª Ed.). Lisboa: Inapa, 229pp
53. CORNING, S. (2009). Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. *Parasites & Vectors*, 2-S1. Acedido em 17 Jul 2010, disponível em: <http://www.parasitesandvectors.com/content/2/S2/S1#B19>
54. COSTA, A.J., BARBOSA, O.F., MORAES, F.R., ACUÑA, A.H., ROCHA, U.F., SOARES, V.E., PAULLILO, A.C., SANCHES, A. (1998). Comparative efficacy evaluation of moxidectin gel and ivermectin paste against internal parasites of equines in Brazil. *Veterinary Parasitology*, 80, 29-36
55. COSTA, HMA, SILVA, AVM e GUIMARÃES, MP (2002). Some morphological aspects of *Cylicocyclus brevicapsulatus* (Nematoda: Cyathostominae) parasite of the horse. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 97(1), 89-92
56. COSTA-FERREIRA, J., HENRIQUES, P.C., MATIAS, F. BETTENCOURT, P., FERREIRA, P., DUARTE, M.S. (YGLESIAS D'OLIVEIRA, P. e VILAÇA, L.V.). (2001) *LVSITANO: o Cavalo Ancestral do Sudoeste da Europa*. Lisboa: Iconom
57. COURTNEY, C.H. e ASQUITH, R.L. (1985). Seasonal changes in pasture infectivity by equine cyathostomes in north central Florida. *Equine Veterinary Journal*, 17-3, 240-2
58. COX, F.E.G. (2002). History of Human Parasitology. *Clinical Microbiology Reviews*, 15-4, 595-612
59. CRAIG, T.M., BOWEN, J.M. e LUDWIG, K.J. (1983). Transmission of equine cyathostomes (Strongylidae) in central Texas. *Am J Vet Res*, 44-10, 1867-9
60. CRAVEN, J., BJØRN, H., BARNES, E.H., HENRIKSEN, S.A. e NANSEN, P. (1999). A comparison of in vitro tests and faecal egg count reduction test in detecting anthelmintic resistance in horse strongyles. *Veterinary Parasitology*, 85, 49-59
61. CRAVEN, J., BJØRN, H., HENRIKSEN, S.A., NANSEN, P., LARSEN, M. e LENDAL, S. (1998). Survey of anthelmintic resistance on Danish horse farms, using 5 different methods of calculating faecal egg count reduction. *Equine Veterinary Journal*, 30-4, 289-293
62. DAGLEISH, M.P., ASHLEY, F., MARLEY, C.L., MACKENZIE, C., MCDONALD, J.E., SIAH, S. e SANDERSON, S. (2004). Onagers, a potential pasture parasite management tool in zoological collections. *The Veterinary Record*, 154, 118-119
63. DAVIES, J.A. e SCHWALBACH, L.M.J. (2000). A study to evaluate the field efficacy of ivermectin, fenbendazole and pyrantel pamoate, with preliminary observations on the efficacy of doramectin, as anthelmintics in horses. *Tydskr. S. Afr. Vet. Ver.*, 71-3, 144-147
64. DEMEULENAERE, D., VERCRUYSSSE, J., DORNY, P. e CLAEREBOU, E. (1997). Comparative studies of ivermectin and moxidectin in the control of naturally acquired cyathostome infections in horses. *The Veterinary Record*, 141, 383-386

65. DIRECÇÃO-GERAL DE VETERINÁRIA (2008). *Boletim Estístico 2007, n.º 13*. Lisboa: Ministério da Agricultura, Desenvolvimento Rural e das Pescas.
66. DOBSON, R.J., BESIER, R.B., BARNES, E.H., LOVE, S.C.J., VIZARD, A., BELL, K. e LEJAMBRE, L.F. (2001). Principles for the use of macrocyclic lactones to minimise selection for resistance. *Aust Vet J*, 79-11, 756-761
67. DOPFER, D.; KERSSSENS, C.M.; MEIJER, Y.G.M.; BOERSEMA, J.H. e EYSKER, M. (2004). Shedding consistency of strongyle-type eggs in dutch boarding horses. *Veterinary Parasitology* 124, 249-258
68. DORCHIES, P., CLEMENT, F., MAZAUD, V., FLOCHLAY, A. e BLOND-RIOU, F. (1997). Persistence de l'efficacité de la moxidectina gel équin à 2% chez des chevaux exposés à des réinfestations continues au cours d'une saison de pâture en France. *Institut du Cheval: 23ème journée d'étude, 33-42, sl: Institut du Cheval*
69. DORCHIES, P., DUCOS DE LAHITTE, J., FLOCHLAY, A. e BLOND-RIOU, F. (1998). Efficacy of moxidectin 2% equine gel against natural nematode infections in ponies. *Veterinary Parasitology*, 74, 85-89
70. DORN, P., MEIJER, I., SMETS, K. e VERCRUYSSSE, J. (2000). A survey of anthelmintic resistance on belgian horse farms. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 69, 334-337
71. DOWDAL, S.M.J., MATTHEWS, J.B., MAIR, T., MURPHY, D., LOVE, S. e PROUDMAN, C.J. (2002). Antigen-specific IgG(T) responses in natural and experimental cyathostominae infection in horses. *Veterinary Parasitology* 106, 225-242
72. DOWDAL, S.M.J., PROUDMAN, C.J., LOVE, S., KLEI, T.R. e MATTHEWS, J.B. (2003). Purification and analyses of the specificity of two putative diagnostic antigens for larval cyathostomin infection in horses. *Research in Veterinary Science*, 75, 223-229
73. DRUDGE, J.H., LYONS, E.T., TOLLIVER, S.C. e FALLON, E.H. (1990). Phenothiazine in the origin of benzimidazole resistance in population-B equine strongyles. *Veterinary Parasitology*, 35, 117-130
74. DU TOIT, N., MCGORUM, B.C., PEMBERTON, A.D., BROWN, J. E DACRE, K.J. (2007). The involvement of mast cells and mast cell proteinases in the intestinal response to equine cyathostomin infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 115, 35-42
75. DUNCAN, J.L. (1974). Field studies on the epidemiology of mixed strongyle infections in the horse. *The Veterinary Record*, 94-15, 337-345
76. DUNCAN, J.L., ARUNDEL, J.H., DRUDGE, J.H., MALCZEWSKY, A. e SLOCOMBE, J.O.D. (1988). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) guidelines for evaluating the efficacy of equine anthelmintics. *Vet. Parasitol.*, 30, 57-72
77. DUNCAN, J.L., ABBOTT, E.M., ARUNDEL, J.H., EYSKER, M., KLEI, T.R., KRECEK, R.C., LYONS, E.T., REINEMEYER, C. e SLOCOMBE, J.O.D. (2002). World Association

- for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP): second edition of guidelines for evaluating the efficacy of equine anthelmintics. *Veterinary Parasitology*, 103, 1-18
78. DVOJNOS, G.M., KARCHENKO, V.A., LUKIANCHENKO, T.A., KOVAL, Z.Z., BORISOV, B.A. e DRINAEV, V.A. (1999). Perspectives of applications of the biological control of strongylids of horses in large horse farms in Ukraine and Russia [Abstract]. *Proceedings of the 17th international conference of the WAAVP, Copenhagen, 15-19 August*.
79. ELANEOBRIGO (2010). *Etnografando Com Letras... O Galaico*. Acedido em 15 de Junho de 2010 em: <http://ogalaico.blogspot.com/>
80. ENGLISH, A.W. (1979). The effects of dung beetles (Coleoptera-Scarabaeinae) on the free-living stages of strongylid nematodes in the horse. *Aust Vet J*, 55, 315-321
81. ENGLISH, A.W. (1979a). The epidemiology of equine strongylosis in southern Queensland: 1. The Bionomics of the free-living stages in faeces and on pasture. *Aust Vet J*, 55, 299-305
82. ENGLISH, A.W. (1979b). The epidemiology of equine strongylosis in southern Queensland: 2. The survival and migration of infective larvae on herbage. *Aust Vet J*, 55, 306-309
83. EUZEBY, J. (1982). *Diagnostic experimental des helminthoses animals: Travaux pratiques d'helminthologie vétérinaire, Livre 2*. Paris: Éditions Informations Techniques des Services Vétérinaires, Ministère de l'Agriculture.
84. EYDAL, M. (1983). Gastrointestinal parasites in horses in Iceland. *J. Agr. Res. Icel.*, 15, 1-2, 3-28
85. EYDAL, M. e GUNNARSSON, E. (1994). Helminth infections in a group of Icelandic horses with little exposure to anthelmintics. *Icel. Agr. Sci.*, 8, 85-91
86. EYSKER, M., BAKKER, J. VAN DEN BERG, M., VAN DORN, D.C.K. e PLOEGER, H.W. (2008). The use of age-clustered pooled faecal samples for monitoring worm control in horses. *Veterinary Parasitology* 151, 249-255
87. EYSKER, M., BOERSEMA, J.H., GRINWIS, G.C.M., KOOYMAN, F.N.J. e POOT, J. (1997). Controlled dose confirmation study of a 2% moxidectin equine gel against equine internal parasites in The Netherlands. *Veterinary Parasitology*, 70, 165-173
88. EYSKER, M., BOERSEMA, J.H., KOOYMAN, F.N.J. e BERGHEN, P. (1988). Possible resistance of small strongyles from female ponies in The Netherlands against albendazole. *Am J Vet Res*, 49:7, 995-999
89. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (2009). FAOSTAT: Production: Live Animals. Acedido em Jun. 27, 2010, em: <http://faostat.fao.org/site/573/DesktopDefault.aspx?PageID=573#anchor>
90. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (2009). FAOSTAT: Production: Value of Agricultural Production. Acedido em Jun. 27, 2010, em: <http://faostat.fao.org/site/613/DesktopDefault.aspx?PageID=613#anchor>

91. FECPAK INTERNATIONAL (2010). Parasol Project (Europe): Novel Solutions for the Sustainable Control of Nematodes in Ruminants. Consultado a 17 Jul 2010, em: <http://www.fecpak.com/projects-2.aspx>
92. FÉRNANDEZ, A.S., LARSEN, M., NANSEN, P., GRONVOLD, J., HENRICKSEN, S.A. e WOLSTRUP, J. (1997). Effect of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* on the free-living stages of horse parasitic nematodes: a plot study. *Veterinary Parasitology*, 73, 257-266
93. FERREIRA, D. F. (2006). Arte da Caça Altaneira. Lisboa: Livros Horizonte, 168pp
94. FIELD, A (2009) Repeated Measures Anova. In *Discovering Statistics using SPSS*. (3rd ed.) London: Sage.
95. FUNDAÇÃO ALTER REAL (2010). Registo Nacional de Equinos: Equídeos. Acedido em 26 de Maio de 2010, em <http://far.alterreal.pt/home.htm>
96. FUSÉ, L.A., CASTILLO, C. e SAUMELL, C. (1992). Influencia de los factores ambientales sobre los estadíos de vida libre y variación estacional del H.P.G. de los parásitos productores de la strongilosis equina. Tandil, Buenos Aires. *Revista de Medicina Veterinaria*, 73:1, 32-42
97. FUSÉ, L.A., SAUMELL, C.A., RODRIGUEZ, H.O. e PASSUCCI, J. (2002). Epidemiología y control de endoparásitos en potrancas criollas. *Revista de Medicina Veterinaria*, Buenos Aires, 83-4, 154-158
98. GALVANI, A.P. (2003). Immunity, antigenic heterogeneity, and aggregation of helminth parasites [abstract]. *J Parasitol*, 89-2, 232-41
99. GANTER, P. (2009). Systematic Botany and Taxonomy. Tennessee State University. Acedido a 16 de Junho de 2010, disponível em: <http://www.tnstate.edu/ganter/BIO432%20Syst%20vs%20Taxonomy.html>
100. GARCÍA-PÉREZ, A.L., MUÑOZ, F., POVEDANO, I. e JUSTE, R.A. (1994). Strongilosis en el ganado equino I. Sobre un caso de resistência de los ciatostomas al mebendazol. *Med Vet*, Barcelona, 11-1, separata de medicina veterinaria
101. GAWOR, J. J. (1995). The prevalence and abundance of internal parasites in working horses autopsied in Poland. *Veterinary Parasitology* 58, 9-108
102. GERSÃO, S.; MADEIRA DE CARVALHO, L.M. (2005) Parasitas gastrointestinais em equinos: A influência do stress na eliminação de ovos nas fezes e em parâmetros hemáticos. IX Congresso Ibérico de Parasitologia, Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, 25 a 28 de Outubro de 2005. *Acta Parasitológica Port.*, 2 pp. (Com. Oral).
103. GUÉRINIÈRE, F. R. (Tradução de BOUCHER, T. e Consultadoria de SCHUMAN, J.). (1994) *School of Horsemanship*. London: J.A. Allen & company Limited, 330pp
104. HASSLINGER, M.A. (1984). Control of endoparasites in horses. *Equine Practice*, 6-5, 23-29

105. HELENO, M.H. (2006). *O Cavalo Árabe em Portugal*. Lisboa: Iconom, 411pp
106. HEJMADI, M.V., JAGANNATHAN, S., DELANY, N.S. e COLES, G.C. (2000). L-Glutamate binding sites of parasitic nematodes: an association with ivermectin resistance? *Parasitology*, 120, 535-545
107. HERD, R.P., MILLER, T.B. e GABEL, A.A. (1981). A Field Evaluation of Pro-Benzimidazole, Benzimidazole, and Non-Benzimidazole Anthelmintics in Horses. *JAVMA*, 179-7, 686-691
108. HERD, R.P., WILLARDSON, K.L. e GABEL, A.A. (1985). Epidemiological approach to the control of horse strongyles. *Equine vet J.*, 17-3, 202-207
109. HERD, R.P. e WILLARDSON, K.L. (1985a) Seasonal distribution of infective strongyle larvae on horse pastures. *Equine vet J.*, 17-3, 235-237
110. HERD, R.P. (1986). Epidemiology and control of equine strongylosis at Newmarket. *Equine vet J.*, 18-6, 447-452
111. HERD, R.P. (1990). The changing world of worms: the rise of the cyathostomes and the decline of *Strongylus vulgaris*. *Comp Cont Educ Pract Vet*, 12, 732-6
112. HODGKINSON, J.E. (2006). Molecular Diagnosis And Equine Parasitology. *Veterinary Parasitology* 136, pp 109-116
113. HÖGLUND, J., LJUNGSTROM, B.-L., NILSSON, O. e UGGLA, A. (1995). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies to *Anoplocephala perfoliata* in horse sera. *Veterinary Parasitology*, 59, 97-106
114. HOSTE, H., TORRES-ACOSTA, J.F., PAOLINI, V., AGUILAR-CABALLERO, A., ETTER, E., LEFRILEUX, Y., CHARTIER, C. e BROQUA, C. (2005). Interactions between nutrition and gastrointestinal infections with parasitic nematodes in goats. *Small Ruminant Research*, 60, 141-151
115. HUNT, E.R., WOODWARD, R.A. e MORRISON, C.G. (1996). Influence of alternative treatment strategies on the output of strongyle eggs in the faeces of horses. *AVJ*, 7-2, 159-161
116. HUSTON, R.S., FINCHER, G.T. e CRAIG, T.M. (1984). Vertical migration of infective larvae of equine strongyles in sandy clay loam. *American Journal of Veterinary Research*, 45-3, 575-577
117. HUTCHENS, D.E. e DIPIETRO, J.A. (1996). The effect of biweekly treatment with fenbendazole on benzimidazole-resistant small strongyles. *Equine Practice*, 18-2, 10-14
118. HUTCHENS, D.E., PAUL, A.J., DIPIETRO, J.A., LOCK, T.F., JONES, C.J., ROWLEY, D.D. e WALLACE R.W. (1999). A comparison of bioequivalence of 0.5% fenbendazole top dress pellets or 10% fenbendazole oral suspension against a spectrum of equine parasite. *Veterinary Parasitology*, 83, 79-85

119. HUTCHENS, D.E., PAUL, A.J. e DIPIETRO, J.A. (1999a). Treatment and control of gastrointestinal parasites. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 15-3, 561-573
120. HUTCHENS, D.E. e PAUL, A.J. (2000). Moxidectin: Spectrum of Activity and Uses in an Equine Anthelmintic Program. *Compendium: Equine*, 373-377
121. HUTCHINSON, G.W., ABBA, S.A. e MFITILDOZE, M.W. (1989). Seasonal Translation of Equine Strongyle Infective Larvae to Herbage in Tropical Australia. *Veterinary Parasitology*, 33, 251-263
122. INSTITUTO NACIONAL DE ESTATÍSTICA, INE (2009). *Produção anual de carne por tipo de animal, dados de 2004 a 2008*. Acedido em Mai. 6 2010, disponível em: http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000916&contexto=pi&selTab=tab0
123. INSTITUTO NACIONAL DE ESTATÍSTICA, INE (2009a). *Produção anual de leite por tipo de animal, dados de 2004 a 2008*. Acedido em Mai. 6 2010, disponível em: http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000919&contexto=pi&selTab=tab0
124. INSTUTO DE METEOROLOGIA, IP. (2003). *Boletim Climatológico Anual de 2003*. Acedido em Mai. 6 2010, disponível em: <http://www.meteo.pt/pt/publicacoes/tecnico-cientif/noIM/boletins/index.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&cmbAno=2003&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=2003>
125. INSTUTO DE METEOROLOGIA, IP. (2004). *Boletim Climatológico Anual de 2004*. Acedido em Mai. 6 2010, disponível em: <https://www.meteo.pt/pt/publicacoes/tecnico-cientif/noIM/boletins/index.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&cmbAno=2004&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=2004>
126. INSTUTO DE METEOROLOGIA, IP. (2008). *Boletim Climatológico Anual de 2008*. Acedido em Mai. 6 2010, disponível em: <https://www.meteo.pt/pt/publicacoes/tecnico-cientif/noIM/boletins/index.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&cmbAno=2008&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=2008>
127. INSTUTO DE METEOROLOGIA, IP. (2008a). *Boletim Climatológico Mensal de Setembro de 2008*. Acedido em Mai. 6 2010, disponível em: <https://www.meteo.pt/pt/publicacoes/tecnico-cientif/noIM/boletins/index.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&cmbAno=2008&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=2008>
128. INSTUTO DE METEOROLOGIA, IP. (2008b). *Boletim Climatológico Mensal de Outubro de 2008*. Acedido em Mai. 6 2010, disponível em: <https://www.meteo.pt/pt/publicacoes/tecnico-cientif/noIM/boletins/index.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&cmbAno=2008&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=2008>

129. INSTUTO DE METEOROLOGIA, IP. (2008c). *Boletim Climatológico Mensal de Novembro de 2008*. Acedido em Mai. 6 2010, disponível em: <https://www.meteo.pt/pt/publicacoes/tecnico-cientif/noIM/boletins/index.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&cmbAno=2008&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=2008>
130. INSTUTO DE METEOROLOGIA, IP. (2008d). *Boletim Climatológico Mensal de Dezembro de 2008*. Acedido em Mai. 6 2010, disponível em: <https://www.meteo.pt/pt/publicacoes/tecnico-cientif/noIM/boletins/index.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&cmbAno=2008&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=2008>
131. INSTUTO DE METEOROLOGIA, IP. (2009). *Boletim Climatológico Anual de 2009*. Acedido em Mai. 6 2010, disponível em: <https://www.meteo.pt/pt/publicacoes/tecnico-cientif/noIM/boletins/index.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&cmbAno=2009&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=2009>
132. INSTUTO DE METEOROLOGIA, IP. (2009a). *Boletim Climatológico Mensal de Janeiro de 2009*. Acedido em Mai. 6 2010, disponível em: <https://www.meteo.pt/pt/publicacoes/tecnico-cientif/noIM/boletins/index.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&cmbAno=2009&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=2009>
133. INSTUTO DE METEOROLOGIA, IP. (2009b). *Boletim Climatológico Mensal de Fevereiro de 2009*. Acedido em Mai. 6 2010, disponível em: <https://www.meteo.pt/pt/publicacoes/tecnico-cientif/noIM/boletins/index.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&cmbAno=2009&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=2009>
134. INSTUTO DE METEOROLOGIA, IP. (2009c). *Boletim Climatológico Mensal de Março de 2009*. Acedido em Mai. 6 2010, disponível em: <https://www.meteo.pt/pt/publicacoes/tecnico-cientif/noIM/boletins/index.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&cmbAno=2009&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=2009>
135. INSTUTO DE METEOROLOGIA, IP. (2009d). *Boletim Climatológico Mensal de Abril de 2009*. Acedido em Mai. 6 2010, disponível em: <https://www.meteo.pt/pt/publicacoes/tecnico-cientif/noIM/boletins/index.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&cmbAno=2009&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=2009>
136. INSTUTO DE METEOROLOGIA, IP. (2009e). *Boletim Climatológico Mensal de Maio de 2009*. Acedido em Mai. 6 2010, disponível em: <https://www.meteo.pt/pt/publicacoes/tecnico-cientif/noIM/boletins/index.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&cmbAno=2009&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=2009>

- [cientif/noIM/boletins/index.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&cmbAno=2009&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=2009](https://www.meteo.pt/pt/publicacoes/tecnico-cientif/noIM/boletins/index.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&cmbAno=2009&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=2009)
137. INSTUTO DE METEOROLOGIA, IP. (2009f). Boletim *Climatológico Mensal de Junho de 2009*. Acedido em Mai. 6 2010, disponível em: <https://www.meteo.pt/pt/publicacoes/tecnico-cientif/noIM/boletins/index.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&cmbAno=2009&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=2009>
138. INSTUTO DE METEOROLOGIA, IP. (2009g). Boletim *Climatológico Mensal de Julho de 2009*. Acedido em Mai. 6 2010, disponível em: <https://www.meteo.pt/pt/publicacoes/tecnico-cientif/noIM/boletins/index.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&cmbAno=2009&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=2009>
139. INSTUTO DE METEOROLOGIA, IP. (2009h). Boletim *Climatológico Mensal de Agosto de 2009*. Acedido em Mai. 6 2010, disponível em: <https://www.meteo.pt/pt/publicacoes/tecnico-cientif/noIM/boletins/index.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&cmbAno=2009&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=2009>
140. INSTUTO DE METEOROLOGIA, IP. (2009i). Boletim *Climatológico Mensal de Setembro de 2009*. Acedido em Mai. 6 2010, disponível em: <https://www.meteo.pt/pt/publicacoes/tecnico-cientif/noIM/boletins/index.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&cmbAno=2009&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=2009>
141. IQBAL, Z., NADEEM, Q. K., KHAN, M.N. AKHTAR M.S. eWARAICH, F.N. (2001). *In Vitro* Anthelmintic Activity of *Allium sativum*, *Zingiber officinale*, *Curcubita mexicana* and *Ficus religiosa*. *International Journal of Agriculture & Biology*, 3-4, 454-57
142. ISHIDA, N., OYUNSUREN, T., MASHIMA, S., MUKOYAMA, H. e SAITOU, N. (1995). Mitochondrial DNA Sequences of Various Species of the Genus *Equus* with Special Reference to the Phylogenetic Relationship Between Prezwalskii's Wild Horse and Domestic Horse. *Journal of Molecular Evolution*, 41, 180-188
143. JACKSON, F. e COOP, R.L. (2000). The development of enthelmintic resistance in sheep nematodes. *Parasitology*, 120, S95-S107
144. JANSEN, T., FOSTER, P., LEVINE, M.A., OELKE, H., HURLES, M., RENFREW, C., WEBER, J. e OLEK, K. (2002). Mitochondrial DNA and the origins of the domestic horse. *PNAS*, 99:16, 10905-10
145. KAPLAN, R.M. e LITTLE, S.E. (2000). Controlling equine cyathostomes. *Compendium*, Abril, 391-395
146. KAPLAN, R.M. e MATTHEWS, J. B. (2004). Equine Ciathostomins. *Veterinary Parasitology* 125, pp 203-220

147. KELLY, J.D., WEBSTER, J.H., GRIFFIN, D.L., WHITLOCK, H.V., MARTIN, I.C.A. e GUNAWAN, M. (1981). Resistance to benzimidazole anthelmintics in equine strongyles: 1. Frequency, geographical distribution and relationship between occurrence, animal husbandry procedures and anthelmintic usage. *Aust Vet J*, 57-4, 163-171
148. KHAN, W.I., BLENNERHASSET, P.A., VARGHESE, A.K., CHOWDHURY, S.K., OMSTED, P., DENG, Y. e COLLINS, S.M. (2002). Intestinal Nematode Infection Ameliorates Experimental Colitis in Mice. *Infection and immunity*, 70-11, 5931-37
149. KINSELLA, J.L., LICHTENFELS, J.R. e RYAN, M.F. (2002). A preliminary analysis of proteolytic activity of excretory-secretory products from Cyathostominae. *Veterinary Parasitology*, 107, 73-83
150. KLEI, T.R., CHAPMAN, M.R., FRENCH, D.D. e TAYLOR, H.W. (1993). Evaluation of ivermectin at an elevated dose against encysted equine cyathostome larvae. *Veterinary Parasitology*, 47, 99-106
151. KLEI, T.R. e CHAPMAN, M.R. (1999). Immunity in equine cyathostome infection. *Veterinary Parasitology*, 85, 123-136
152. KLEI, T.R. (2001). Strongyles large and small: immunity. *Immunology in Havemeyer Foundation Monograph Series*, 4, 17-18
153. KNAPP, S. (2010). Linnaeus and the birth of modern taxonomy. London: Natural History Museum. Acedido em 16 de Junho de 2010, disponível em: <http://www.nhm.ac.uk/nature-online/science-of-natural-history/taxonomy-systematics/history-taxonomy/session1/index.html>
154. KÖHLER, P. (2001). The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. *International Journal for Parasitology*, 31, 336-345
155. KUZMINA, T., DVOINOS, G. e SLIVINSKA, K. (2001). New record on horse cyathostomes resistance to benzimidazoles in Ukraine [Abstract]. *Proceedings of the 18th international conference of the WAAVP*, Stresa – Italy, 26-30 August.
156. KUZMINA, T., DVOINOS, G. e SLIVINSKA, K. (2001). New record on horse cyathostomes resistance to benzimidazoles in Ukraine [Abstract]. *Proceedings of the 18th international conference of the WAAVP*, Stresa – Italy, 26-30 August.
157. KUZMINA, T. (2001a). The effect of some anthelmintics on *Duddingtonia flagrans* growth [Abstract]. *Proceedings of the 18th international conference of the WAAVP*, Stresa – Italy, 26-30 August.
158. LA ROCCAA, A., MARSILIA, S. e MARIOTTIA, M.G. (2010). Traditional uses of plants in the Eastern Riviera (Liguria, Italy) (Abstract). *Journal of Ethnopharmacology*, 125-1, 16-30
159. LANGROVÁ, I. (1998). Seasonal prevalence and intensity of faecal helminth egg (larval) output in various categories of herds of horses during two grazing seasons. *Helminthologia*, 31-1, 43-50

160. LANGROVÁ, I. (1999). The importance of contaminated pastures and litter in stables for the infection with nematodes of family Strongylidae in horses on studfarm Xaverov. *Helminthologia*, 34-4, 241-249
161. LANGROVÁ, I. (2001). The presence of infective larvae of equine strongyles in various parts of horse boxes [Abstract]. *Helminthologia*, 38-3, 135-137
162. LANSA, C., TURNER, N., KHAN, T. e BRAUER, G. (2007). Ethnoveterinary medicines used to treat endoparasites and stomach problems in pigs and pets in British Columbia, Canada (Abstract). *Veterinary Parasitology*, 148:3-4, 325-340
163. LARSEN, M.M, LENDAL, S., CHRIÈL, M., OLSEN, S.N. e BJØRN, H. (2002). Risk factors for high endoparasitic burden and the efficiency of a single anthelmintic treatment of Danish horses. *Acta vet. Scand.*, 43, 99-106
164. LENZI, H.L., PACHECO, R.G., PELAJO-MACHADO, M., PANASCO, M., ROMANHA, W.S. e LENZI, J.A. (1997). Immunological System and Schistosoma mansoni: Co-evolutionary Immunobiology. What is the Eosinophil Role in Parasite-host Relationship? . Rio de Janeiro: *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 92-II, 19-32
165. LICHTENFELS, J.R., KHARCHENKO, V.A., KRECEK, R.C. e GIBBONS, L.M. (1998). An annotated checklist by genus and species of 93 species level names for 51 recognised species of small strongyles (Nematoda: Strongyloidea: Cyathostominae) of horses, asses and zebras of the world. *Veterinary Parasitology* 79, 65-79
166. LICHTENFELS, J.R. (2008). Identification keys to strongylid nematode parasites of equids. In special issue, *Veterinary Parasitology*, 156, 1-3
167. LICHTENFELS, J.R., KHARCHENKO, V.A. e DVOJNOS, G.M. (2008). Illustrated identification keys to strongylid parasites (strongylidae: Nematoda) of horses, zebras and asses (Equidae). In special issue, *Veterinary Parasitology*, 156, 4-161
168. LITTLE, D., FLOWERS, J.R., HAMMERBERG, B.H. e GARDNER, S.Y. (2003). Management of drug-resistant cyathostomiasis on a breeding farm in central North Carolina. *Equine Veterinary Journal*, 35-3, 246-251
169. LLOYD, S., SMITH, J., CONNAN, R.M., HATCHER, M.A., HEDGES, T.R., HUMPHREY, D.J. e JONES, A.C. (2000). Parasite control methods used by horse owners: factors predisposing to the development of anthelmintic resistance in nematodes. *Veterinary Record*, 146, 487-492
170. LOCH, S. (1994). Histoire de l'Équitation Classique: de l'Antiquité à nos Jours. Espagne: Maloine, 247pp
171. LOUKAS, A. e PROCIV, P. (2001). Immune responses in hookworm infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 14-4, 689-703
172. LOVE, S. e MCKEAND, J.B. (1997). Cyathostomosis: practical issues of treatment and control. *Equine Veterinary Education*, 9-5, 253-256

173. LUKYANCHENKO, T.A. (1999). The demonstration of nematophagus activity of dried *Duddingtonia flagrans* preparation after its prolonged storage. [Abstract]. *Proceedings of the 17th international conference of the WAAVP*, Copenhagen, 15-19 August.
174. LUKYANCHENKO, T.A. (1999a). Nematophagus activity of predacious fungi *Duddingtonia flagrans* e *Arthrobotrys oligospora* in the fluid preparation [Abstract]. *Proceedings of the 17th international conference of the WAAVP*, Copenhagen, 15-19 August.
175. LUZ PEREIRA, A.B., CAVICHILLI, J.H., GUIMARÃES, J.S, BATISTON, A. e GUSMÃO, R.A.M. (1994). Eficácia a campo do mebendazole, oxicarbendazole, pamoato de pirantel e doramectin contra pequenos estrongilídeos (Cyathostominae) de equídeos. *Rev. Brás. Parasitol. Vet*, 3-2, 93-97
176. LYONS, E.T., TOLLIVER, S.C., DRUDGE, J.H., STAMPER, S., SWERCZEK, T.W. e GRANSTROM, D.E. (1996). Critical test evaluation (1977-1992) of drug efficacy against endoparasites featuring benzimidazole-resistant small strongyles (Population S) in Shetland ponies. *Veterinary Parasitology*, 66, 67-73
177. LYONS, E.T.; TOLLIVER, S.C; COLLINS, S.S.; DRUDGE, J.H. e GRANSTROM, D.E., (1997). Transmission of some species of internal parasites in horses born in 1993, 1994, and 1995 on the same pasture on a farm in central Kentucky. *Veterinary Parasitology* 70, 225-240
178. LYONS, E.T.; TOLLIVER, S.C. e DRUDGE, J.H. (1999). Historical perspective of cyathostomes: prevalence, treatment and control programs. *Veterinary Parasitology* 85, pp 97-112
179. LYONS, E.T. e DRUDGE, J.H. (2000). Larval cyathostomiasis. *Emerging infectious diseases in Veterinary clinics of North America: Equine Practice*, 16-3, 501-513
180. LYONS, E.T.; TOLLIVER, S.C; COLLINS, S.S. e DRUDGE, J.H. (2001). Transmission of endoparasites in horse foals born on the same pasture on a farm in central Kentucky (1996-1999). *Veterinary Parasitology* 97, 113-121
181. LYONS, E. T.; TOLLIVER, S. C.; Ionita, M.; Lewellen, A.; Collins, S. S. (2008). Field studies indicating reduced activity of ivermectin on small strongyles in horses on a farm in Central Kentucky. *Parasitol Res*, 103:209–215 (Publicado *online* a 4 de Abril de 2008)
182. MADEIRA DE CARVALHO, L.M. (2001) “Epidemiologia e controlo da estrongilidose em diferentes sistemas de produção equina em Portugal”. Tese de Dissertação de Doutoramento, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa: edição do autor, 2002. 445 + xxii pp
183. MADEIRA DE CARVALHO, L.M.; SERRA, P.; AFONSO-ROQUE, M.M.; FAZENDEIRO, M.I (2002) Ciatostominose equina: actualização 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, pp. 353-354. (Com. Oral).

184. MADEIRA DE CARVALHO, L.M.; AFONSO-ROQUE, M.M.; FAZENDEIRO, M.I. (2003) Estudo da prevalência e abundância de estrogilídeos dos equídeos observados em amostras fecais. *VII Cong. Port. Parasitol., Soc. Port. Parasitol., Inst. Hig. Med. Trop., Lisboa, 9-11 Abril 2003. Acta Parasitol. Port.*, pp.2. (Com. Oral).
185. MADEIRA DE CARVALHO, L.M.; FARRIM, M.C.; AFONSO-ROQUE, M.M.; FAZENDEIRO, M.I. (2003a) Groups, efficacy and egg reappearance period of commonly used anthelmintics in equine practice in Portugal. 9th Int. Cong. Eur. Ass.Vet. Pharm. Tox., Lisbon, Portugal, 13-18th July 2003. *J. Vet. Pharm. Therap.*, 26, Suppl.1, pp. 237-238.
186. MADEIRA DE CARVALHO, L.M., AFONSO-ROQUE, M.M. & CARVALHO-VARELA, M. (2004) A preliminary study on the prevalence and site distribution of strongyles in the large intestine of horses in Portugal, pp. 376-387. In DARABUS, G., NICHITA, I., GANTA, C.V. (Ed.) *Lucrari Stiintifice, Medicina Veterinara, Volumul XXXVII, Universitatea de Stiinte Agricole si Medicina Veterinara a Banatului, Timisoara, Roménia, 1001 pp.*
187. MADEIRA DE CARVALHO, L.M., FAZENDEIRO, M.I. e 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. In *Acta Parasitológica Portuguesa* 12, 1-2, 285
188. MADEIRA DE CARVALHO, L.M. (2006) Os equídeos em Portugal: de animais de produção a animais de companhia. I – Impacte nas Doenças Parasitárias. *Medicina Veterinária* (Revta. da AEFMV), Nº 62, 13-24.
189. MADEIRA DE CARVALHO, L.M. (2006a) Os equídeos em Portugal: de animais de produção a animais de companhia. II – Implicações no Diagnóstico e no Controlo das Parasitoses Gastrointestinais. *Medicina Veterinária* (Revta. da AEFMV), Nº 62, 13-24.
190. MADEIRA DE CARVALHO, L.M.; MARTINS, S.; SOUSA, S.; GERSÃO, S.; GOMES, T.; LUCENA, G.; FAZENDEIRO, M.I., AFONSO-ROQUE, M.M. (2007) Cyathostomin infection of horses and donkeys in Portugal based on the study of L3 subpopulations of *Cyathostomum sensu latum*. *Proceedings of the 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 498, pp. 381.
191. MADEIRA DE CARVALHO, L.M., GILLESPIE, A.T., SERRA, P.M., BERNARDO, F.A., FARRIM, A.P. e FAZENDEIRO, I.M. (2008b). Eficácia do fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* no controlo biológico da estrogilidose equina no Ribatejo. *RPCV*, 102, 233-247
192. MADEIRA DE CARVALHO, L.M., AFONSO-ROQUE, M.M., GOMES, L., FAZENDEIRO, M.I. (2007c) - Cyathostomin infection in a horse production system in Portugal using dry and irrigated pastures. *Proceedings of the 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 499, pp. 382.

193. MADEIRA DE CARVALHO, L.M., CERNEA, M., COZMA, V. (coordenadores) CERNEA, L.C., RAILEANU, S., SILBERG, R. e GUT, A. (co-autores). (2008) Atlas of Diagnosis of Equine Strongylidosis (English, Romanian and Portuguese). Cluj-Napoca (Romania): Editura AcademicPres, 118pp
194. MADEIRA DE CARVALHO, L.M. e GERSÃO, S. (2008a). Diagnóstico Helmintológico De Exploração: Aplicação Prática No Controlo Da Estrongilidose/Ciatostominose Equina. Comunicação oral, *XXXII Jornadas Médico-Veterinárias da Associação de Estudantes da Faculdade de Medicina Veterinária*, “Métodos e Técnicas de Diagnóstico em Medicina Veterinária”, 7a 9 de Novembro, Lisboa
195. MADEIRA DE CARVALHO, L.M., CERNEA, M.S., MARTINS, S., SOUSA, S., GERSÃO, S. CERNEA, L.C. (2008c) - L3 subpopulations of Cyathostomum sensu latum : Adventures with an alternative approach to study cyathostomin infection of horses in Portugal and Romania. In KAPLAN, R.M. & NIELSEN, M.K. (Eds.) - *Proceedings of Equine Parasite Drug Resistance Workshop, July 31st and August 1, 2008*, Abst. 26, pp. 31.
196. MADEIRA DE CARVALHO, L.M., GOMES, L., CERNEA, M., CERNEA, C., SANTOS, C.A., BERNARDES, N., ROSÁRIO, M.A., SOARES, M.J. e FAZENDEIRO, I. (2008a). Parasitismo gastrintestinal e seu controlo em asininos e híbridos estabulados. *RPCV*, 102, 225-231
197. MAGE, C., TRILLAUD-GEYL, C. e ARNAUD, G. (1995). Epidémiologie de l'infestation des jeunes chevaux au pâturage par les strongles gastro-intestinaux. *Revue Méd. Vét.*, 146-1, 41-44
198. MAGE, C. (1996). Epidémiologie parasitaire chez les juments de trait au pâturage. *Revue Méd. Vét.*, 147-3, 211-214
199. MAGE, C., ARNAUD, G., FLOCHLAY, A. e BLOND-RIOU, F. (1998). Efficacité de la moxidectine en gel oral à 2p. cent sur les strongles gastro-intestinaux des chevaux au pâturage. *Prat Vét Equine*, 30-119, 61-65
200. MAIR, T.S. e CRIPPS, P.J. (1991). Benzimidazole resistance in equine strongyles: association with clinical disease. *Veterinary Record*, 128, 613-614
201. MARLEY, C.L., COOK, R., KEATINGE, R., BARRETT, J. e LAMPKIN, N.H. (2003). The effect of birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*) and chicory (*Chicorium intybus*) on parasite intensities and performance of lambs naturally infected with helminth parasites (Abstract). *Veterinary Parasitology*, 112:1-2, 147-155
202. MARTIN, R.J., MURRAY, I., ROBERTSON, A.P., BJORN, H. e SANGSTER, N. (1998). Anthelmintics and ion-channels: after a puncture, use a patch. *International Journal for Parasitology*, 28, 849-862
203. MARTIN-ROSSET, W. (2006). Composition corporelle du cheval. Comunicação pessoal na FMV-UTL.

204. MARTINS, I.V.S., SANT'ANNA, F.B. e SCOTT, F.B. (2001). Lesão por *Strongylus vulgaris* na aorta abdominal: relato de caso. *Parasitol dia*, 25:1-2, 68-69
205. MARTINS, S.; SOUSA, S; MADEIRA DE CARVALHO, L. M. (2007). A survey of parasite control methods used by horse owners in Portugal. *Proceedings of the 21st International Conference of WAAVP, from EPG to Genes, Gent, Belgium, 19-23rd August, 2007*, Poster group 11: Helminth Infections of Horses, Abstract 508, pp. 386.
206. MARTINS, S.; MADEIRA DE CARVALHO, L.M. (2007a) - Eficácia, período de reaparecimento de ovos e resistência a anti-helmínticos utilizados no controlo parasitário de equinos em Portugal. In Madeira de Carvalho, L.M. & Grácio, A.J.S. (2007) Resistência Aos Anti-Parasitários e Controlo Integrado das Parasitoses Animais. *Mesa Redonda do IX Congresso Ibérico de Parasitologia, Universidade de Coimbra, 25-28 de Outubro de 2005*. Acta Parasitológica Portuguesa (Submetido para publicação em Julho de 2007).
207. MATHEE, S., KRECEK, R.C., MILNE, S.A., BOSHOFF, M. e GUTHRIE, A.J. (2002). Impact of management interventions on helminth levels, and body and blood measurements in working donkeys in South Africa. *Veterinary Parasitology*, 107, 103-113
208. MATHEE, S., DREYER, F.H., HOFFMANN, W.A. e VAN NIEKERK, F.E. (2002a). An introductory survey of helminth control practices in South Africa and anthelmintic resistance on Thoroughbred stud farms in the Western Cape Province. *Jl S. Afr. Vet. Ass.*, 73-4, 195-200
209. MATHEE, S. (2003). Anthelmintic treatment in horses: the extra-label use of products and the danger of under-dosing. *Jl. Afr. Vet. Ass.*, 74-3, 53-56
210. MATHEE, S. e McGEOCH, M. A. (2004). Helminths In Horses: Use Of Selective Treatment For The Control Of Strongyles. *Journal of South African Veterinay Association*, 75-3, 129-136
211. MATIAS (2008). Matia's Public Gallery at Picasa Web Albums. Acedido a 13 de Junho de 2010, disponível em <http://www.picasa.google.com>
212. MEDICA, D.L., HANAWAY, M.J., RALSTON, S.L. e SUKHDEO, M.V.K. (1996). Grazing behaviour of horses on pasture: predisposition to strongylid infection?. *Journal of Equine Veterinary Science*, 16-10, 421-427
213. MES, T.H.M. (2003). Technical variability and required sample size of helminth egg isolation procedures. *Veterinary Parasitology*, 115, 311-320
214. MFITILDOZE, M.W. e HUTCHINSON, G.W. (1987). Development and survival of free-living stages of equine strongyles under laboratory conditions. *Veterinary Parasitology*, 23, 121-133
215. MFITILDOZE, M.W. e HUTCHINSON, G.W. (1988). Development and survival of free-living stages of equine strongyles in faeces on pasture in a tropical environment. *Veterinary Parasitology*, 26, 285-296

216. MILILLO, P., BOECKH, A., COBB, R., OTRANTO, D., LIA, R.P., PERRUCCI, S., FRANGIPANE DI REGALBONO, A., BERALDO, P., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., DEMELER, J., BARTOLINI, R. e TRAVERSA, D. (2009). Faecal Cyathostomin Egg Count distribution and efficacy of anthelmintics against cyathostomins in Italy: a matter of geography? *Parasites & Vectors*, 2:S2, 7pp, disponível em: <http://www.parasitesandvectors.com/content/2/S2/S4>
217. MOLENTO, M.B. (2008). Avermectin/milbemycin resistance in cyathostomins – current situation [Abstract]. In Proceedings, *International Equine Parasite Drug Resistance Workshop, Copenhagen, July 31-August 1, 2008*. Editors: Ray M. Kaplan, Martin Krarup Nielsen.
218. MONAHAN, C.M., CHAPMAN, M.R., TAYLOR, H.W., FRENCH, D.D. e 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
219. MONAHAN, C.M.; CHAPMAN, M.R.; TAYLOR, H.W.; FRENCH, D.D. e KLEI, T.R. (1998). Experimental cyathostome challenge of ponies maintained with or without benefit of daily pyrantel tartarate feed additive: comparison of parasite burdens, immunity and colonic pathology. *Veterinary Parasitology* 74, 229-241
220. MONAHAN, C.M. (2000) – Anthelmintic Control Strategies for Horses. 13 pp. In BOWMAN, D.D. (Ed.) *Companion and Exotic Animal Parasitology*, Publisher: International Veterinary Information Service, consultado a 28 Jul 2010, disponível em: [www. ivis.org](http://www.ivis.org), documento N° A0309.0500.
221. MORRIS, D. (2006). Guia Essencial do Comportamento do Cavalo. (2ª Ed.) Mem Martins: Europa América, 150pp
222. MUÑOZ, F., GARCÍA-PÉREZ, A.L., POVEDANO, I. e JUSTE, R.A. (1994). Estrongilosis en el ganado equino II. Eficacia de la ivermectina (oral e subcutánea) en el control de poblaciones de ciatostomas resistentes. *Med Vet*, Barcelona, 11-1, separata de medicina veterinária
223. NAPOLI, M. (2008). The plants, rituals and spells that 'cured' helminthiasis in Sicily. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 4:21, 17pp
224. NICKLIN, C.F., KIVIPELTO, J.M. e OTT, E.A. (1997). Comparison of cost and efficacy between two parasite control programs used in young horses. *Equine Practice*, 19-7, 14-19
225. NIELSEN, M.K.; HAANING, N. e OLSEN, S.N. (2006). Strongyle egg shedding consistency in horses on farms using selective therapy in Denmark. *Veterinary Parasitology* 135, 333-335
226. NOON, J. (2005). Controlling sheep parasites with garlic juice. Acedido em 16 Jun 2010, em:

<http://www.mofga.org/Publications/MaineOrganicFarmerGardener/Winter20042005/GarlicJuice/tabid/1280/Default.aspx>

227. OELKE, H. (2010). Vale do Zebro Sorraia Stalions. Imagem acedida em 15 de Junho de 2010, disponível em: <http://www.spanish-mustang.org/>
228. OGBOURNE, C.P. (1971). Variations in the fecundity of strongylid worms of the horse. *Parasitology*, 63, 289-298
229. OGBOURNE, C.P. (1971a). On the morphology, growth and identification of the pre-infective larvae of some horse strongilids. *Parasitology*, 63, 455-472
230. OGBOURNE, C.P. (1972). Observations on the free-living stages of strongilid nematodes of the horse. *Parasitology*, 64, 461-467
231. OGBOURNE, C.P. (1973). Survival on herbage plots of infective larvae of strongilid nematodes of the horse. *Journal of Helminthology*, XLVII-1, 9-16
232. OMAFRA (2005). Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs: Economic impact of the Ontario horse industry. Acedido em 20Jul 2010, disponível em: <http://www.omafra.gov.on.ca/english/livestock/horses/facts/ecimpact.htm>
233. O'MEARA, B. e Mulcahy, G. (2002). A survey of helminth control practices in equine establishments in Ireland. *Veterinary Parasitology*, 109, 101-110
234. ORSINI, J.A. e DIVER, T.J. (2003). Manual of equine emergencies: treatment and procedures. (2nd Ed.) EUA: Saunders, Elsevier Science
235. OSTERMAN LIND, E.; EYSKER, M.; NILSSON, O.; UGGLA, A. e HÖGLUND, J. (2003). Expulsion of small strongyle nematodes (cyathostomin spp) following deworming of horses on a stud farm in Sweden. *Veterinary Parasitology* 115, 289-299
236. PADDOCKS FARM PARTNERSHIP LTD (2010). Verm X Natural control of internal parasites: equine. Acedido em 26 de Maio de 2010, em: <http://verm-x.com/horses.html>
237. PAIS CAEIRO, V.M. (1999). Eficácia de campo da moxidectina 2% gel oral para equídeos frente a infestações naturais produzidas por nemátodos gastrointestinais em comparação com a ivermectina. *O MED VET*, 60:3, 3-10
238. PAULRUD, C.O., PEDERSEN, R.E. e EYDAL, M. (1997). Field efficacy of ivermectin (Ivomec®) injection on faecal strongyle egg output of Icelandic horses. *Icel. Agr. Sci.*, 11, 131-139
239. PANDEY, V.S., OUHELLI, H. e ELKHALFANE, A.(1981). Epidemiological observations on stomach worms of horses in Morocco. Cambridge: *Journal of Helminthology*, 55, 155-160
240. PAOLINI, V. DE LA FARGE, F., PREVOT, F., DORCHIES, P. e HOSTE, H. (2005). Effects of the repeated distribution of sainfoin hay on the resistance and the resilience of goats naturally infected with gastrointestinal nematodes. *Veterinary Parasitology*, 127, 277-283

241. PARRY, M., FISHER, M.A., GRIMSHAW, W.T.R. e JACOBS, D.E. (1993). Anthelmintic dosing intervals for horses: comparison of three chemical groups. *Veterinary Record*, 133, 346-347
242. PASCOE, R.J., WILSON, T.J. e COLES, G.C. (1999). Nematode control in eventer horses. *The Veterinary Record*, 145-7, 200-201
243. PAUL, J.W. (1998). Equine Larval Cythostomosis. *The Compendium: Equine*, 20-4, 509-515
244. PEEL MC, FINLAYSON BL & MCMAHON TA (2007). Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. *Hydrol. Earth Syst. Sci.*, 11, 1633-1644. Acedido em Mai 14, disponível em: <http://people.eng.unimelb.edu.au/mpeel/koppen.html>
245. PEREGRINE, A.S., MCEWAN, B., BIENZLE, D., KOCH, T.G. e WEESE, J.S. (2006). Larval cyathostomiasis in horses in Ontario: An emerging disease?. *Can Vet J.*, 47-1, 80-82
246. PÉREZ, R., CABEZAS, I., GARCIA, M., RUBILAR, L., SUTRA, J.F., GALTIER, P. e ALVINERIE, M. (1999). Comparison of the pharmacokinetics of moxidectin(Equest) and ivermectin (Eqvalan) in horses. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, 22, 174-180
247. PÉREZ, R., CABEZAS, I., SUTRA, J.F., GALTIER, P. e ALVINERIE, M. (2001). Faecal excretion profile of moxidectin and ivermectin after oral administration in horses. *The Veterinary Journal*, 161, 85-92
248. PICHÉ, C.A., KENNEDY, M.J., BAUCK, S.W. e GOONEWARDENE, L. (1990). Comparison of three anthelmintics in the controlo f iintestinal nematodes in young horses on fall and winter pasture. *Can Vet J*, 31, 841-843
249. PIEREZAN, F., RISSI, D.R. FILHO, J.C.O. LUCENA, R.B., TOCHETTO, C., FLORES, M.M., ROSA, F.B. e BARROS, C.S.L. (2009). Enterite granulomatosa associada a larvas deciatostomíneos em equinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.*, 29-5, 382-386
250. POLLEY, L. (1986). Strongylid parasites of horses: Experimental ecology of the free-living stages on the Canadian prairie. *Am J Vet Res*, 47-8, 1686-93
251. POOK, J.F, POWER, M.L., SANGSTER, N.C., HODGSON, J.L. e HODGSON, D.R. (2002). Evauation of tests for anthelmintic resistance in cyathostomes. *Veterinary Parasitology*, 106, 331-343
252. POYNTER, D. (1954). Seasonal Fluctuation in the Numbers of Strongyle Eggs Passed by Horses. *The Veterinary Record*, 66-5, 74-78
253. PROUDMAN, C.J., FRENCH, N.P. e TREES, A.J. (1998) Tapeworm infection is a significant risk factor for spasmodic colic and ileal impaction in the horse (Abstract). *Equine Vet J.*, 30-3, 194-9
254. PROUDMAN, C. e MATTHEWS, J. (2000). Controlo f intestinal parasites in horses. *In Practice*, 22-2, 90-97

255. REID, S.W.J., MAIR, T.S., HILLYER, M.H. e LOVE, S. (1995). Epidemiological risk factors associated with a diagnosis of clinical cyathostomiasis in the horse. *Equine Veterinary Journal*, 27-2, 127-130
256. REINEMEYER, C.R. e ROHRBACH, B.W. (1990). A survey of equine parasite control practices in Tennessee. *Journal of the American Veterinary Association*, 196-5, 712-716
257. REINEMEYER, C.R. (1998). Practical and Theoretical Consequences of Larvicidal therapy. *Equine Practice*, 20-4, 10-13
258. REINEMEYER, C.R., FARLEY, A.W. e CLYMER, B.C. (2003). Comparisons of cyathostome Control and Selection for Benzimidazole Resistance Using Larvicidal Regimens of Moxidectin Gel or Fenbendazole Paste. *The Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 1-1, 66-72
259. REYNOLDSON, J.A., BEHNKE, J.M., PALLANT, L.J., MACNISH, M.J., GILBERT, F., GILES, S., SPARGO, R.J. e ANDREW THOMPSON, R.C. (1997). Failure of pyrantel in treatment of human hookworm infections (*Ancylostoma duodenale*) in the Kimberley region of North West Australia. *Acta Tropica*, 68, 301-312
260. REZENDE, M.J.M., MCMANUS, C., MARTINS, R.D., GUIMARÃES DE OLIVEIRA, L.P., GARCIA, J.A.S. e LOUVANDINI, H. (2006). Comportamento de cavalos estabulados do exército brasileiro em Brasília. *Ciência Animal Brasileira*, 7-3, 327-337
261. REZENDE, M.J.M., MCMANUS, C., PALUDO, G.R., MARTINS, R.D., GUIMARÃES DE OLIVEIRA, L.P., FUCK, B.H. e LOUVANDINI, H. (2006a). Comportamento de cavalos das raças Bretã e Percheron estabulados. *Ciência Animal Brasileira*, 7-1, 17-25
262. RODRIGUES, J.S.C. (2002). Contributo para o estudo etnobotânico das plantas medicinais e aromáticas da área protegida da Serra do Açor – Estágio elaborado no âmbito do projecto “Plantas Aromáticas e Medicinais da Rede Nacional de Áreas Protegidas”, através do Plano Nacional de Estágios do ICN. 155pp
263. ROLFE, P.F., DAWSON, K.L. e HOLM-MARTIN, M. (1998). Efficacy of moxidectin and other anthelmintics against small strongiles in horses. *Aust. Vet. J.*, 76-5, 332-334
264. ROTHENBERG, M.E. (1998). Eosinophilia. *The New England Journal of Medicine*, 338-22, 1592-1600
265. ROUND, M.C. (1969). The prepatent period of some horse nematodes determined by experimental infection. *Journal of Helminthology*, XLIII-1/2, 185-192
266. RUBINO, G., CITO, A.M., LACINIO, R., BRAMANTE, G., CAROLI, A., PIERAGOSTINI, E. e PETAZZI, F. (2006). Hematology and some blood chemical parameters as a function of tick-bourne disease (TBD) signs in horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 26-10, 475-480
267. SANTOS, C.P., PADILHA, T. e AZEVEDO RODRIGUES, M.L. (2001). Predatory activity of *Arthrobotrys oligospora* e *Duddingtonia flagrans* on pre-parasitic larval stages of Cyathostominae under different constant temperatures. *Ciência Rural*, 31-5, 839-842

268. SAVILLE, W.J.A., STICH, R.W., REED, S.M., NJOKU, C.J., OGLESBEE, M.J., WUNSCHMANN, A., GROVER, D.L., LAREW-NAUGLE, A.L., STANEK, J.F., GRANSTROM, D.E. e DUBEY, J.P. (2001). Utilization of stress in the development of an equine model for equine protozoal myeloencephalitis [Abstract]. *Veterinary Parasitology*, 95:2-4
269. SEN-HAI, Y., ZE-XIAU, J., e LONG-QI, X. (1995). Infantile hookworm disease in China. A review [Abstract]. *Acta tropica*, 59-4, 265-270
270. SIEVERS, G., QUINTANA, I., ANTICEVIC, S., PATIÑO, M. e GALLARDO, C. (1995). Desarrollo, translación y sobrevivencia de larvas de estrogilidos del equino en el ambiente natural en Valdivia, Chile. *Arch. Med. Vet.*, XXVII-1, 35-43
271. SLOCOMBE, J.O.D. e MCCRAW, B.M. (1973). Gastronintestinal nematodes in horses in Ontario. *Can. Vet. Jour.*, 14-5, 101-105
272. SLOCOMBE, J.O.D., VALENZUELA, J. e LAKE, M.C. (1987). Epidemiology of Strongyles in Ponies in Ontario. *Can J Vet Res*, 51, 470-4
273. SMETS, K., SHAW, D.J., DEPREZ, P. e VERCRUYSSSE, J. (1999). Diagnosis Of Larval Cyatostominosis In Horses In Belgium. *The Veterinary Record*, 144, 665-668
274. SMITH, H.J. (1979). Probstmayria vivipara Pinworms in Ponies. *Can J comp Med*, 43, 341-342
275. SOULSBY, E.J.L. (1986) - Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. 4th Ed., Baillière Tindall, London, G.B., 809 pp.
276. SOUTO MAIOR, M.P., CARVALHO JÚNIOR, G.M. e BARBOSA, C.L. (2000). Helmintofauna do cólon dorsal de equídeos provenientes do estado de Pernambuco, Brasil. *Parasitol. día*, 24:1-2,
277. SPINOSA, H.S., GÓRNIK, S.L., BERNARDI, M.M. (1999). Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária. (2ª Edição) Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 646pp
278. STEINBACH, T., BAUER, C., SASSE, H., BAUMGARTNER, W., REY-MORENO, C., HERMOSILLA, C., DAMRIYASA, I.M. E ZAHNER, H. (2006). Small strongyle infection: Consequences of larvicidal treatment of horses with fenbendazole and moxidectin. *Veterinary Parasitology* 139, 115-131
279. SUTER, R. (2004). Risk factor epidemiological studies of ivermectin resistant Ostertagia circumcincta on Western Australian sheep farms. Master of veterinary studies in epidemiology. New Zealand: Massey University, 189pp
280. SUTHERLAND, I.A, MOEN, I.C. e LEATHWICK, D.M. (2002). Increased burdens of drug-resistant nematodes due to anthelmintic treatment. *Parasitology*, 125-4, 375-381
281. SWINDALE, I. (2010). Fotografia do friso de Partenon acedida em 15 de Junho de 2010 em: <http://www.greece.org/parthenon>

282. TARIGO-MARTINIE, J.L., WYATT, A.R. e KAPLAN, R.M. (2001). Prevalence and clinical implications of anthelmintic resistance in cyathostomes in horses. *JAVMA*, 218-12, 1957-1960
283. TEIXEIRA, A.L.S. (2010). Crioulo: o Cavalo das Américas. Acedido a 20 Jul 2010, em: <http://www.horseonline.com.br/CAVALO%20CRIOULO%20O%20FAVORITO%20%20OS%20CRIADORES%20GA%DACHOS.htm>
284. THIENPONT, D.; ROCHETTE, F.; VANPARIJS, O.F.J. (1986) - Diagnóstico de las helminthiasis por médio dei examen coprológico. 2a Edición, Janssen Research Foundation, Beerse, Belgium, 205 pp.
285. TINKER, M.K., WHITE, N.A., LESSARD, P., THATCHER, C.D., PELZER, K.D., DAVIS, B. e KARMEL, D.K. (1997). Prospective study of equine colic incidence and mortality [Abstract]. *Equine Veterinary Journal*, 29, 454-458
286. TOLLIVER, S. C. (2000). A Practical Method of Identification of the North American Cyathostomes (Small Strongyles) in Equids in Kentucky. Gluck Equine Research Center: Department of Veterinary Science of the University of Kentucky. Publicado em <http://www.ca.uky.edu/>. 37p
287. TRAVERSA, D., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., DEMELER, J., MILILLO, P., SCHURMANN, S., BARNES, H., OTRANTO, D., PERRUCCI, S., FRANGIPANE DI REGALBONO, A., BERALDO, P., BOECKH, A. e COBB, R. (2009). Anthelmintic resistance in cyathostomin populations from horse yards in Italy, United Kingdom and Germany. *Parasites & Vectors*, 2:S2, 7pp disponível em: <http://www.parasitesandvectors.com/content/2/S2/S2>
288. TRAVERSA, D. (2010). Anthelmintic resistance in horse cyathostomins in Europe: current status and future perspectives. *Sci Parasitol*, 11-1, 1-6
289. UENO H. e GUTIERRES, V.C. (1983). Manual para Diagnóstico das Helmintoses de Ruminantes. 2ª Edição, Japan International Cooperation Agency, Tóquio, Japão, 176 pp.
290. UHLINGER, C. (1990). Effects of three anthelmintic schedules on the incidence of colic in horses [Abstract]. *Equine vet J.*, 22-4, 251-254
291. URBANA, J., KOKOSKAB, L., LANGROVAC, I. e MATEJKOVAD, J. (2010). In Vitro Anthelmintic Effects of Medicinal Plants Used in Czech Republic (Abstract). *Journal Pharmaceutical Biology*, 46: 10-11, 808-813
292. URQUHART, G.M., ARMOUR, J., DUNCAN, J.L., DUNN, A.M. e JENNINGS, F.W. (1998). Parasitologia Veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 273pp
293. VÁRADY, M., PRASLICKA, J. e CORBA, J. (1995). Changes of ED50 in in vitro egg hatch assays for detection of benzimidazole and levamisole resistance of *Haemonchus contortus* and *Ostertagia circumcincta* in lambs. *Helminthologia*, 32-4, 219-223
294. VÁRADY, M. e CORBA, J. (1997). Resistance of equine small strongyles to benzimidazoles in Slovak Republic. *Helminthologia*, 34-2, 81-85

295. VÁRADY, M., KÖNIGOVÁ, A. e CORBA, J. (2000). Benzimidazole resistance in equine cyathostomes in Slovakia. *Veterinary Parasitology*, 94, 67-74
296. VEERAKUMARI, L., LAKSHMI, K. e NAVANEETHA, P.G. (2010). In vitro effect of *Allium sativum* on lactate dehydrogenase activity of *Haemonchus contortus* (Abstract). *Journal of Veterinary Parasitology*, 20-1
297. VERCRUYSSSE, J. EYSKER, M., DEMELEUNAERE, D., SMETS, K. E DORNY, P. (1998). Persistence of the efficacy of moxidectin gel on the establishment of cyathostominae in horses. *Veterinary Record*, 143, 307-309
298. VERCRUYSSSE, J., SCHETTERS, T.P.M., KNOX, D.P., WILLADSEN, P. e CLAEREBOUT, E. (2007). Control of parasitic disease using vaccines: an answer to drug resistance?. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 26 (1), 105-115
299. VILÀ, C., LEONARD, J.A., GÖTHERSTRÖM, A., MARKLUND, S., SANDBERG, K., LIDÉN, K., WAYNE, R.K. e ELLEGREN, H. (2001). Widespread Origins of Domestic Horse Lineages. *Science*, 291, 474-477
300. VINEY, M.E. e LOK, J.B. (2007) *Strongyloides* spp. (May 23, 2007), WormBook, ed. The *C. elegans* Research Community, WormBook, doi/10.1895/wormbook.1.141.1, <http://www.wormbook.org>.
301. WAAVP (2007). 21st International conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology: WAAVP Efficacy Guidelines: far more than just a dry topic!. Acedido em Mai. 6, 2010, disponível em: www.animalhealthalliance.org.au/.../21st%20International%20Conference%20of%20WAAVP.pdf
302. WALLER, P.J., BERNES, G., THAMSBORG, S.M., SUKURA, A., RICHTER, S.H., INGEBRIGTSEN, K. e ANDHÖGLUND, J. (2001) Plants as De-Worming Agents of Livestock in the Nordic Countries: Historical Perspective, PopularBeliefs and Prospects for the Future. *Acta vet. scan.*, 42, 31-44
303. WEBSTER, J.H., BAIRD, J.D., GUNAWAN, M., MARTIN, I.C.A. e KELLY, J.D. (1981). Resistance to benzimidazole anthelmintics in equine strongyles: 2. Evidence of side-resistance, and susceptibility of benzimidazole-resistant strongyles to non-benzimidazole compounds. *Aust. Vet. J.*, 57-4, 172-181
304. WHITE, N.A. (2008). Colic prevalence, risk factors and prevention. Kentucky Equine Research, Inc. Acedido em Jun. 25, 2010 em: www.ker.com/library/Proceedings/08/2_ColicPrevalence_p17.pdf
305. Wikipedia (2010) . Climate. Acedido em Mai. 6, 2010, disponível em: <http://en.wikipedia.org/wiki/Climate>
306. Wikipedia (2010a). Pathology. Acedido em Abr. 30, 2010, disponível em: <http://en.wikipedia.org/wiki/Pathology>

Bibliografia

307. Wikipedia (2010b). Experimental pathology. Acedido em Abr. 30, 2010, disponível em: http://en.wikipedia.org/wiki/Experimental_pathology
308. Wikipedia (2010c). Classificação climática de Koppen-Geiger. Acedido em Mai 13, 2010, disponível em: http://pt.wikipedia.org/wiki/Classifica%C3%A7%C3%A3o_clim%C3%A1tica_de_K%C3%B6ppen-Geiger
309. WILKINS, P. A. (2008). Anemia nel puledro: diagnosi e trattamento. Diagnosing and treating anemia in horses and foals. In: *Proceedings of the European Equine Meeting of the Year 2008 – XIV SIVE-FEEVA Congress, Venice, Italy, 25-27 de Janeiro 2008*, IVIS, pp. 96-98. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/sive/2008/toc.asp>
310. WILLIAMSON, R.M.C., GASSER, R.B., MIDDLETON, D. e BEVERIDGE, I. (1997). The distribution of *Anoplocephala perfoliata* in the intestine of the horse and associated pathological changes [Abstract]. *Veterinary Parasitology* 73, 3-4, 225-241
311. WITHERLE, N., SCHNIEDER, T., VON SAMSON-HIMMELDTJERNA, G. (2004). Prevalence of benzimidazole resistance on horse farms in Germany. *The Veterinary Record*, 154-2, 39-41
312. WORLD HEALTH ORGANIZATION (1998). Health Promotion Glossary. Genebra: WHO, 96pp. Acedido a 17 de Junho de 2010 em: <http://www.google.pt/search?q=oms+human+health+definition&ie=utf-8&oe=utf-8&aq=t&rls=org.mozilla:en-US:official&client=firefox-a>
313. XENOPHON (Traduzido por MORGAN, M.H.) (2007). *The Art of Horsemanship*. (9th Edition). Midas Printing International: J.A. ALLEN, 184pp
314. XIAO, L., HERD, R.P. e MAJEWSKY, G.A. (1994). Comparative efficacy of moxidectin and ivermectin against hypobiotic and encysted cyathostomes and other equine parasites. *Veterinary Parasitology*, 53(1-2), 83-90