

U. PORTO



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO

Relatório Final de Estágio
Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

**GESTÃO DE TREMATODOSES EM RUMINANTES NA REGIÃO
LIMOUSIN - FRANÇA**

Tiago Sebastião Sousa Mota

Orientador

Prof. Doutor Paulo Pegado Cortez

Co-Orientador

Dr. Christian Dauphin

Porto 2014

U. PORTO



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO

Relatório Final de Estágio
Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

**GESTÃO DE TREMATODOSES EM RUMINANTES NA REGIÃO
LIMOUSIN - FRANÇA**

Tiago Sebastião Sousa Mota

Orientador
Prof. Doutor Paulo Pegado Cortez

Co-Orientador
Dr. Christian Dauphin

Porto 2014

Resumo

Este relatório foi realizado no âmbito do estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária do Instituto de Ciência Biomédicas Abel Salazar (ICBAS), na área de medicina e cirurgia de animais de produção.

O estágio decorreu entre janeiro e abril de 2014 na clínica veterinária des Rochettes em Bellac, no departamento de Haute-Vienne, região Limousin em França.

Esta clínica trabalhava com 196 produtores de ovinos e 150 produtores de bovinos, perfazendo um efetivo total aproximado de 68150 ovinos e 13000 bovinos adultos. Estes animais eram essencialmente criados em sistema extensivo, passando a maior parte do tempo em pastagem e sendo estabulados durante o inverno.

Quer por iniciativa dos produtores quer por sugestão dos médicos veterinários, eram frequentemente realizadas análises coprológicas na clínica e com regularidade eram identificados ovos dos seguintes tremátodes nas mesmas: *Fasciola hepatica*, *Calicophoron daubneyi* e *Dicrocoelium dendriticum*. Este facto alertou-me para o risco a que os animais da região estavam sujeitos relativamente a estas infestações parasitárias e conduziu-me ao tema que decidi explorar.

Após uma revisão bibliográfica sobre cada um dos três parasitas supracitados, elaborei um trabalho prático em que estudei a prevalência de cada um deles entre julho de 2013 e abril de 2014, distribuição sazonal, relação com o clima da região e condições meteorológicas durante o período de estudo e associação entre estas infestações parasitárias. Para além disso, e através de um questionário, tentei perceber a sensibilidade dos produtores relativamente às estratégias de controlo, tratamento e prevenção de trematodoses nas suas explorações e até que ponto estavam satisfeitos com a atuação veterinária relativamente a esta problemática.

Casuística

A clínica veterinária des Rochettes era uma clínica mista que trabalhava com animais de companhia e espécies pecuárias, sendo que dentro destas, os animais de menor porte (ovelhas, cordeiros e vitelos) eram geralmente transportados pelos produtores à clínica onde eram examinados e tratados, enquanto os de maior porte (bovinos jovens ou adultos) eram avaliados em regime ambulatorio. A casuística do estágio é apresentada na tabela I.

Área de intervenção	Quadro clínico/procedimento	Número de casos			
		Bovinos adultos	Vitelos	Ovinos adultos	Cordeiros
Medicina	Abcesso	4	1	0	2
	Anorexia	3	4	1	3
	Artrite/poliartrite	1	3	0	3
	Ataque por cães	0	0	2	0
	Ataxia	0	0	0	1
	Atresia coli	0	0	0	1
	Cistite	1	0	0	0
	Claudicação	5	1	4	2
	Colocação de arganel	2	0	0	0
	Consulta de seguimento	5	9	5	3
	Animal em decúbito	6	0	0	0
	Descorna	10	0	1	0
	Desidratação	0	4	0	2
	Enterite	3	43	0	7
	Estado de choque	0	4	0	0
	Eutanásia	3	2	4	2
	Flebite	1	0	0	0
	Fratura	2	5	0	2
	Hematoma	3	1	0	1
	Hérnia umbilical	0	1	0	4
	Hipocalcémia	2	0	0	0
	Hipomagnesiémia	0	3	1	0
	Hipotermia	0	3	0	3
	Laceração	2	0	1	1
	Mamite	6	0	1	0
	Meningoencefalite	1	2	1	1
	Mielite ascendente	0	0	0	4
	Obstrução intestinal	1	0	0	1
	Onfaloflebite	0	10	0	2
	Peritonite	1	0	0	0
Pneumonia	2	16	2	7	

Tabela I: Casuística por área de intervenção, quadro clínico e/ou procedimento e número de casos por tipo de animal.

Área de intervenção	Quadro clínico/procedimento	Número de casos			
		Bovinos adultos	Vitelos	Ovinos adultos	Cordeiros
Medicina	Prolapso retal	0	3	1	0
	Prolapso uterino	16	0	3	0
	Prolapso vaginal	3	0	10	0
	Queratoconjuntivite	2	0	10	1
	Sarna psorótica	0	0	3	0
	Septicémia	0	2	0	3
	Tétano	0	0	0	1
	Timpanismo	2	2	0	1
	Torção uterina	2	0	2	0
	Toxémia de gestação	0	0	5	0
	Traqueíte	1	2	0	0
	Urolitíase	0	0	0	1
Cirurgia	Amputação de membro	0	1	0	0
	Castração	0	6	0	0
	Cesariana	3	0	4	0
	Excisão de onfaloflebite	0	2	0	0
	Herniorrafia umbilical	0	1	0	2
	Uretrostomia	0	0	0	1
Consultoria	Avaliação da alimentação	2		0	
	Avaliação da estabulação	1		1	
	Mortalidade de recém-nascidos	0		5	
	Nº elevado de abortos	0		4	
	Nº elevado de enterites	1		1	
	Nº elevado de prolapsos vaginais	0		1	
	Nº elevado de prolapsos uterinos	3		0	
	Problemas de fertilidade	1		0	
Problemas respiratórios	1		0		
Reprodução	Anestro	1	0	0	0
	Distócia resolvida por manobras	10	0	45	0
	Diagnóstico de gestação	88	0	0	0
	Metrite	4	0	0	0
	Retenção placentária	3	0	0	0
Sanidade	Recolha de sangue	62	10	22	3
Técnicas de diagnóstico	Análise coprológica	143	16	205	25
	Necrópsia	1	9	5	33
	Teste ELISA para enterites	0	28	0	9

Tabela I: Casuística por área de intervenção, quadro clínico e/ou procedimento e número de casos por tipo de animal.

Agradecimentos

Em primeiro lugar, gostava de agradecer ao meu orientador, Professor Doutor Paulo Pegado Cortez, por ter aceitado orientar-me e por tê-lo feito de forma exemplar. Um grande obrigado por toda a disponibilidade, apoio e cooperação.

Ao meu co-orientador, Doutor Christian Dauphin, pela forma como me recebeu e integrou na equipa de trabalho, pela sua boa disposição constante e pelo conhecimento transmitido ao longo dos 4 meses de estágio.

A toda a equipa da clínica veterinária des Rochettes pelo ótimo ambiente de trabalho que sempre proporcionaram. Um agradecimento especial ao Doutor Pierre Autef por todos os ensinamentos passados, pela disponibilidade e contributo para a concretização deste trabalho. Aos Doutores Frédéric Sanspoux e Marion Le Blond, pelo acolhimento, simpatia e prestabilidade. À Caroline por todos os momentos partilhados durante o estágio, pela alegria que irradiava e por estar sempre pronta a ajudar no que fosse preciso.

Aos meus pais, pela presença e apoio incessáveis, pelos valores transmitidos, por acreditarem em mim e por me ajudarem a tentar alcançar as metas que estabeleço.

À minha família, em particular aos meus padrinhos, por se preocuparem comigo, por me encorajarem e por estarem do meu lado sempre que preciso.

Ao Fernando, pela sua paciência e dedicação inesgotáveis, e por me apoiar incondicionalmente.

À Alexandra, Ana Manuela, Dani, Daniela, Jo, Joana, Inês, Sara Dinis e Sarah por terem tornado a minha passagem pelo ICBAS tão especial.

À Mari e Sara pela amizade de longa data, e por saber que poderei sempre contar convosco.

E, finalmente, à Mariana Maciel pela companhia e colaboração durante os 4 meses passados em Bellac.

Lista de Abreviaturas

C. daubney - *Calicophoron daubneyi*

CE – Comissão Europeia

d – densidade relativa

D. dentriticum – *Dicrocoelium dendriticum*

DOP – Denominação de origem protegida

ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ensaio imunoenzimático)

F. hepatica – *Fasciola hepatica*

g - grama

G. truncatula – *Galba truncatula*

HD – Hospedeiro definitivo

HI – Hospedeiro intermediário

ICBAS – Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar

Kg – quilograma

Km² – quilómetro quadrado

m – metro

mg - miligrama

ml – mililitro

mm - milímetro

OR – odds ratio (razão de possibilidades)

OPG – Ovos por grama de fezes

p.e. – Por exemplo

po – Via de administração oral

sc – Via de administração subcutânea

spp. - Espécies

°C – grau Celsius

% - Percentagem

Índice Geral

RESUMO	I
CASUÍSTICA	II
AGRADECIMENTOS.....	IV
LISTA DE ABREVIATURAS	V
ÍNDICE GERAL	VI
ÍNDICE DE GRÁFICOS E TABELAS.....	VIII
PARTE I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	1
1. Classe Trematoda.....	1
1.1. <i>Fasciola hepatica</i>	1
1.1.1. Ciclo de Vida	2
1.1.2. Epidemiologia.....	3
1.1.3. Patogenia e Sinais Clínicos	4
1.2. <i>Calicophoron daubneyi</i>	6
1.2.1. Ciclo de vida	6
1.2.2. Epidemiologia	7
1.2.3. Patogenia e Sinais Clínicos.....	7
1.3. <i>Dicrocoelium dendriticum</i>	8
1.3.1. Ciclo de Vida	8
1.3.2. Epidemiologia.....	9
1.3.3. Patogenia e Sinais Clínicos	10
2. Diagnóstico	10
3. Tratamento.....	11
4. Prevenção e Controlo	13
5. Impacto económico	15
PARTE II – GESTÃO DE TREMATODOSES NA REGIÃO LIMOUSIN.....	16
1. Introdução.....	16
1.1. Caraterização da região <i>Limousin</i>	16
1.2. Clima e condições meteorológicas	17
1.3. Principais tipos de explorações de ruminantes	17

2. Material e métodos.....	18
3. Resultados.....	19
3.1. Análises coprológicas.....	19
3.2. Questionários.....	24
4. Discussão e conclusão	26
BIBLIOGRAFIA.....	29
ANEXOS.....	32
1. Questionário.....	32

Índice de Gráficos e Tabelas

Tabela I: Casuística por área de intervenção, quadro clínico e/ou procedimento e número de casos por tipo de animal.....	ii
Tabela II: Fármacos trematocidas disponíveis na clínica veterinária des Rochettes.....	13
Tabela III: Condições meteorológicas em Bellac entre 2013 e 2014.....	17
Tabela IV: Tabela de ponderação do factor “C”	18
Gráfico I: Infestações parasitárias bovinas detetadas por análise coprológica.....	19
Gráfico II: Infestações parasitárias ovinas detetadas por análise coprológica.....	20
Gráfico III: Evolução mensal das prevalências de trematodoses em bovinos.....	21
Gráfico IV: Evolução mensal das prevalências de trematodoses em ovinos.....	21
Tabela V: Prevalência da <i>Fasciola hepatica</i> por estação.....	22
Tabela VI: Prevalência e intensidade de infestação do <i>Calicophoron daubneyi</i> por estação....	22
Tabela VII: Prevalência e intensidade de infestação do <i>Dicrocoelium dendriticum</i> por estação.....	23
Tabela VIII: Trematocidas faturados entre janeiro e abril de 2014 na clínica veterinária des Rochettes.....	25

Parte I – Revisão Bibliográfica

1. Classe Trematoda

Esta classe pertencente ao filo *Platyhelminthes* divide-se em duas subclasses: a *Aspidobothria* e a *Digenea* (Gunn & Pitt 2012). A primeira apresenta ciclos de vida diretos e é constituída sobretudo por parasitas externos de peixes. A segunda é encontrada em vertebrados e apresenta ciclos de vida indiretos com gerações sexuadas e gerações assexuadas que requerem hospedeiros intermediários (HI), invariavelmente um molusco. No entanto, algumas espécies necessitam de um segundo HI (Taylor *et al.* 2007).

Várias famílias de parasitas de forte relevância veterinária fazem parte da subclasse *Digenea*, nomeadamente a Fasciolidae, Dicrocoeliidae, Paramphistomidae e Schistosomatidae (Taylor *et al.* 2007). Pela sua maior prevalência e consequente impacto económico na região Limousin, resolveu-se destacar neste trabalho parasitas das três primeiras famílias citadas, respetivamente: *Fasciola hepatica* (*F. hepatica*), *Dicrocoelium dendriticum* (*D. dendriticum*) e *Calicophoron daubneyi* (*C. daubneyi*). Estas três espécies serão de seguida abordadas pormenorizadamente.

1.1. *Fasciola hepatica*

A *F. hepatica* constitui, em conjunto com a *Fasciola gigantica*, uma das principais espécies de fasciola no mundo. A primeira está presente em áreas temperadas e frias, como é o caso da França enquanto a segunda é característica de regiões tropicais (Hurquhart *et al.* 1996).

A *F. hepatica* é um parasita de distribuição mundial que afeta bovinos, ovinos, caprinos, camelídeos e uma série de outros animais, nomeadamente o cão, o cavalo ou mesmo o homem (Zajac & Conboy 2012). A doença causada por este parasita é denominada de fasciolose e resulta da passagem pelo fígado de inúmeras formas imaturas, da presença de parasitas adultos nos canais biliares ou de ambas as situações (Taylor 2012). No gado bovino a sua prevalência pode alcançar valores tão altos como 30-90%, sendo frequentemente considerada a infestação helmíntica mais importante nesta espécie pecuária (Gunn & Pitt 2012).

O seu ciclo de vida é indireto e tem como HI um caracol anfíbio. Na Europa a espécie presente é o *Galba truncatula* (*G. truncatula*), até recentemente denominado *Lymnaea truncatula*, mas existem várias outras espécies de molusco vetores de *F. hepatica* noutros pontos do mundo (Taylor *et al.* 2007).

Em humanos, a fasciolose é relativamente rara e está normalmente associada à ingestão de plantas semiaquáticas como *Nasturtium officinale*, vulgarmente designada de agrião (Gunn & Pitt 2012).

1.1.1. Ciclo de Vida

O ciclo de vida inicia-se quando os parasitas adultos põem ovos que se deslocam juntamente com a bÍlis para o duodeno, sendo posteriormente excretados para o ambiente nas fezes do HD. Se os ovos caÍrem na Água continuam o seu desenvolvimento e a temperaturas Ótimas de 22-26°C libertam um miracÍdio ciliado em 9-10 dias. Mesmo abaixo dos 10°C ocorre um pequeno desenvolvimento. O miracÍdio nada ativamente e deverÁ encontrar o HI dentro de 24 horas, caso contrÁrio ele esgota as suas reservas energÉticas e morre. Quando o miracÍdio consegue penetrar com sucesso num HI, perde a sua cobertura ciliada e migra atÉ Às gÓnadas ou glÁndulas digestivas do mesmo, transformando-se lÁ em esporocisto (Bowman, 2008). Dentro do esporocisto, desenvolvem-se as rÉdias de primeira geraçÓo por reproduçÓo assexuada a partir de cÉlulas germinativas. Estas crescem atÉ rebentarem a parede do esporocisto. Uma vez libertadas, as rÉdias sÓo mÓveis e usam o seu sistema digestivo para ingerirem tecidos do HI À sua passagem (Bowman 2008; Gunn & Pitt 2012). As rÉdias de primeira geraçÓo originam as rÉdias de segunda geraçÓo (Bowman 2008). Por fim, cada rÉdia dÁ origem a vÁrias cercÁrias, o terceiro estÁdio larval (Gunn & Pitt 2012). As cercÁrias tEm um corpo discoide e uma cauda longa, parecendo-se com girinos. Por aÇÓo fÍsica e quÍmica libertam-se do HI, normalmente durante a noite. Recorrendo À sua cauda com mÚsculo estriado, nadam ativamente atÉ encontrarem uma planta onde se enquistam e se transformam em metacercÁrias, perdendo a cauda durante o processo. Por vezes, as cercÁrias enquistam-se sobre a Água e posteriormente afundam-se (Bowman 2008; Gunn & Pitt 2012). É necessÁrio um perÍodo mÍnimo de 6-7 semanas para o desenvolvimento completo do miracÍdio atÉ metacercÁria. No entanto, sob condiçÓes desfavorÁveis este intervalo pode estender-se a vÁrios meses. Um caracol infestado com um Único miracÍdio pode originar mais de 600 metacercÁrias (Taylor *et al.* 2007).

As metacercÁrias constituem a forma infestante para os HD (Bowman 2008). Estes infestam-se quando ingerem plantas contaminadas com metacercÁrias ou quando, ao tentar beber, agitam a Água e elevam os quistos que se tinham afundado, acabando por engoli-los (Gunn & Pitt 2012). No duodeno dos HD, a membrana quÍstica das metacercÁrias é digerida, fazendo com que estas se desenquistem e atravessem a parede intestinal deslocando-se pela cavidade abdominal atÉ ao fÍgado. Uma vez no fÍgado, penetram a sua cÁpsula de Glisson e dÃo inÍcio À migraçÓo pelo parÊnquima hepÁtico. A migraçÓo simultÃnea de um grande nÚmero de metacercÁrias é responsÁvel por um quadro clÍnico denominado fasciolose aguda. Em 5-6

semanas, os jovens parasitas chegam aos ductos biliares onde alcançam a maturidade sexual, e se tornam parasitas adultos que, após copularem, começam a pôr ovos (Bowman 2008, Gunn & Pitt 2012).

O período pré-patente da *F. hepatica* é de 10-12 semanas (Taylor *et al.* 2007). Isto faz com que haja um grande intervalo entre a exposição ao parasita e a sua infestação patente, contrariamente ao que acontece na maioria das formas de parasitismo em ruminantes. Um ciclo de vida completo tem a duração de 3-4 meses sob condições favoráveis (Bowman 2008).

1.1.2. Epidemiologia

A presença de *F. hepatica* está dependente dos fatores que controlam a existência do seu HI, *G. truncatula*, nomeadamente: disponibilidade de um habitat adequado, temperatura e humidade (Rojo-Vázquez *et al.* 2012).

O caracol HI prefere locais lamacentos a locais com água livre, e entre os seus habitats permanentes estão: valas, margens de ribeiros e de pequenas lagoas. Após períodos chuvosos e inundações, podem surgir habitats temporários como poças de água da chuva, sulcos provocados pela passagem viaturas ou dos próprios animais. O ambiente ótimo deverá ser ligeiramente ácido, sendo que o excesso de acidez torna-se danoso para o caracol (Taylor *et al.* 2007).

É necessária uma temperatura média igual ou superior a 10°C para que o caracol se reproduza e para o desenvolvimento da *F. hepatica* no interior do mesmo, sendo que toda a atividade cessa à temperatura de 5°C. Esta é também a temperatura mínima para o desenvolvimento e eclosão dos ovos de *F. hepatica*. No entanto, são necessárias temperaturas iguais ou superiores a 15°C para que ocorra uma multiplicação significativa dos HI e dos estágios larvares (Taylor *et al.* 2007).

As condições de humidade ideais para a reprodução dos caracóis e para o desenvolvimento de *F. hepatica* no seu interior são alcançadas quando a chuva ultrapassa o nível de saturação dos terrenos. Esta é também uma condição essencial para o desenvolvimento dos ovos do parasita, para o miracídio procurar o HI e para a dispersão das cercárias a partir deste (Taylor *et al.* 2007).

A ocorrência da fasciolose apresenta um padrão sazonal com dois períodos principais de infestação dos HI, o do verão, que é o mais importante na Europa, e o de inverno (Fox *et al.* 2011; Taylor *et al.* 2007).

Os miracídios que eclodiram de ovos excretados pelos HD durante a primavera e o início do verão e/ou dos ovos que sobreviveram ao inverno num estágio subdesenvolvido vão infestar o *G. truncatula*. O desenvolvimento no interior do caracol decorre durante o verão e um grande número de cercárias é libertado entre agosto e outubro, resultando numa grande

contaminação das pastagens por metacercárias. O pico da doença nos HD verifica-se no fim do outono, prolongando-se pelo inverno (Fox *et al.* 2011; Taylor *et al.* 2007).

As infestações de inverno acontecem em caracóis que foram infestados no outono anterior e onde o desenvolvimento larval do parasita cessou devido à hibernação do HI. O desenvolvimento é retomado no início primavera quando as condições são favoráveis, e as metacercárias surgem na pastagem entre maio e junho, tornando-se evidente nos HD entre julho e outubro (Fox *et al.* 2011; Taylor *et al.* 2007).

Não é consensual mas vários autores defendem que tanto os ovos de *F. hepatica* como as metacercárias, podem sobreviver aos períodos gelados de inverno e desempenhar um papel importante na epidemiologia do parasita. Por outro lado, as metacercárias são pouco resistentes ao tempo quente e seco. Apesar de processos como a ensilagem retirarem capacidade de infestação às metacercárias, estas no feno sobrevivem durante vários meses (Fox *et al.* 2011; Taylor *et al.* 2007).

Os anticorpos circulantes contra *F. hepatica* são facilmente detetáveis em ovinos, mas não há evidência de que estes adquiram imunidade a possíveis reinfestações. Contrariamente, em bovinos a fasciolose ocorre sobretudo nos animais jovens que gradualmente vão adquirindo imunidade contra a mesma. Tal capacidade encurta a duração da infestação primária, abrandando a migração de metacercárias e diminuindo o número de parasitas adultos que se conseguem instalar nos ductos biliares. Como resultado, e frequentemente em áreas endémicas, a fasciolose em bovinos adultos tem uma manifestação clínica impercetível, apesar de ser evidente em ovinos adultos (Taylor *et al.* 2007).

1.1.3. Patogenia e Sinais Clínicos

Os sinais clínicos e lesões causadas pela *F. hepatica* estão relacionados com a dose infestante (número de metacercárias ingeridas), duração e fase da infestação, presença ou ausência de *Clostridium novyi*, espécie do HD e o estatuto nutricional, necessidades metabólicas (p.e. gestação avançada) e resposta imunitária deste último (Bowman 2008; Rojo-Vázquez *et al.* 2012).

A fasciolose pode ser aguda, subaguda ou crónica e a sua patogenia é caracterizada por duas fases principais: a primeira resulta da migração pelo parênquima hepático das metacercárias e a segunda deve-se à presença dos parasitas adultos nos ductos biliares (Taylor *et al.* 2007).

A fasciolose aguda e subaguda são as formas menos comuns, tanto em bovinos como em ovinos e normalmente ocorrem no outono e início de inverno, mais concretamente entre novembro, por vezes mesmo a partir de setembro, e janeiro. Muitas vezes, os animais aparecem mortos, sem ter apresentado previamente qualquer sinal clínico, podendo mesmo

exibir uma boa condição corporal (Rojo-Vázquez *et al.* 2012). Em bovinos, são essencialmente os animais jovens os mais afetados (Taylor *et al.* 2007).

A fasciolose aguda ocorre 2-3 semanas após a ingestão de um grande número de metacercárias, geralmente mais de 2000 no caso dos ovinos, num curto período de tempo. Ao passarem em simultâneo pelo fígado, estas causam destruição do parênquima hepático, rutura de vasos e consequentemente hemorragias severas. A forte reação inflamatória originada, causa dor abdominal e os animais tornam-se relutantes ao movimento. Para além disso, os animais podem apresentar: anorexia, icterícia, mucosas pálidas, letargia, dispneia sobretudo durante locomoção e perda de peso. A morte súbita ocorre nas infestações massivas como resultado de uma hepatite aguda, ou quando há complicações como a infeção concomitante por *Clostridium novyi* responsável por focos de necrose hepática e extensas hemorragias subcutâneas, quadro denominado de “Black disease” (Bowman 2008; Rojo-Vázquez *et al.* 2012; Taylor *et al.* 2007). No exame *post-mortem* é possível encontrar exsudado sanguinolento na cavidade abdominal, fígado friável, com hepatomegália, marcas de fibrina e um grande número de metacercárias nas superfícies de corte (Bowman 2008).

Excepcionalmente, as metacercárias podem atravessar o peritoneu visceral, alcançar vasos sanguíneos e através destes fazerem migrações erráticas para diferentes órgãos como pulmões, gânglios linfáticos e útero. Tal é mais frequente em bovinos, nos quais as metacercárias são frequentemente encontradas encapsuladas nos pulmões. Foram já relatados casos de reinfestações de vacas adultas por *F. hepatica* com migração de metacercárias para o feto resultando numa infestação pré-natal (Rojo-Vázquez *et al.* 2012; Taylor *et al.* 2007).

A fasciolose subaguda ocorre 6-10 semanas após a ingestão de um menor número de metacercárias, 500-1500 no caso dos ovinos, durante um período de tempo mais alargado. A patogenia é idêntica à da fasciolose aguda, mas neste caso, existem já alguns parasitas adultos nos ductos biliares que são responsáveis por colangites. Os animais não morrem tão abruptamente, exibindo sinais clínicos durante 1-2 semanas antes de morrerem (Rojo-Vázquez *et al.* 2012; Taylor *et al.* 2007).

A fasciolose crónica é a forma mais comum da doença e surge no fim do inverno e início da primavera. Esta aparece 4-5 meses após a ingestão de um baixo/moderado número de metacercárias, 200-500 no caso dos ovinos, durante quase todo o ano, mas especialmente durante o outono e inverno. A infestação é mais grave nos animais subnutridos e nos que têm demandas energéticas aumentadas (p.e. gestação avançada ou lactação) (Rojo-Vázquez *et al.* 2012).

Os sinais clínicos típicos são: perda de apetite, diminuição gradual da condição corporal, fraqueza progressiva, anemia, hipoalbuminémia, mucosas pálidas, emaciação, edema

submandibular, ascite e velo de má qualidade nos ovinos. A anemia é hipocrômica, macrocítica e acompanhada de eosinofilia, resultando da perda de até 0,5 ml de sangue por parasita para os ductos biliares. Na necrópsia vêem-se os ductos biliares espessados e distendidos com tremátodes adultos no seu interior. A hiperplasia observada está relacionada com a secreção em grandes quantidades pelos parasitas do aminoácido prolina (Bowman 2008; Rojo-Vázquez *et al.* 2012; Taylor *et al.* 2007).

Nos bovinos, a vesícula biliar pode estar também aumentada e os ductos fibrosados posteriormente calcificam. É importante referir que a diarreia não é característica da fasciolose bovina, a menos que se verifique uma infestação concomitante por outras espécies parasitárias, p.e. *Ostertagia spp.* (Taylor *et al.* 2007).

Apesar das diferentes formas referidas, a fasciolose é, muitas vezes, subclínica e difícil de perceber ou diagnosticar. No entanto, o seu efeito na produção pode ser considerável devido à diminuição do apetite e ao seu efeito no metabolismo das proteínas, hidratos de carbono e minerais após a absorção (Taylor *et al.* 2007).

1.2. *Calicophoron daubneyi*

O *Calicophoron daubneyi*, anteriormente denominado *Paramphistomum daubneyi*, é um tremátode da família *Paramphistomidae*, que afeta ruminantes domésticos e selvagens. É a espécie de paramfistoma mais comum na Europa Continental, onde tem havido um aumento no número de casos registados ao longo dos últimos anos. Em França, a infestação por este parasita tem sido descrita em bovinos, ovinos e caprinos (Paraud *et al.* 2009; Rojo-Vázquez *et al.* 2012; Tilling 2013).

O ciclo de vida deste parasita é indireto e requer o caracol anfíbio da espécie *G. truncatula* como HI, o mesmo que para a *F. hepatica* (Díaz 2007; Tilling 2013).

1.2.1. Ciclo de vida

A fase externa (a que decorre fora HD) do ciclo de vida do *C. daubneyi* é idêntica à da *F. hepatica* (Rojo-Vázquez *et al.* 2012), começando quando os animais infestados excretam os ovos do parasita nas fezes. Sob condições ideais de humidade (lagoas, charcos, áreas inundadas após chuvas fortes) e temperatura (17°C), os ovos desenvolvem-se e após, no mínimo, 4 semanas eclodem os miracídios que posteriormente infestarão os HI, caracóis da espécie *G. truncatula* (Tilling 2013).

No interior do caracol, o desenvolvimento da infestação requer, no mínimo, 5 semanas e os caracóis infestados podem viver e libertar cercárias durante mais de 1 ano. Após serem libertadas, as cercárias enquistam-se nas superfícies ventrais de plantas aquáticas onde

podem permanecer viáveis por mais de 6 meses. O HD infesta-se ao ingerir as metacercárias na pastagem (Tilling 2013).

Após a ingestão, as metacercárias desenquistam-se e as larvas prendem-se à mucosa do duodeno onde se alimentam por mais de 6 semanas. Elas podem também ser encontradas no íleo, jejuno e abomaso antes de se deslocarem para o rúmen. No rúmen, os parasitas fixam-se preferencialmente na superfície dorsal do pilar ruminal anterior e nas superfícies dorsal e ventral do pilar ruminal posterior. Uma vez aí, estes continuam a crescer até atingirem o seu tamanho máximo, por volta dos 5-9 meses após a infestação. O período pré-patente mínimo é de 3-4 meses (Tilling 2013).

1.2.2. Epidemiologia

O *C. daubneyi* e a *F. hepatica* partilham o mesmo HI pelo que a epidemiologia de ambos os parasitas é muito similar (Díaz 2007, Tilling 2013).

Apesar da infestação por *C. daubneyi* ser mais prevalente em áreas tropicais e subtropicais, sobretudo durante o verão e outono, a sua distribuição é mundial (Rojo-Vázquez *et al.* 2012).

Em ovinos a infestação é menos comum que em bovinos (Rojo-Vázquez *et al.* 2012). A doença aguda ocorre normalmente em bovinos com menos de dois anos de idade. Mesmo que as infestações prévias e a idade confirmem alguma proteção ao HD contra reinfestações, os animais mais velhos continuam a albergar cargas parasitárias menores que constituem importantes reservatórios de infestação para o caracol HI (Tilling 2013).

1.2.3. Patogenia e Sinais Clínicos

A maior parte das infestações são inofensivas e os parasitas adultos são bem tolerados, mesmo quando presentes aos milhares nas paredes do rúmen e do retículo. No entanto, em infestações massivas, normalmente no fim do verão ou no início do inverno, após períodos prolongados de alagamento das pastagens, pode verificar-se uma ruminite ulcerativa crónica com atrofia das papilas ruminais. Os animais podem apresentar diarreia, anemia, leucopenia, perda de apetite, perda de peso, má absorção, desidratação e diminuição da produção de leite (Rojo-Vázquez *et al.* 2012; Tilling 2013).

A doença clínica está normalmente associada à presença de formas imaturas do parasita e manifesta-se 2 semanas após a infestação. As larvas prendem-se à mucosa do duodeno e íleo anterior, originando erosões, petéquias, áreas de necrose e produção excessiva de muco. Esta perturbação intestinal vai conduzir à perda de apetite dos animais afetados, anorexia, rápida perda de peso, desidratação, anemia, hipoproteinemia e edemas em várias partes do organismo, muito característico no espaço submandibular em bovinos. A morte dos

animais está geralmente associada à desidratação, e em surtos agudos da doença, a mortalidade pode alcançar os 90% (Rojo-Vázquez *et al.* 2012; Tilling 2013).

No exame *post-mortem* pode observar-se: edema dos tecidos subcutâneos; pregas abomasais; ascite secundária à hipoproteïnemia; vesícula biliar distendida; hipertrofia e edema dos gânglios linfáticos mesentéricos; congestão do intestino delgado; e duodenite catarral, necrótica e hemorrágica com espessamento da parede intestinal. As larvas que penetram profundamente na parede intestinal podem ser visíveis através da serosa. Várias larvas rosadas ou parasitas adultos de cor castanha podem ser encontrados acoplados à mucosa intestinal nos primeiros 3 metros de intestino delgado (Rojo-Vázquez *et al.* 2012).

1.3. *Dicrocoelium dendriticum*

O *D. dendriticum* é a principal espécie de *Dicrocoelium spp.* a nível mundial e é responsável pela infestação parasitária denominada dicrocoeliose (Rojo-Vázquez *et al.* 2012). Este parasita é prevalente em diversas partes da Europa mas está ausente ou ocorre apenas esporadicamente noutras partes do mundo. Tal pode, em parte, dever-se ao seu ciclo de vida complexo que implica a existência de 2 HI, primeiro um caracol terrestre e posteriormente uma formiga (Taylor 2012).

Os parasitas adultos vivem nos ductos e vesícula biliar de ruminantes domésticos e selvagens, sendo mais frequentes em ovinos e caprinos do que em bovinos. Ocasionalmente, podem ser infestados coelhos, porcos, cães, cavalos ou mesmo humanos (Otranto & Traversa 2003).

1.3.1. Ciclo de Vida

O ciclo de vida começa quando os ovos do parasita, com um miracídio desenvolvido no interior, são excretados nas fezes do HD. Existem mais de 90 espécies de caracóis comprovadas como possíveis HI do *D. dendriticum*. Algumas são regionais mas outras como *Cochlicopa lubrica* têm uma distribuição mundial. Quando os ovos são ingeridos por um desses caracóis, eclodem e libertam os miracídios que migram até ao hepatopâncreas do mesmo, onde se convertem em esporocistos de primeira geração e estes por reprodução assexuada originam os esporocistos de segunda geração (Otranto & Traversa 2003; Rojo-Vázquez *et al.* 2012).

De cada esporocisto de segunda geração resultam numerosas cercárias maduras que migram até às câmaras respiratórias do HI, sendo excretadas em grupos de mais de 5000 envolvidas por muco em bolas pegajosas. Estas bolas são depois ingeridas pelo segundo HI, formigas das espécies *Formica fusca*, *Formica pratensis* ou *Formica rufibarbis* e na cavidade

abdominal destas as cercárias transformam-se em metacercárias, 1-2 meses após a infestação (Otranto & Traversa 2003; Rojo-Vázquez *et al.* 2012).

Quando 1 a 3 dessas metacercárias se instalam no gânglio subesofágico da formiga (cérebro da formiga), provocam-lhe uma tetania dos músculos mandibulares se as temperaturas forem inferiores a 15°C-20°C (p.e. ao início da manhã ou ao fim da tarde). Consequentemente, a formiga permanece temporariamente imóvel no topo da vegetação e é facilmente ingerida pelos HD. A temperaturas superiores, este fenómeno não se verifica, o que dificulta a ingestão da formiga por um HD. No intestino dos HD, as metacercárias desenquistam-se e migram através do canal colédoco até aos grandes ductos e vesícula biliar, onde se tornam adultas sem ter passado pelo parênquima hepático. Os parasitas adultos reproduzem-se por hermafroditismo ou fertilização cruzada e põe ovos que são libertados nas fezes do HD após um período pré-patente de aproximadamente 2 meses (Otranto & Traversa 2003; Rojo-Vázquez *et al.* 2012).

1.3.2. Epidemiologia

A epidemiologia do *D. dendriticum* é condicionada pelo ambiente, presença dos HI e presença dos HD (Otranto & Traversa 2003).

Habitualmente o *D. dendriticum* está presente em áreas com solos secos, calcários ou alcalinos que constituem os biótopos favoráveis aos HI. Neste ambiente os ovos do parasita são altamente resistentes, resistindo ao inverno e permanecendo infestantes na pastagem por mais de 20 meses. A epidemiologia deste parasita é, portanto, bastante diferente da *F. hepatica* ou do *C. daubneyi* (Otranto & Traversa 2003; Taylor 2012).

A infestação dos HD decorre entre o fim da primavera e o início do outono mas algumas metacercárias resistem ao inverno no interior das formigas e infestam os HD logo no início da primavera (Rojo-Vázquez *et al.* 2012).

A excreção de ovos pelo HD varia de dia para dia mas é geralmente maior ao fim da tarde. Em condições de campo, a sobrevivência dos ovos é máxima no inverno e mínima no verão, quando uma grande parte destes morre (Rojo-Vázquez *et al.* 2012).

A epidemiologia do *D. dendriticum* é ainda afetada por: espécie do HD (os ovinos são mais suscetíveis que os caprinos); a idade (a prevalência do parasita é maior em bovinos com mais de 6 anos do que em bovinos com menos de 18 meses); e sexo (as fêmeas apresentam uma maior prevalência que os machos ao exame de necrópsia, provavelmente devido a diferentes hábitos de pastagem) (Otranto & Traversa 2002; Otranto & Traversa 2003).

1.3.3. Patogenia e Sinais Clínicos

Frequentemente, as infestações por *D. dendriticum* são assintomáticas e têm um impacto económico pouco significativo, inferior ao da *F. hepatica* ou do *C. daubneyi*. Cargas parasitárias inferiores a 1000 parasitas não originam manifestações clínicas (Rojo-Vázquez *et al.* 2012).

A consequência mais comum e, geralmente subclínica, é um ganho de peso inferior ao normal nos animais afetados nos estágios iniciais da infestação. Mesmo em infestações severas os sinais não são patognomónicos, sendo possível observar icterícia, anemia, edemas, emaciação e redução na produção. Lesões maiores só são notadas no exame *post-mortem* do fígado cirrótico que contém cicatrizes à superfície e ductos biliares rompidos como resultado da irritação mecânica infringida pelos estiletos bucais dos parasitas adultos (Rojo-Vázquez *et al.* 2012; Otranto & Traversa 2003).

2. Diagnóstico

As infestações parasitárias por *F. hepatica*, *C. daubneyi* e *D. dendriticum* são muitas vezes subclínicas, o que dificulta a realização de um diagnóstico correto e atempado. A identificação destas exige, geralmente o combinar de sinais clínicos manifestados pelos animais, história associada aos mesmos, registo de anteriores infestações parasitárias na exploração, resultados laboratoriais e exames *post-mortem* (Rojo-Vázquez *et al.* 2012; Taylor *et al.* 2007).

É importante ter em conta a epidemiologia de cada parasita, nomeadamente a sua ocorrência sazonal, condições climatéricas e presença de habitats ou identificação dos HI nas pastagens frequentadas pelos animais (Rojo-Vázquez *et al.* 2012; Tilling 2013).

No caso da *F. hepatica* e do *C. daubneyi*, o método padrão para deteção direta continua a ser o método clássico de sedimentação. No entanto, devido à postura esporádica de ovos pelos parasitas adultos e ao longo período pré-patente, a contagem fecal de ovos de *F. hepatica* pode ser pouco sensível. Por outro lado, a especificidade pode também ser reduzida devido à libertação de ovos contidos na vesícula biliar durante várias semanas após a eliminação dos parasitas adultos, ou a falsos positivos com ovos de *C. daubneyi*. Morfologicamente, os ovos dos dois parasitas são muito similares mas os de *C. daubneyi* são incolores, enquanto os da *F. hepatica* são amarelo-acastanhados. Estudos recentes sugerem que o método de flutuação com sulfato de zinco (densidade relativa 1,35) tem uma maior sensibilidade e é mais fiável. Contudo esta técnica faz colapsar os ovos, o que poderá dificultar a identificação dos mesmos (Demeler *et al.* 2012; Gordon *et al.* 2013; Rojo-Vázquez *et al.* 2012).

Para o imunodiagnóstico da *F. hepatica*, existem testes ELISA que procuram antígenos do parasita nas fezes ou anticorpos contra este no soro sanguíneo, leite ou saliva dos animais infestados. Estes testes têm alta sensibilidade e especificidade, permitem uma deteção precoce do parasita, ainda no seu período pré-patente e são de grande utilidade sobretudo no diagnóstico em grupos de animais e em estudos epidemiológicos (Demeler *et al.* 2012; Rojo-Vázquez *et al.* 2012).

A análise dos níveis plasmáticos das enzimas glutamato desidrogenase e gama glutamil transpeptidase, indicando respetivamente lesão do parênquima hepático e lesão do epitélio dos ductos biliares podem auxiliar no diagnóstico da fasciolose (Taylor *et al.* 2007).

Relativamente ao *C. daubneyi*, a doença aguda é de difícil diagnóstico, uma vez que é provocada pelas larvas durante o período pré-patente, requerendo uma análise atenta dos dados epidemiológicos. Por vezes, existem ovos nas fezes, quando a par das larvas nos intestinos existem já parasitas adultos no rúmen, e em casos severos podem ser encontrados grandes números de formas imaturas do parasita nas fezes (Tilling 2013).

A técnica coprológica de flutuação com solução de alta densidade (gravidade específica entre 1,30-1,45) é mais eficiente para o diagnóstico do *D. dendriticum* que a sedimentação (Demeler *et al.* 2012; Otranto & Traversa 2003).

Apesar de tudo, em qualquer um dos casos supracitados, a necrópsia continua a ser a única forma de comprovar a presença dos parasitas (Demeler *et al.* 2012; Taylor *et al.* 2007).

3. Tratamento

O triclabendazol é o fármaco mais amplamente utilizado no controlo da fasciolose em ruminantes, sendo altamente efetivo contra os estágios imaturos e adultos da *F. hepatica* (Mooney *et al.* 2009; Olaechea *et al.* 2011). Em França, está disponível em formas comerciais como Fascinex®, Parsifal®, ou Cydectine-Triclamox®. Este fármaco pertencente ao grupo dos benzimidazóis, liga-se à tubulina dos parasitas, e quebra os processos baseados em microtúbulos (Fairweather & Boray 1999). Adicionalmente, tem uma boa tolerância e uma grande margem de segurança (Rojo-Vázquez *et al.* 2012).

Do mesmo grupo farmacológico, o albendazol e o flubendazol, embora menos que o primeiro, são efetivos contra parasitas com mais de 12 semanas e impedem o desenvolvimento dos ovos. O febendazol, oxfendazol e mebendazol (Supaverm®) têm apenas ação ovicida (Rojo-Vázquez *et al.* 2012). Já a netobimina (Hapadex®), que é um pro-benzimidazol, é efetiva contra os parasitas adultos, quando em doses elevadas (Taylor *et al.* 2007).

Há ainda 3 outros grupos de fasciolicidas: os fenóis halogenados (desacopladores da fosforilação oxidativa), como o nitroxinil (Dovenix®); as sulfonamidas, como o closurlon (Ivomec-D®), inibidor das enzimas glicolíticas da *F. hepatica*; e as salicilanilidas (protonóforos

lipofílicos desacopladores da fosforilação oxidativa), como o closantel (Supaverm®, Seponver® e Oestrocur®) ou a oxiclozanida (Zanil®). O closurlon é mais efetivo em bovinos que em ovinos e, se em doses altas, atua contra as formas do parasita a partir das 8 semanas após infestação. O closantel e o nitroxinil são ativos contra os parasitas imaturos a partir das 6-8 semanas. Todos os outros fármacos têm ação apenas contra as formas adultas do parasita (Fairweather & Boray 1999; Rojo-Vázquez *et al.* 2012).

A maior parte dos fasciolicidas é ineficaz contra as infestações por *C. daubneyi*. O fármaco de eleição para o tratamento deste parasita é a oxiclozanida (Zanil®) mas a sua eficácia contra os estágios larvares é variável. Este tratamento está frequentemente associado a efeitos indesejáveis como: prostração, anorexia e diarreia. Há vários países onde este fármaco não está disponível, como é o caso de Portugal, devendo-se aí utilizar o closantel como alternativa já que, apresenta uma eficácia similar à do referido anteriormente (Arias *et al.* 2013; Tilling 2013).

Relativamente ao *D. dendriticum*, uma grande parte dos benzimidazóis e pro-benzimidazóis é efetiva contra o parasita. Atualmente os mais utilizados no seu tratamento são o albendazol e a netobimina (Otranto & Traversa 2003; Rojo-Vázquez *et al.* 2012). A netobimina tem uma ação depressora sobre o aparelho reprodutor masculino, é embriotóxica e teratogénica, pelo que a sua utilização é contraindicada no primeiro terço da gestação (Index des Medicaments Vétérinaires 2014).

Apesar das doses de oxiclozanida (Zanil®) recomendadas para o tratamento de *F. hepatica* serem de 10 mg/kg em bovinos e 15 mg/kg em ovinos, a legislação francesa impõe um volume máximo de administração denominado de “stop-dose” de 103 ml para bovinos com mais de 343 kg, e de 20 ml para os pequenos ruminantes com mais de 45 kg (Paraud *et al.* 2009; Index des Medicaments Vétérinaires 2014).

O triclabendazol e a ivermectina têm efeitos nocivos sobre peixes e invertebrados aquáticos, pelo que os animais tratados com estes princípios ativos devem ser mantidos afastados dos cursos de água durante respetivamente 7 e 14 dias após o tratamento (Index des Medicaments Vétérinaires 2014).

Na tabela II, são esquematizados um conjunto de trematocidas disponíveis em França, incluindo os nomes comerciais, princípios ativos e respetivas doses terapêuticas, espécies alvo, via de administração e intervalos de segurança.

Princípios ativos	Nome comercial	Espécies Alvo	Via	Dose trematocida (mg/kg)		Intervalo de Segurança (dias)			
						Bovinos		Ovinos	
				Bovinos	Ovinos	Carne	Leite	Carne	Leite
Netobimina	Hapadex®	Bovinos e ovinos	po	20	20	6	3	6	5
Triclabendazol	Fascinex®	Bovinos e ovinos	po	12	10	56	a ²	28	a ¹
Triclabendazol e Moxidectina	Cydectine-Triclamox®	Bovinos e ovinos	Pour on	20 e 0,5	10 e 0,2	143	a ⁴	31	a ¹
Triclabendazol e Levamisol	Parsifal®	Bovinos e ovinos	po	12 e 6,35	10 e 6,4	14	a ²	28	a ¹
Oxiclozanida	Zanil®	Bovinos e ovinos	po	10 ^{b1}	15 ^{b2}	14	4,5	14	7
Closantel e Ivermectina	Closamectin®	Bovinos	Pour on	20 e 0,5	-	28	a ³	-	-
Closantel e Ivermectina	Oestrocur®	Ovinos	sc	-	5 e 0,2	-	-	28	a ¹
Closantel e Mebendazol	Supaverm®	Ovinos	po	-	10 e 15	-	-	28	a ¹
Closantel	Seponver®	Bovinos e ovinos	po	10	10	28	a ³	28	a ¹
Clorsulon e Ivermectina	Ivomec-D®	Bovinos	sc	2 e 0,2	-	66	a ⁵	-	-
Nitroxinil	Dovenix®	Bovinos e ovinos	sc	10	10	66	a ²	50	a ¹

Tabela II: Conjunto de fármacos trematocidas disponíveis em França.

a¹: utilização interdita em fêmeas leiteiras cujo leite se destine ao consumo humano, mesmo durante o período seco, ou durante o período de um ano antes do primeiro parto.

a²: utilização interdita em fêmeas leiteiras cujo leite se destine ao consumo humano, mesmo durante o período seco, ou durante o último trimestre a primeira gestação.

a³: utilização interdita em fêmeas leiteiras cujo leite se destine ao consumo humano, mesmo durante o período seco, ou durante a segunda metade da primeira gestação.

a⁴: utilização interdita em fêmeas de qualquer idade que se destinem à produção de leite para consumo humano.

a⁵: utilização interdita em fêmeas leiteiras cujo leite se destine ao consumo humano, mesmo durante o período seco, ou durante o período de dois meses antes do primeiro parto.

b¹: "Stop-dose" de 103 ml.

b²: "Stop-dose" de 20 ml.

4. Prevenção e Controlo

Um plano de prevenção e controlo de *F. hepatica*, *C. daubneyi* e *D. dendriticum* deve sempre incidir em 3 objetivos principais: reduzir a população de HI infestados; eliminar os parasitas dos seus HD ruminantes e impedir o desenvolvimento de parasitas resistentes a anti-helmínticos (Rojo-Vázquez *et al.* 2012).

Relativamente à *F. hepatica* e ao *C. daubneyi*, o primeiro passo é avaliar a existência e extensão de habitats de *G. truncatula* nas pastagens. A longo prazo, a melhor técnica para eliminar extensas áreas de habitats para o caracol é a drenagem dos terrenos mas os custos podem ser proibitivos (Rojo-Vázquez *et al.* 2012).

O sistema de rotatividade de pastagens, com a alternância entre pastagens contendo os HI e pastagens onde estes estão ausentes está comprovada como prática útil no controlo de *F. hepatica* em bovinos. Os animais pastam em terrenos livres dos HI de fevereiro a maio e de agosto a novembro. Nos intervalos, podem pastar em terrenos com HI, mas por um período máximo de 8 semanas (período pré-patente). Antes de entrarem nas pastagens com HI são tratados com um fasciolicida para evitar a introdução da infestação nestas (Knubben-Schweizer *et al.* 2011).

Outra opção consiste na construção de represas, de forma a reter a água num local e, assim diminuir a área de pastagens pantanosas (Rojo-Vázquez *et al.* 2012).

Quando as áreas de habitats são pouco extensas a solução passa por vedá-las, impedir o acesso dos ruminantes durante os períodos de risco ou colocação anual de moluscidas. Destes últimos, o mais utilizado é o sulfato de cobre. Na Europa estes devem ser aplicados durante a primavera (maio) para matar as populações de caracóis antes destes se reproduzirem ou no verão (julho/agosto) para matar os caracóis infestados. A aplicação de moluscidas é discutível devido ao forte potencial biótico dos caracóis, exigência de equipamentos especiais e de mão-de-obra, custo elevado e impacto ambiental (Rojo-Vázquez *et al.* 2012; Taylor *et al.* 2007).

No caso do *D. dendriticum* o controlo é ainda mais difícil, resumindo-se a algumas alterações no manejo dos animais como impedir o pastoreio ao início da manhã e fim da tarde, quando há mais formigas nas pastagens. Como forma de controlo sustentável, e em pequenas áreas, podem ser colocados perus, patos ou galinhas, que comem os caracóis e as formigas ou tapar os ninhos de formigas, de forma a reduzir as infestações dos HD (Otranto & Traversa 2003).

A maior parte dos programas anti-helmínticos contra *F. hepatica* começam no outono, com a reentrada em estabulação dos animais e prosseguem durante os meses de inverno. Quando o fármaco utilizado é eficaz contra os estágios imaturos do parasita (p.e. triclabendazol), o número de tratamentos necessários por ano é menor. Um tratamento fasciolicida no fim do inverno/início da primavera, elimina os parasitas antes de começar a época de pastoreio e evita a contaminação das pastagens e a produção de cercárias pelos HI. Quando o outono e/ou verão do ano anterior foram muito chuvosos, este tratamento deve ser antecipado (Rojo-Vázquez *et al.* 2012).

O tratamento do *C. daubneyi* apenas é necessário quando a carga parasitária é considerável ou na presença de manifestações clínicas ou quebras de produção. Contagens ligeiras de ovos do parasita nas fezes não justificam um tratamento, uma vez que as infestações leves não são lesivas para a saúde ou produtividade dos HD (Tilling 2013).

A máxima redução na postura de *D. dentriticum* é obtida quando os animais são tratados 2 vezes, uma no outono, à reentrada em estabulação e outra no início da primavera (Otranto & Traversa 2003; Rojo-Vázquez *et al.* 2012).

O uso massivo de tratamentos anti-helmintícos conduz ao aparecimento de parasitas resistentes. Em Espanha, registaram-se vários casos de *F. hepatica* resistente ao triclabendazol em bovinos e ovinos, tendo-se também detetado resistência ao albendazol (Monney *et al.* 2009). Para travar isto é necessário pôr em marcha uma abordagem estratégica aos tratamentos anti-helmintícos: p.e. quando os sinais clínicos persistem após um tratamento fasciolicida, deve recolher-se fezes para análise coprológica 3 semanas depois, aplicando-se um fármaco alternativo se os ovos persistirem (p.e. closantel) de forma a reduzir uma eventual população de parasitas resistentes a um valor mínimo. Outras boas práticas incluem: impedir subdosagens, assegurar uma frequência correta de tratamentos, evitar a colocação direta dos animais tratados em pastagens limpas e monitorizar por coprologias e proporção de reprovações de fígados no matadouro a evolução das cargas parasitárias dos animais (Rojo-Vázquez *et al.* 2012).

5. Impacto económico

Mesmo quando subclínica, a fasciolose é responsável por fortes quebras no rendimento dos animais afetados. Entre as principais perdas estão: redução no ganho de peso, diminuição do teor butiroso e da produção de leite, problemas de fertilidade, reprovação de fígados no matadouro e lã em menor quantidade e de má qualidade no caso dos ovinos (Rojo-Vázquez *et al.* 2012; Schweizer *et al.* 2005). Um estudo feito na Suíça determinou que neste país as perdas económicas causadas pela fasciolose, são em média de 52 milhões de euros, por ano, com uma perda média de 299 euros por animal infestado (Schweizer *et al.* 2005).

Em bovinos, estão descritas reduções de 4,1-28% no ganho de peso, 3,8-15,2% na produção de leite e menos 4-6 Kg de gordura no leite/vaca/ano. As novilhas infestadas sofrem atrasos na puberdade e apresentam níveis séricos de estradiol-17 β aumentados e de progesterona diminuídos. Em vacas, verificam-se: abortos; uma menor taxa de conceção, em que vacas infestadas necessitam de 2,25 inseminações face às 1,62 para as não infestadas; um aumento do intervalo entre partos; e um menor peso dos vitelos à nascença (Schweizer *et al.* 2005). Segundo um estudo levado a cabo num matadouro no Reino Unido, os bovinos infestados têm uma pior conformação de carcaça, a qual apresenta menos gordura e um menor peso no frio e é desvalorizada em 0,3% relativamente às carcaças de animais não infestados (Sanchez-Vasquez & Lewis 2013).

Para além disso, há ainda os custos dos tratamentos, mão-de-obra e tempo necessários à aplicação dos mesmos e todos os encargos com veterinários associados não só

diretamente à fasciolose, mas também indiretamente devido a peritonites, dermatites solares ou cetoses (Schweizer *et al.* 2005).

Apesar da menor importância que lhes é atribuída relativamente à *F. hepatica*, o *C. daubneyi* e o *D. dendriticum* são também responsáveis por perdas económicas indiretas consequentes à menor conversão de nutrientes, perda de peso e menor produção de leite (Díaz *et al.* 2007).

Parte II – Gestão de trematodoses na região Limousin

1. Introdução

Este estudo teve como principal objetivo o conhecimento da prevalência das infestações parasitárias por *F. hepatica*, *C. daubneyi* e *D. dendriticum*, em explorações de ruminantes na região Limousin e perceber de que forma os produtores da região estavam sensibilizados para as mesmas. Tendo em conta o forte impacto que estes parasitas podem ter na sanidade e produtividade dos animais e, consequentemente, na economia regional, importava saber que tipo de medidas preventivas e de controlo estavam a ser tomadas e quais os tratamentos e os critérios com que eram aplicados, nomeadamente: princípios ativos utilizados, em que momento do ano e com que regularidade.

Por outro lado, este trabalho pretende também ser um instrumento de autoavaliação da intervenção médico veterinária na gestão do parasitismo nas explorações.

1.1. Caracterização da região Limousin

A região Limousin ocupa a parte noroeste do Maciço Central francês, sendo constituída por apenas 3 departamentos: Corrèze, Creuse e Haute-Vienne, onde se situa a Clínica Veterinária des Rochettes. É uma das regiões mais pequenas, 16942 Km² de superfície e a menos populada, 43 habitantes/Km², de França (Région Limousin 2014).

A agricultura constituía 4,4% do PIB da região, tendo esta o dobro do peso no emprego regional em relação à média nacional. Em 2007, a região contava com 14.324 explorações agrícolas, cujo tamanho tinha vindo a aumentar nos últimos anos, situando-se na altura numa média de 56 hectares por exploração (Région Limousin 2014).

A região é caracterizada por um relevo muito diversificado que oscila entre os 984 m (Mont Bessou) e menos de 200 m (Bassin de Brive) de altitude, apresentando montanhas e planaltos talhados por vales e encostas cujos terrenos que constituem a superfície agrícola útil estão ocupados em 87% por erva e pastagens. Um terço do território total é coberto por floresta, e a água é omnipresente, quer seja em rios, ribeiros, lagos naturais ou artificiais, pelo que a região é apelidada de “Castelo de água da França” (Région Limousin 2014; Herbes et fourrages 2014).

1.2. Clima e condições meteorológicas

O clima da região é muito diverso, uma vez que varia de acordo com as diferenças de relevo, podendo esta ser dividida em zonas climáticas distintas. A zona onde se incluem Bellac e as comunas circunvizinhas é, em termos gerais, caracterizada por um clima oceânico com baixa pluviosidade (precipitação média anual de 1023,5 mm). As temperaturas são geralmente amenas, com uma temperatura mínima média anual de 7,7°C e máxima de 15,2°C, poucas geadas durante o inverno e verões secos (Météo Massif Central 2014) Os dados meteorológicos relativos a Bellac durante o ano 2013 e início do ano 2014 são apresentados na tabela III:

	primavera 2013	verão 2013	outono 2013	inverno 2014
Temperatura mínima média (°C):	8,2	14,7	5,8	4
Temperatura máxima média (°C):	15,9	24	11,7	10,6
Precipitação (mm):	280,6	212,8	301,1	313,4

Tabela III: Condições meteorológicas em Bellac entre 2013 e 2014, dados da Météo France.

1.3. Principais tipos de explorações de ruminantes

A pecuária representava 85% do total de explorações agrícolas na região e estava essencialmente vocacionada para a produção de carne em regime extensivo ou semi-extensivo. A cultura de erva ocupava 56% das zonas de explorações enquanto em 27% das mesmas, nos terrenos mais adequados, eram produzidos cereais e milho (Institut de l'élevage).

A produção bovina era dominante e 80% do efetivo era da raça Limousine, tendo como produtos finais típicos o vitelo de leite sob a mãe (alimentados exclusivamente com leite natural e abatidos entre os 3 e os 5,5 meses de vida), os broutards (novilhos abatidos por volta dos 10 meses com cerca de 280 Kg de peso vivo), as novilhas de Lyon (abatidas aos 23 meses, com aproximadamente 300 kg de peso de carcaça) e as novilhas pesadas (abatidas aos 32 meses com 370 Kg de peso de carcaça). A produção bovina na região Limousin representava 15% de todo o efetivo francês de bovinos de carne e sustentava uma forte exportação de produtos transformados e de genética (reprodutores, embriões e sémen) (Reseaux d'élevage 2005).

A produção ovina era também importante na região, dedicando-se à criação do cordeiro do Limousin ou Baronet, o qual era um produto com denominação de origem protegida (DOP). Estes eram cordeiros de raças e/ou cruzamentos de raças destinadas à produção de carne, alimentados com leite materno durante, pelo menos, 60 dias, erva e feno *ad libitum* (em pastagem e/ou estabulação) e cereais, sendo obrigatoriamente abatidos antes dos 10 meses de idade. Do total, 41% das explorações dedicavam-se unicamente à criação de ovinos, explorações especializadas, enquanto 60% produziam bovinos em simultâneo (Reseaux d'élevage 2013).

O número de explorações e a superfície agrícola utilizada destinada à produção biológica tinham progredido bastante na região, apesar de esta ocupar, na altura, um lugar modesto no ranking nacional (respetivamente 14ª e 15ª posições, segundo dados de 2012). As explorações bovinas produtoras de carne predominavam, mas com uma evolução mais estabilizada nos últimos anos (23% entre 2010 e 2012), enquanto as explorações ovinas produtoras de carne apareciam em segundo lugar, estando em franca expansão (Agence Bio 2012 2013).

2. Material e métodos

A população alvo do estudo consistiu em bovinos e ovinos com mais de 6 meses, cujo maneiço implicava em algum momento uma passagem pela pastagem.

Do início de janeiro a meados de abril de 2014, amostras frescas de fezes recolhidas pelos produtores foram analisadas, utilizando um método McMaster modificado com uma flotação com solução de sulfato de zinco ($d = 1,40$), de forma a obter uma contagem fecal de ovos individual.

	10 g	15 g	20 g	25 g	30 g
6 ml	3	2	1,5	1,2	1
9 ml	4,5	3	2,25	1,8	1,5
12 ml	6	4	3	2,4	2
15 ml	7,5	5	3,75	3	2,25
18 ml	9	6	4,5	3,6	3

Tabela III: tabela de ponderação do fator "C" a partir do peso das amostras de fezes (em g) e volume do sedimento produzido (em ml).

A contagem fecal de ovos é obtida multiplicando o número de ovos encontrados na câmara de McMaster por um fator "C" que relaciona o peso da amostra e o volume final de sedimento que esta origina (ver tabela IV). Para uma amostra de 30 g produzindo 6 ml de sedimento, "C" é igual a 1, ou seja, cada ovo encontrado na câmara, corresponde a 1 ovo por grama de fezes (OPG). Foram enumerados os ovos de *F. hepatica*, *C. daubneyi*, *D. dendriticum*, estrogilídeos gastrointestinais (*Cooperia spp.*, *Ostertagia spp.*, *Oesophagostomum spp.*, *Haemonchus spp.*), *Nematodirus spp.*, *Trichuris spp.* e foi registada a presença de *Coccidia spp.* e tenídeos (*Moniezia expansa*). Aos resultados obtidos foram somados os resultados em arquivo das análises coprológicas, realizadas na clínica entre julho de 2013 e janeiro de 2014.

As prevalências de *F. hepatica*, *C. daubneyi* e *D. dendriticum* foram obtidas através da proporção entre animais infestados e animais analisados. A clínica utilizava um protocolo em que para *F. hepatica*, a presença nas fezes de um único ovo do parasita justificava sempre um tratamento do animal e/ou lote afetado, não se distinguindo diferentes níveis de infestação. Já para *C. daubneyi* e *D. dendriticum* eram distinguidos 2 níveis segundo a intensidade de

infestação. Para *C. daubneyi*, o nível 1 verificava-se quando, numa única amostra, eram encontrados 1-49 ovos e o nível 2 quando eram encontrados 50 ou mais ovos. Para *D. dendriticum*, o nível 1 indicava que eram encontrados 1-19 ovos e o nível 2 que eram encontrados 20 ou mais. Para ambos os parasitas, o nível 2 acarretava obrigatoriamente um tratamento, enquanto o nível 1 requeria uma análise cuidada do animal e/ou lote afetado.

Tendo por base o estudo de Szmídt-Adjidé *et al.* (2000), foi calculada a prevalência mensal média e intensidade de infestação dos respetivos parasitas com recurso ao Microsoft® Office Excel 2010. Recorrendo ao *software* IBM SPSS® statistics versão 22, foi calculada a prevalência média global (durante todo o período para o qual havia dados registados) para cada um dos parasitas em bovinos e ovinos com um intervalo de confiança de 90% e foi ainda calculada a razão de possibilidades (abreviatura OR de *odds ratio*) com um intervalo de confiança de 95% para a associação entre os diferentes tremátodes, sendo que um OR superior a 1 indicava que as infestações estavam positivamente associadas. Um valor p inferior a 5% era considerado estatisticamente significativo.

Na clínica, aos produtores que requisitavam análises coprológicas ou compravam antiparasitários, era distribuído um questionário com o objetivo de recolher dados gerais sobre as explorações e gestão do parasitismo nas mesmas (vide anexo 1).

3. Resultados

3.1. Análises coprológicas

Entre julho de 2013 e abril de 2014, foram analisadas 139 amostras de bovinos e 202 amostras de ovinos, provenientes respetivamente de 46 e 47 explorações diferentes.

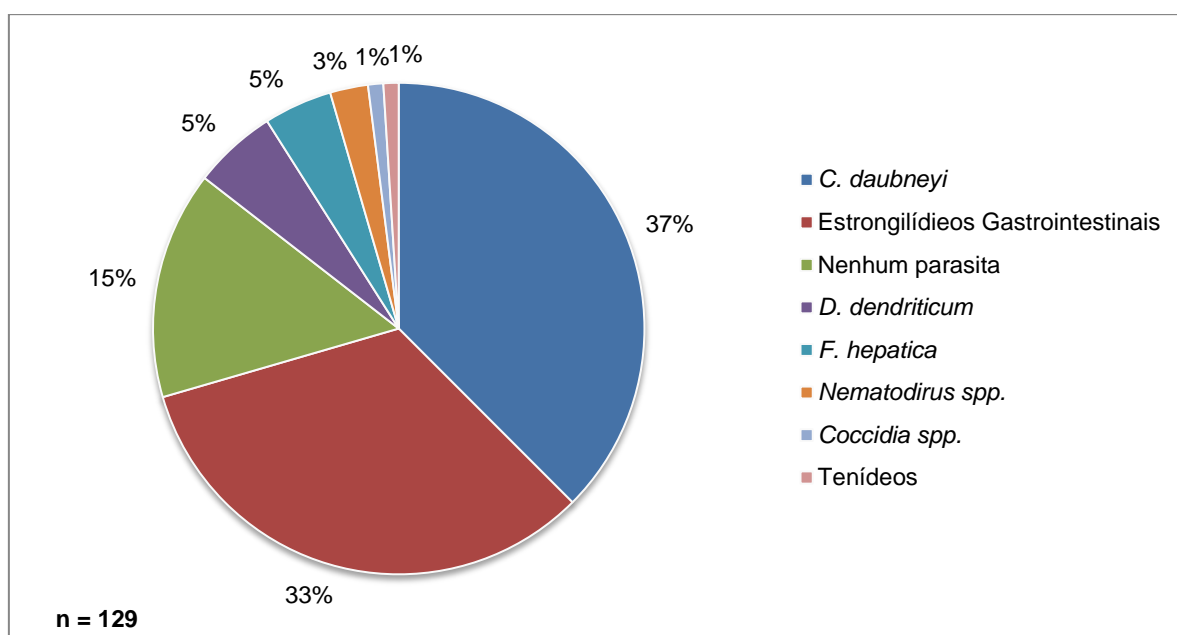


Gráfico I: Infestações parasitárias bovinas detetadas por análise coprológica.

Analisando o gráfico I, relativo aos bovinos, em 30 amostras (15%) não foi encontrada qualquer forma parasitária. O parasita mais frequentemente detetado foi o *C. daubneyi*, presente em 37% das amostras, seguido pelos estrongilídeos gastrointestinais (33%), *D. dendriticum* (5%), *F. hepatica* (5%), *Nematodirus spp.* (3%), *Coccidia spp.* (1%) e tenídeos (1%).

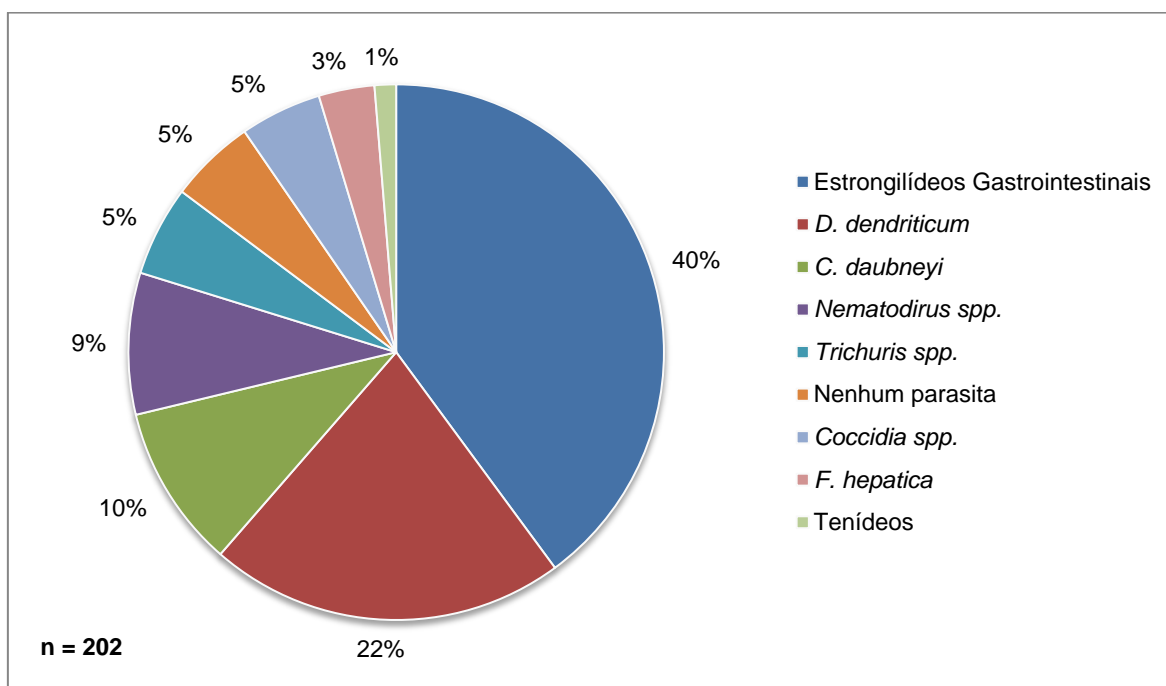


Gráfico II: Infestações parasitárias ovinas detetadas por análise coprológica.

No gráfico II, respeitante aos ovinos, 20 amostras (5%) não tinham qualquer parasita. Os estrongilídeos gastrointestinais foram os parasitas encontrados com maior regularidade, estando presentes em 154 amostras (40%), seguidos pelo *D. dendriticum* (22%), *C. daubneyi* (10%), *Nematodirus spp.* (9%), *Trichuris spp.* (5%), *Coccidia spp.* (5%), *F. hepatica* (3%) e tenídeos (1%).

Foi detetado pelo menos 1 ovo de uma das 3 espécies de tremátodes em amostras de 37 explorações bovinas (80% do total de explorações bovinas em estudo) e em amostras de 31 explorações ovinas (66% do total de explorações ovinas em estudo).

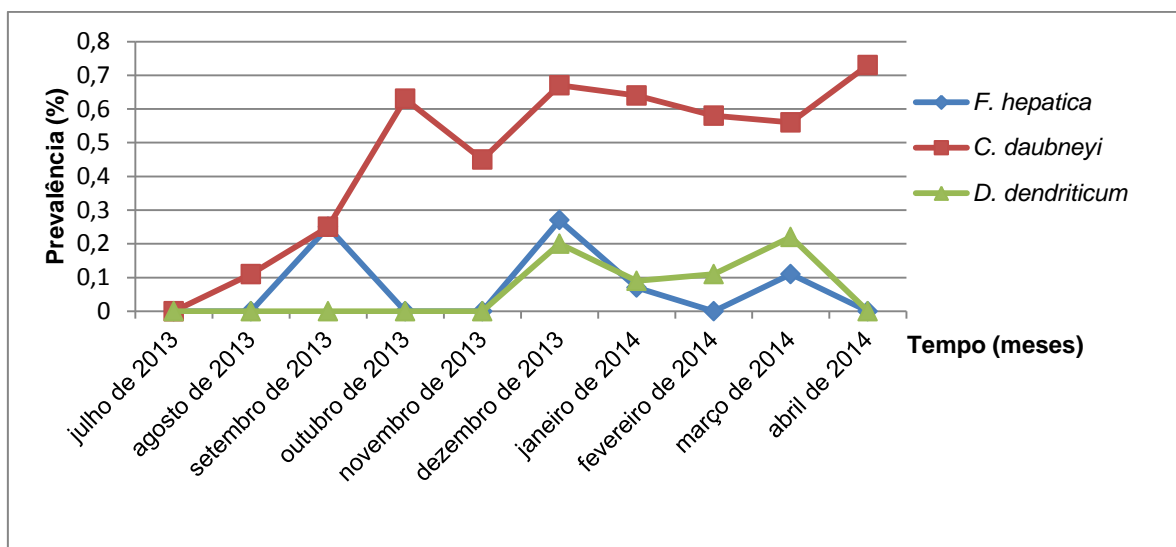


Gráfico III: Evolução mensal das prevalências de trematodoses em bovinos.

Segundo o gráfico III, em bovinos, o *C. daubneyi* foi o trematóde detetado com maior frequência, com uma prevalência média durante o período de estudo de 0,46 (intervalo de confiança a 90%: 0,31-0,61). O valor mais elevado (0,73) foi registado durante o mês de abril de 2014. A *F. hepatica* obteve o valor mais elevado (0,27) também em dezembro de 2013 e a sua prevalência média foi de 0,07 (IC a 90%: 0,01-0,13). O *D. dendriticum* esteve ausente entre julho e novembro e em abril, sendo que, a prevalência mais elevada (0,22) foi obtida em março de 2014. A prevalência média durante o período de estudo situou-se nos 0,06 (IC a 90%: 0,01-0,11).

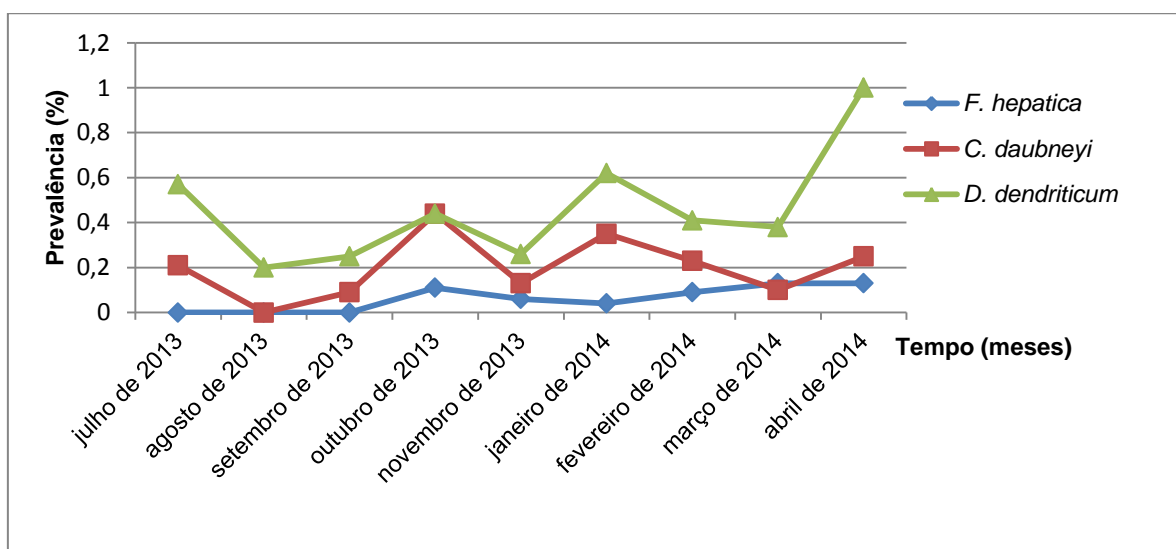


Gráfico IV: Evolução mensal das prevalências de trematodoses em ovinos.

No gráfico IV, deve ter-se em atenção que, pelo fato de não terem sido realizadas análises coprológicas a amostras de ovinos durante o mês de dezembro de 2013, este não foi representado no gráfico. Passando à sua análise, em ovinos, o *D. dendriticum* teve a maior

prevalência média registada durante o período de estudo, sendo esta de 0,46 (IC a 90%: 0,31-0,61). O valor mais elevado (1) ocorreu em abril de 2014. Já para *C. daubneyi* a prevalência média foi de 0,20 (IC a 90%: 0,12-0,29), tendo sido registado o valor mais elevado (0,44) em outubro de 2013. A *F. hepatica* esteve ausente entre julho e setembro e a sua prevalência média foi de 0,06 (IC a 90%: 0,03-0,10), com o valor mais elevado (0,13) registado em março e em abril de 2014.

	Número de animais		Prevalência (%)	
	Bovinos	Ovinos	Bovinos	Ovinos
verão de 2013	20	56	0,08	0
outono de 2013	34	49	0,09	0,09
inverno de 2014	73	88	0,06	0,09

Tabela V: Prevalência de *Fasciola hepatica* por estação do ano.

Em bovinos, tendo em conta a evolução sazonal da prevalência de *F. hepatica* abordada na revisão bibliográfica, e consultando a tabela V, o valor mais alto, 0,09, registou-se no outono de 2013 (outubro, novembro e dezembro) e o valor mais baixo, 0,06, no inverno de 2014 (janeiro, fevereiro, março). Já nos ovinos, a prevalência deste parasita foi nula durante o verão (julho, agosto e setembro), enquanto no outono de 2013 e inverno de 2014 se manteve em 0,09.

	Número de animais examinados		Prevalência (%)		Intensidade da infestação (%)			
	Bovinos	Ovinos	Bovinos	Ovinos	Nível 1		Nível 2	
					Bovinos	Ovinos	Bovinos	Ovinos
verão de 2013	20	56	0,12	0,1	1	1	0	0
outono de 2013	34	49	0,58	0,29	0,9	1	0,1	0
inverno de 2014	73	88	0,59	0,23	0,61	0,74	0,39	0,26

Tabela VI: Prevalência e intensidade de infestação de *Calicophoron daubneyi* por estação do ano.

Em bovinos, e no caso do *C. daubneyi* (tabela VI), a prevalência foi mais elevada durante o inverno de 2014, registando-se o valor de 0,59, próximo do valor registado no outono de 2013 (0,58). A prevalência mais baixa ocorreu durante o verão de 2013, com o valor de 0,12. Em ovinos, a prevalência mais baixa (0,1) verificou-se no verão de 2013, enquanto a mais alta (0,29) foi registada durante o outono de 2013. Relativamente à intensidade de infestação, tanto em bovinos como em ovinos a maioria dos animais infestados foi classificada no nível 1 da infestação. No entanto, durante o inverno de 2014, 39% dos bovinos e 26% dos ovinos infestados apresentaram uma infestação de nível 2.

	Número de animais		Prevalência (%)		Intensidade da infestação (%)			
					Nível 1		Nível 2	
	Bovinos	Ovinos	Bovinos	Ovinos	Bovinos	Ovinos	Bovinos	Ovinos
verão de 2013	20	56	0	0,34	-	0,96	-	0,04
outono de 2013	34	49	0,07	0,35	1	0,94	0	0,06
inverno de 2014	73	88	0,14	0,47	0,83	0,71	0,29	0,12

Tabela VII: Prevalência e intensidade de infestação de *Dicrocoelium dendriticum* por estação do ano.

Durante o verão de 2013, a prevalência de *D. dendriticum* (tabela VII), em bovinos, foi nula e o valor mais alto para esta foi registado durante o inverno de 2014, com o valor de 0,14. Em ovinos, o valor mais baixo ocorreu também durante o verão de 2013 (0,34), apesar de próximo do valor registado durante o outono de 2013 (0,35). A prevalência mais elevada foi obtida no inverno de 2014, com o valor de 0,47. Tal como aconteceu com o *C. daubneyi*, também aqui a maior parte dos animais apresentou uma infestação de nível 1. Contudo, 29% dos bovinos e 12% dos ovinos infestados foram classificados no nível 2 durante o inverno de 2014.

Em bovinos, foi verificada uma relação entre a prevalência de *F. hepatica* e a de *C. daubneyi* (OR=1,77, IC a 95%: 0,42-7,37) e entre a primeira e *D. dendriticum* (OR=1,50, IC a 95%: 0,17-13,23). Por outro lado, as prevalências de *C. daubneyi* e *D. dendriticum* não estão correlacionadas (OR=0,46, IC a 95%: 0,13-1,65). Em ovinos, a prevalência de *F. hepatica* está correlacionada com a de *C. daubneyi* (OR=2,38, IC a 95%: 0,68-8,37) e com a de *D. dendriticum* (OR=3,00, IC a 95%: 0,87-10,31). As prevalências de *C. daubneyi* e *D. dendriticum* estão também associadas (OR=3,23, IC a 95%: 1,53-6,81).

Como resultado das análises coprológicas, 51% dos lotes de bovinos avaliados não necessitaram de qualquer tratamento antiparasitário. Contudo, os veterinários responsáveis prescreveram tratamentos antiparasitários não dirigidos a tremátodes a 13% dos lotes e dirigido a tremátodes nos restantes 36%, nomeadamente: Zanil® (16%), Hapadex® (9%), Closamectin® (4%), Fascinex® (4%), Cydectine-Triclamox® (1%), Parsifal® (1%) e Seponver® (1%). Já relativamente aos ovinos, não foi prescrito qualquer tratamento a 23% dos lotes analisados, enquanto a 31% destes foi prescrito um tratamento não abrangendo os tremátodes e a 46% um tratamento visando estes últimos. Passando a discriminar: Hapadex® (13%), Cydectine-Triclamox® (12%), Oestrocur® (11%), Fascinex® (4%), Zanil® (4%), Seponver® (1%) e Supaverm® (1%).

É importante atentar que, apesar das doses de oxiclozanida (Zanil®) recomendadas e das “stop-doses” legisladas para a *F. hepatica*, os veterinários que trabalhavam na clínica consideravam pela sua experiência prática que estas não eram, por vezes, suficientes para tratar eficazmente o *C. daubneyi*. Como tal, a clínica instituiu como protocolo interno e para os seus clientes uma dose de 10 mg/kg ou 0,3 ml/kg do produto, sem “stop-dose”, tanto para

bovinos, como para ovinos. Tal, era possível pois, na altura, não havia nenhum produto com autorização de introdução no mercado francês visando o tratamento do *C. daubneyi*, devendo-se duplicar os intervalos de segurança do medicamento em questão (Fresnay, 2014). Desta forma, em bovinos com peso superior a 343 kg e em ovinos com peso superior a 66 kg, a consequente sobredosagem, exacerbava os efeitos indesejáveis associados a este tratamento. Muitos produtores referiam que, em consequência da diarreia, havia um desgaste acelerado das camas dos animais, quando estes estavam estabulados, e que a anorexia conduzia a uma quebra importante na produção de leite. Assim, e para minimizar o impacto destes efeitos, procurava-se fazer os tratamentos com este produto antes das épocas de partos. Então, salvaguardava-se a produção de colostro e leite para os recém-nascidos e mantinha-se a higiene dos parques das maternidades.

3.2. Questionários

Entre fevereiro e abril de 2014, foram obtidas 26 respostas ao questionário distribuído na clínica veterinária des Rochettes (vide anexo 1). Todos os produtores tinham as suas explorações no departamento Haute-Vienne. À exceção de uma exploração de caprinos de leite, todas as restantes se destinavam à produção de carne bovina (5 explorações), ovina (9 explorações) ou ambas (11 explorações). Apenas duas explorações (uma ovina e outra caprina) tinham implementada a criação biológica de animais (Regulamento n.º 889/2008 da CE 2008).

Relativamente ao historial de trematodoses, 20 produtores (77%) referiram já ter tido pelo menos 1 caso de infestação por tremátodes na sua exploração e destes, 12 (67%) já tinham sido afetados por dois ou mesmo pelos três tremátodes em estudo. Passando a discriminar: 11 produtores (42%) referiram já ter tido casos de *F. hepatica*, 13 (50%) de *C. daubneyi* e 11 (42%) de *D. dendriticum*. Por outro lado, 6 produtores (23%) mencionaram nunca ter tido infestações parasitárias por tremátodes nas suas explorações.

Quanto ao controlo regular através da recolha de amostras de fezes para análises coprológicas, particularmente no fim do outono e inverno, de forma a aproveitar o período de estabulação dos animais, 13 produtores (50%) faziam-no, enquanto outros 13 (50%) não. Destes últimos, 8 (62%) referiram, mesmo assim, ter feito pelo menos uma análise coprológica nos últimos 12 meses.

Os tratamentos regulares, contra pelo menos uma das espécies de tremátodes, eram praticados por 21 produtores (80%), enquanto 3 produtores (12%) apenas tratavam periodicamente os seus animais contra outras formas parasitárias. Por fim, 2 produtores referiram não aplicar qualquer tratamento regular. Somente 4 produtores (15%) faziam sistematicamente análises coprológicas antes de tratarem os seus animais, de forma a

conhecerem o grau de parasitismo e formas parasitárias presentes nos lotes de animais a tratar e assim verificar a necessidade ou não de um tratamento antiparasitário dirigido. Contrariamente, 8 produtores (31%) aplicavam tratamentos antiparasitários regulares não dirigidos e apenas solicitavam aconselhamento veterinário ou análises coprológicas quando tinham perceção de que o tratamento que aplicavam não tinha sido eficaz. A maioria dos produtores, 14 (54%), encontrava-se numa posição intermédia, ou seja, ora faziam tratamentos dirigidos ora faziam tratamentos não dirigidos, sem uma forte predominância de uma destas ações.

Princípios ativos	Nome comercial	Unidades vendidas	
		Bovinos	Ovinos
Netobimina	Hapadex®	91	
Triclabendazol	Fascinex®	17	10
Triclabendazol + Moxidectina	Cydectine-Triclamox®	6	33
Triclabendazol + Levamisol	Parsifal®	9	0
Oxiclozanida	Zanil®	73	
Closantel + Ivermectina	Closamectin®	14	-
Closantel + Ivermectina	Oestrocur®	-	6
Closantel + Mebendazol	Supaver®	-	3
Closantel	Seponver®	1	
Clorsulon + Ivermectina	Ivomec-D®	10	-
Nitroxinil	Dovenix®	4	

Tabela VIII: trematocidas faturados entre janeiro e abril de 2014 na Clínica veterinária des Rochettes.

Analisando a faturação da clínica, apresentada na tabela VIII, o produto antiparasitário com espectro de ação contra tremátodes mais vendido entre janeiro e abril de 2014 tinha sido a netobimina (Hapadex®), fármaco de eleição contra *D. dendriticum*. Em segundo lugar, surgia o triclabendazol, principal princípio ativo utilizado contra *F. hepatica* por ser eficaz contra todos os seus estádios. No total, foram vendidas 75 unidades comerciais contendo este fármaco, quer isoladamente (Fascinex®), quer em associação com a moxidectina (Cydectine-Triclamox®) ou o levamisol (Parsifal®). Em terceiro lugar, estava a oxiclozanida (Zanil®, com 73 unidades comerciais vendidas) princípio ativo de eleição no tratamento de *C. daubneyi*.

Na totalidade, no período de janeiro a abril de 2014 foram faturadas pela clínica 277 unidades de trematocidas mas só 44 (16%) foram prescritas após análises coprológicas.

Questionados sobre a presença de locais húmidos que constituíam habitats para *F. hepatica* e *C. daubneyi* (ver imagens da figura 1), 24 produtores (92%) referiram que estes existiam nas suas explorações. Dos inquiridos, 9 (35%) não aplicavam qualquer medida preventiva contra estes parasitas.



Figura 1: a, b. Imagens de possíveis habitats para *Fasciola hepatica* ou *Calicophoron daubneyi* numa exploração bovina do Haute-vienne.

Maioritariamente, os produtores estavam satisfeitos com a atual abordagem da clínica veterinária ao parasitismo das suas explorações mas 4 produtores (15%) desejavam uma aproximação diferente, manifestando vontade de uma maior frequência de visitas à exploração direcionadas à monitorização do parasitismo e uma aposta mais consistente nas práticas de prevenção e controlo do mesmo, em detrimento dos tratamentos sucessivos.

4. Discussão e conclusão

Neste estudo, a prevalência coprológica média de *F. hepatica* foi de 6% em ovinos e de 7% em bovinos, o que se enquadrava na tendência decrescente para a prevalência deste parasita percebida num estudo retrospectivo realizado em bovinos da região durante 12 anos (25,2% em 1993 e 12,6% em 1999) (Mage *et al.* 2002). A prevalência de *C. daubneyi* foi de 20% em ovinos e de 46% em bovinos, um valor próximo dos 44,7% registados em 1999 (Mage *et al.* 2002), mas bastante superior aos 20% obtidos num estudo realizado num matadouro da região (Szmidt-Adjidé *et al.* 2000). Para o *D. dendriticum*, a prevalência média foi de 6% em bovinos e de 46% em ovinos, um valor superior aos 41,7% registados em ovinos e caprinos do sudeste de França em 1976 (Calamel 1976).

A maioria dos bovinos e ovinos na região passava o inverno em estabulação, o que confirmava o verão como o principal período de risco para contrair a infestação por *F. hepatica* e *C. daubneyi*, resultando na maior prevalência e excreção de ovos destes parasitas registada no outono e inverno (prevalências mais elevadas em dezembro para *F. hepatica* e *C. daubneyi* em bovinos e, respetivamente, março e outubro nos ovinos). A água abundante nas pastagens, o nível de pluviosidade e as temperaturas amenas, mesmo durante invernos como o de 2014, tornavam possível o desenvolvimento dos parasitas durante todo o ano. Esta pode ser a justificação para a prevalência média de 8% durante o verão de 2013 para a *F. hepatica* bovina.

Contrariamente ao esperado, a maior prevalência *D. dendriticum* e a maior percentagem de bovinos e ovinos com uma intensidade de infestação de nível 2 ocorreu no

inverno de 2014, estação em que se registaram as temperaturas mais baixas e a maior pluviosidade. Resultados semelhantes foram obtidos por Díaz *et al.* (2007) num estudo realizado em Espanha, que sugeriu como explicações o tempo ameno e seco durante o período de ação dos HI na área de estudo, tendo ainda alertado para o facto da epidemiologia do parasita ser influenciada por diversos fatores, tais como: tipo de exploração, manejo animal, tamanho das pastagens, presença de ribeiros, tipo de solo, vegetação, etc.

Um facto interessante foi a associação encontrada entre os diferentes tremátodes. A correlação entre *F. hepatica* e *C. daubneyi* foi observada tanto em bovinos como em ovinos, o que não surpreende, uma vez que os dois parasitas podem partilhar os mesmos HI e têm ciclos de vida idênticos (Gordon *et al.* 2013). Por outro lado, a associação da *F. hepatica* ou do *C. daubneyi* ao *D. dendriticum* era menos esperada. Esta verificou-se em todos os casos, excepto entre o *C. daubneyi* e o *D. dendriticum* em bovinos, embora o IC a 95% não exclua que em futuras amostras tal não possa ocorrer. Estes resultados demonstram que as condições atmosféricas e orográficas na área de estudo proporcionavam habitats e permitiam o desenvolvimento dos ciclos de vida dos três parasitas (Díaz *et al.* 2007), ou seja, numa única exploração, os ruminantes podiam contrair simultaneamente as duas ou mesmo as três trematodoses estudadas.

Dos cerca de 346 produtores de ruminantes com quem a clínica trabalhava, apenas 25,4% requisitaram o serviço de análises coprológicas com flutuação por sulfato de zinco, entre julho de 2013 e abril de 2014.

Da mesma forma, os resultados dos questionários indicavam que havia ainda uma grande fração de produtores (50%) que não controlavam regularmente o grau de parasitismo dos seus animais e em consequência, implementavam tratamentos antiparasitários sistemáticos e não dirigidos. Outros ainda (31%), apenas solicitavam a atuação veterinária quando os animais apresentavam sinais clínicos ou quando estes se mantinham após um tratamento. Apenas 15% dos produtores referiu fazer sempre análises coprológicas antes de qualquer tratamento antiparasitário. Tal, concerta com a proporção de 16% obtida entre as unidades de trematocidas prescritas após análises coprológicas e o total de unidades destes produtos faturado pela clínica no período de janeiro a abril de 2014.

As condições edafoclimáticas da região proporcionavam abundantes habitats para a *F. hepatica* e o *C. daubneyi*, como constataram 92% dos produtores inquiridos. Mesmo assim, 35% destes afirmou não utilizar qualquer medida preventiva.

No panorama das coprologias realizadas, verificou-se que uma grande porção dos animais (51% dos lotes de bovinos e 23% dos lotes de ovinos) não necessitou de qualquer tratamento antiparasitário. Somente foi prescrito um tratamento trematocida a 36% dos lotes de bovinos e a 46% dos lotes de ovinos. Sendo que, tanto a faturação da clínica como os

tratamentos prescritos pelos veterinários da clínica após as coprologias, confirmaram a netobimina, oxiclozanida, triclabendazol e closantel como os principais trematocidas utilizados pelos produtores da região. O primeiro, estava maioritariamente associada ao tratamento da dicrocoeliose em ovinos e o segundo, ao tratamento do *C. daubneyi* em bovinos. Por sua vez, o triclabendazol, em maior escala, e depois o closantel eram os princípios ativos mais utilizados no combate à fasciolose bovina e ovina.

Considerando que as infestações por tremátodes eram maioritariamente subclínicas e que, mesmo na presença de sinais clínicos, estes não eram específicos, a gestão de trematodoses da altura na região (escassez nos controlos e na prevenção e implementação de tratamentos sistemáticos não dirigidos) era inquietante e podia gerar desperdícios com tratamentos não necessários ou mal direcionados, gastos em mão-de-obra, impasses provocados pelos intervalos de segurança a respeitar, deterioração fisiológica dos animais e perdas económicas inerentes às infestações parasitárias que persistiam e uma maior propensão para danos ambientais e resistências a tratamentos antiparasitários.

Apesar de pouco preocupantes na altura, os casos de resistência ao triclabendazol tinham vindo a aumentar (Olaecha et al. 2011). Assim, era necessário permanecer vigilante e pôr em prática a alternância entre diferentes princípios ativos, ao invés de tratamentos sucessivos com o mesmo, de forma a travar este fenómeno.

Urgia então um forte investimento em medidas preventivas, sobretudo ao nível do manejo das pastagens: evitar sobrepastoreio, boa renovação das pastagens, sistemas de rotação, diminuir/eliminar possíveis habitats para os parasitas ou limitar o acesso dos animais a estes locais.

O controlo anual no fim do outono/início de inverno, através de análises coprológicas ou outros meios de diagnóstico permitia não só conhecer o tipo e grau de parasitismo das manadas e rebanhos, como possibilitava também uma intervenção facilitada pela estabulação dos animais que antecedia um forte período de risco, a época de partos de inverno. Caso fosse necessário, as futuras progenitoras poderiam ser tratadas neste momento para assim garantirem colostro e leite em quantidade e qualidade aos recém-nascidos.

A maioria dos produtores (85%) manifestou-se satisfeita com a atuação da clínica no controlo do parasitismo nas suas explorações mas era essencial que esta continuasse o seu trabalho, com um acompanhamento de proximidade, adaptado especificamente a cada exploração e mostrando os veterinários como aliados nesta missão. As alterações climáticas e a expansão das explorações biológicas com novas ideologias de produção e regulamentações mais restritivas constituíam os principais desafios para o futuro, e iriam exigir atenção de todas as partes intervenientes, de forma a preservar o equilíbrio, não só na gestão das trematodoses, mas também na sustentabilidade de toda a criação de ruminantes e economia da região.

Bibliografia

- Bowman DD (2008) "Helminths" **Georgis' Parasitology for Veterinarians**, 9^o Ed, Saunders Elsevier, 115-127
- Calamel M (1976) "La dicrocoeliose ovine et caprine dans le Sud-Est de la France" **Revue de Medecine Veterinaire** 127, 1529-1536
- Demeler J, Schein E, Sanson-Himmelstjerna GV (2012) "Advances in laboratory diagnosis of parasitic infections of sheep" **Veterinary Parasitology** 189, 52-64
- Díaz P, Paz-Silva A, Sánchez-Andrade R, Suárez JL, Pedreira J, Arias M, Díez-Banos P, Morondo P (2007) "Assessment of climatic and orografic conditions on the infection by *Calicophoron daubneyi* and *Dicrocoelium dendriticum* in grazing beef cattle (NW Spain)" **Veterinary Parasitology** 149, 285-289
- Fairweather I, Boray JC (1999) "Fasciolicides: Efficacy, Actions, Resistance and its Management" **The Veterinary Journal** 158, 81-112
- Fox NJ, White PCL, McClean CJ, Marion G, Evans A, Hutching MR (2011) "Predicting Impacts of Climate Change on Fasciola hepatica Risk" **PLoS ONE** 6 (1): e16126, 1-9
- Fresnay É (2014) "Prescription hors autorisation de mise sur le marché des médicaments antiparasitaires: cadre réglementaire" **le point vétérinaire** 1
- Gordon DK, Roberts LCP, Lean N, Zadoks RN, Sargison ND, Skuce PJ (2013) « Identification of the rumen fluke *Calicophoron daubneyi*, in GB livestock: possible implications for liver fluke diagnosis" **Veterinary Parasitology** 195, 65-71
- Gunn A, Pitt SJ (2012) "Helminth Parasites" **Parasitology An Integrated Approach**, 1^o Ed, John Wiley & Sons, Ltd, 88
- Herbe et Fourrages <<http://www.herbe-fourrages-limousin.fr/>> (acedido: 24 de março de 2014)
- Hurquhart GM, Armour J, Duncan JL, Dunn AM, Jennings FW (1996) "Veterinary Helminthology" **Veterinary Parasitology**, 2^o Ed, Blackwell Publishing, 102-113
- Knubben-Schweizer G, Rüegg S, Torgerson PR, Rapsch C, Grimm F, Hässig M (2010) "Control of bovine fasciolosis in dairy cattle in Switzerland with emphasis on pasture management" **The veterinary Journal** 186, 188-191
- Index des Médicaments vétérinaires autorisés en France <<http://www.ircp.anmv.anses.fr/>> (acedido : 29 de abril de 2014)
- Mage C, Bourgne H, Toullieu JM, Rondelaud D, Dreyfuss G (2002) "*Fasciola hepatica* and *Paramphistomum daubneyi*: changes in prevalences of natural infections in cattle and in *Lymnaea truncatula* from central France over the past 12 years" **Veterinary Research** 33 (5), 439-447

Météo France <<http://www.meteofrance.com/climat/france/limousin/regi74/normales>> (acedido: 25 de março de 2014)

Météo Massif Central <<http://www.meteo-mc.fr/climat-Haute-Vienne.html>> (acedido: 25 de março de 2014)

Mooney L, Good B, Hanrahan JP, Mulcahy G, Waal T (2009) "The comparative efficacy of four anthelmintics against a natural acquired *Fasciola hepatica* infection in hill sheep flock in the west of Ireland" **Veterinary Parasitology** 164, 201-205

Olaechea F, Lovera V, Larroza M, Raffo F, Cabrera R (2011) "Resistance of *Fasciola hepatica* against triclabendazol in cattle in Patagonia (Argentina)" **Veterinary Parasitology** 178, 364-366

Otranto D, Traversa D (2002) "A review of dicrocoeliosis including recent advances in the diagnosis and treatment" **Veterinary Parasitology** 107, 317-335

Otranto D, Traversa D (2003) "Dicrocoeliosis of ruminants: a little known fluke disease" **TRENDS in Parasitology** 19 No.1, 12-15

Paraud C, Gaudin C, Pors I, Chartier C (2009) "Efficacy of oxyclozanide against the rumen fluke *Calicophoron daubneyi* in experimentally infected goats" **The Veterinary Journal** 180, 265-267

Région Limousin <<http://www.meteo-mc.fr/climat-Haute-Vienne.html>> (acedido: 24 de março de 2013)

Regulamento n° 889/2008 de 5 de setembro (2007) "Conselho relativo à produção biológica e à rotulagem dos produtos biológicos, no que respeita à produção biológica, à rotulagem e ao controlo" **Jornal oficial da União Europeia**, 1-33

Reseaux d'élevage (2013) "Banque de Données Regional Ovine Limousin et Centre" **Institut de l'Élevage**, 1-2

Reseaux d'élevage (2005) "Le Systeme Naisseur Limousin avec genisses de boucherie" **Institut de l'Élevage** cT n° 3.a, 1-4

Rojo-Vázquez FA, Meana A, Valcárcel F, Martínez-Valladares M (2012) "Update on trematode infections in sheep" **Veterinary Parasitology** 189, 15-38

Sanchez-Vazquez MJ, Lewis FI (2013) "Investigating the impact of fasciolosis on cattle carcass performance" **Veterinary Parasitology** 193, 307-311

Schweizer G, Braun U, Deplazes P, Torgerson PR (2005) "Estimating the financial losses due to bovine fasciolosis in Switzerland" **Veterinary Record** 157, 188-193

Szmidt-Adjidé V, Abrous M, Adjidé CC, Dreyfuss G, Lecompte A, Cabaret J, Rondelaud D (2000) "Prevalence of Paramphistomum daubneyi in cattle in central France" **Veterinary parasitology** 87, 133-138

Taylor MA, Coop RL, wall RL (2007) "Parasite of cattle" **Veterinary Parasitology**, 3^o Ed, Blackwell Publishing, 244-257

Taylor MA, Coop RL, wall RL (2007) "Parasite of sheep and goats" **Veterinary Parasitology**, 3^o Ed, Blackwell Publishing, 521-542

Taylor MA (2012) "Emerging parasitic diseases of sheep" **Veterinary parasitology** 189, 2-7

Tilling O (2013) "Rumen fluke in cattle in the UK: a review" **Livestock** 18 No 6, 223-227

Zajac AM, Conboy GA (2012) "Parasites of Domestic Animals" **Veterinary Clinical Parasitology**, 8^o Ed, Wiley-Blackwell, 110-11

Anexos

1. Questionário

Questionnaire au Producteur: Gestion du parasitisme à Grande Douve, Petite Douve et Paramphistome

Questionnaire réalisé afin de recueillir des données pour un rapport de stage en Médecine Vétérinaire ayant comme sujet: Gestion Hivernal du Parasitisme à Trématodes en Ruminants de Région Limousin

Nom: _____ Prénom: _____

Département de l'exploitation: Haute-Vienne Autre: _____

Exploitation: Bovin Ovin Bovin + Ovin Autre: _____

Nombre d'animaux adultes: _____

Produit Final: Lait Viande Autre: _____

Type d'exploitation: Conventionnel Biologique

1. Signalez si vous avez déjà eu un ou plusieurs des problèmes parasitaires suivants dans votre exploitation:

- a) Grande Douve b) Petite Douve c) Paramphistome d) Aucun problème parasitaire
e) Autres Parasites: _____

Si oui,

1.1. Le diagnostic a été fait par coprologie?

- a) Oui b) Non c) Autre moyen de diagnostic: _____

1.2. Quelle a été la raison pour faire la coprologie?

- | | |
|--|--|
| a) Mauvais état des animaux | f) Troubles reproductifs dans le troupeau |
| b) Mauvais Poil | g) Seulement pour contrôle (savoir s'il faut traiter et avec quel produit) |
| c) Diarrhée | h) Evaluer l'efficacité d'un traitement |
| d) Saisies de foies/carcasses à l'abattoir | i) Autre: _____ |
| e) Nécropsies d'animaux avec parasites | |

2. Faites-vous des coprologies systématiquement tous les fin d'Automne/Hiver pour vérifier et contrôler le parasitisme à Grande Douve, Petite Douve et Paramphistome dans votre troupeau?

- a) Oui b) Non

2.1. Date (mois/année) de la dernière coprologie à cet effet : ____/ 201__

2.2. Principal motif pour faire ce contrôle?

- a) Ne fait pas le contrôle
- b) Indication du vétérinaire
- c) Évaluer le degré de parasitisme du troupeau après les pâturages d'Automne
- d) Evaluer de degré de parasitisme du troupeau avant la saison d'agnelages
- e) Avoir une idée claire sur le parasitisme du troupeau pour essayer d'augmenter sa rentabilité
- f) Autre: _____

3. Faites-vous des traitements antiparasitaires réguliers pour Grande douve, Petite douve ou Paramphistome sur vos animaux?

- Oui b) Non, aucun traitement c) Non, traitement contre d'autre parasite (ex : strongles)

3.1. Date (mois/année) du dernier traitement à cet effet: ___/ 201__

Produit utilisée: _____

3.2. Critères pour vos traitements antiparasitaires:

- a) Toujours après une coprologie en suivant des indications du vétérinaire
- b) Parfois après une coprologie, parfois à ma propre initiative
- c) Presque toujours à ma propre initiative, coprologie seulement lorsque le traitement effectué n'est pas efficace

4. Avez-vous dans votre exploitation des zones humides (pâturages au bord des ruisseaux, mares, points d'eau) favorables à Grande Douve et au Paramphistome?

- a) Oui b) Non

5. Avez-vous des mesures préventives contre ce type de parasitisme dans votre exploitation?

- a) Pas de mesures préventives
- b) Empêcher l'accès aux zones humides
- c) Amélioration du drainage
- d) Races/animaux plus résistantes au parasitisme
- e) Éviter le surpâturage
- f) Eliminer les hôtes Intermédiaires (limnées)
- g) Autre: _____

6. Souhaiteriez-vous une approche différente à la gestion du parasitisme dans votre exploitation par les vétérinaires de la clinique?

Non, je suis satisfait de l'approche actuelle

Oui, suggestions: _____

Merci beaucoup pour votre disponibilité,
Tiago Mota