



COMO TORNAR ECOSSUSTENTÁVEL O CONTROLO DOS PARASITAS GASTROINTESTINAIS EM CAPRINOS?

A monitorização dos níveis de infeção do efetivo, a utilização correta dos medicamentos anti-helmínticos e a aplicação de alternativas de manejo são essenciais para diminuir o desenvolvimento da resistência aos anti-helmínticos.

A.T. Belo¹, M.R. Marques¹, L. Padre²

¹ Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária



² Universidade de Évora / MED – Instituto Mediterrâneo para a Agricultura, Ambiente e Desenvolvimento



A infecção por estrongilídeos gastrointestinais (EGI) prejudica gravemente a produtividade e a saúde dos animais em pastoreio, em especial dos caprinos que são mais suscetíveis. O tipo de comportamento em pastoreio dos caprinos, a maior altura, proporciona-lhes uma menor exposição às formas infetantes parasitárias, não estimulando por isso o seu sistema imunitário para o desenvolvimento da sua capacidade de resistência, ao contrário dos ovinos, que pastoreiam mais rente ao solo (Fthenakis e Papadopoulos, 2018). No entanto, a ocorrência de infecções leves estimula a resposta do sistema imunitário ao permitir uma relação dinâmica entre a população parasitária e o hospedeiro, benéfica para um estado de resiliência por parte do hospedeiro. Por outro lado, a resistência dos EGI aos anti-helmínticos (RA) em caprinos é atualmente um problema em todo o mundo, estando disseminadas espécies de EGI mono ou multirresistentes aos princípios ativos dos anti-helmínticos (AH) sintéticos até agora utilizados. Como exemplo, Mickiewicz *et al.* (2021) demonstraram a existência de RA generalizada aos compostos benzimidazol e lactonas macrocíclicas e, em menor grau, ao levamisol, em cabras leiteiras na Polónia.

Resistência aos anti-helmínticos

A resistência aos anti-helmínticos ocorre quando o EGI desenvolve a capacidade de sobreviver a uma dose de AH que normalmente seria eficaz, transmitindo depois essa capacidade à sua descendência. Várias publicações, em especial nos últimos 15–20 anos, têm alertado para a propagação desta situação nos efetivos caprinos na Europa. Desde 2015, a LiHRA (Aliança para a Investigação sobre Nematodes em Animais de Produção) tem coordenado atividades de investigação que estudam abordagens alternativas de controlo dos parasitas em animais de produção. Entre 2017 e 2021, foi desenvolvida uma ação COST financiada pelo HORIZONTE2020 denominada COMBAR (Combate à resistência Anti-helmíntica em Ruminantes) que integrou novos desenvolvimentos no sentido de: implementar testes de diagnóstico eficazes e económicos; desenvolver estratégias práticas e sustentáveis de controlo

incluindo tratamentos seletivos, vacinas contra a infecção, utilização de forragens com propriedades anti-helmínticas; e proporcionar ferramentas de apoio à decisão a produtores e técnicos, de modo a tornar sustentável o controlo de parasitas.

Vários fatores são responsáveis pela RA, sendo os mais importantes: a elevada frequência de tratamentos, a subdosagem de AH sintéticos e a utilização continuada da mesma classe de compostos. Estes fatores, juntamente com determinadas práticas de manejo, promovem o desenvolvimento de resistência dos EGI. A utilização sistemática de AH resulta no aumento de parasitas resistentes, os que sobrevivem à desparasitação, excretados nas fezes pelos animais tratados para o ambiente. A substituição de parasitas sensíveis por resistentes é progressiva, desenvolvendo-se a RA em poucos tratamentos. A administração de AH em doses inadequadas, assumindo que o equipamento e a técnica estão corretos, está relacionada com a avaliação visual do peso dos animais e a espécie a tratar, uma vez que os caprinos necessitam maiores doses pois metabolizam e eliminam vários compostos mais rapidamente do que os ovinos (Aksit *et al.*, 2015). A administração repetida da mesma classe de compostos leva ao desenvolvimento de resistência não só a AH com mecanismos de ação semelhante, mas também a compostos quimicamente diferentes e com ação distinta, como na RA cruzada. Fissiha e Kinde (2021) referem os diferentes tipos de mecanismo presentes nas populações de EGI para o desenvolvimento da RA, salientando a importância do seu conhecimento para prever a rapidez de resposta dos parasitas. Já em 2004, Kaplan alertava para o curto espaço de tempo entre a introdução de um novo AH no mercado e os primeiros relatos de RA, como, por exemplo, em ovinos, para o levamisol 9 anos, para a ivermectina 7 anos, para a moxidectina 4 anos e para o benzimidazol apenas 3 anos. Um conceito importante a ter presente é a população de parasitas *in refugia*, ou seja, parasitas não expostos ao tratamento e que contribuem para a manutenção da suscetibilidade dos EGI aos AH. Uma estratégia de controlo baseada neste conceito é o tratamento seletivo dirigido, em que só uma

parte dos animais são tratados, mantendo assim parasitas suscetíveis no rebanho em pastoreio. A dificuldade de aplicação desta estratégia está em decidir quais os animais a tratar, sendo necessário ter atenção a indicadores como a avaliação do nível de eliminação de ovos de EGI nas fezes, a condição corporal dos animais e índices produtivos como a produção leiteira (revisto por Hodgkinson *et al.*, 2019). No entanto, o sucesso desta estratégia para diminuir a progressão da RA depende das condições específicas de cada sistema de exploração.

Contaminação ambiental e perigo de resíduos nos produtos animais

Belo *et al.* (2021) abordaram os riscos ambientais e o perigo do aparecimento de resíduos nos produtos animais devido aos métodos químicos para controlo parasitário. Os riscos ambientais dizem respeito à excreção nas fezes, principal veículo de eliminação dos AH administrados, que, pela forte aderência ao material fecal e baixa degradabilidade, vai afetar a biodiversidade da fauna coprófaga e, como tal, todo o ciclo de reciclagem natural de nutrientes para o solo. Um indicador visível desta contaminação é o desaparecimento de escaravelhos coprófagos, “besouros do esterco”, que desempenham um papel importante na aeração do solo, na incorporação de nutrientes e nitrogénio, tornando-o mais fértil. Adicionalmente, a ação destes besouros leva à dispersão e dessecação da massa fecal, expondo as formas parasitárias presentes aos raios solares diretos e à desidratação, exercendo dessa forma um controlo biológico sobre as populações exógenas dos parasitas. O seu desaparecimento contribui assim para o aumento das populações de EGI resistentes aos AH que ficam depositados nas pastagens.

Controlo das infeções parasitárias

Devido ao aumento considerável da RA e à crescente popularidade da agricultura biológica, as estratégias de controlo alternativas poderão complementar e reduzir a utilização de anti-helmínticos químicos.

Antes da implementação de qualquer estratégia de controlo dos EGI, é essencial a monitorização do

efetivo da exploração e conhecer não só os níveis de eliminação de EGI ao longo do ano, como identificar os parasitas que estão presentes. A identificação do género de parasita é importante, uma vez que o mesmo nível de eliminação de ovos pode indicar situações mais ou menos graves, dependendo dos géneros presentes e da sua abundância proporcional. Por exemplo, o género *Haemonchus* spp é mais patogénico que o *Trichostrongylus* spp devido à sua ação hematófaga. Além disso, tem cada vez mais importância, avaliar a eficácia dos AH administrados na exploração, e a forma como podem alterar a proporção das populações parasitárias presentes.

Monitorização

Os EGI mais comuns em ovinos e caprinos, no seu desenvolvimento, passam pelas fases de ovo, larva e forma adulta (Figura 1). As formas adultas produzem os ovos no hospedeiro, que os expele juntamente com as fezes. No exterior, a eclosão dos ovos e o desenvolvimento dos primeiros estádios larvares (L1 e L2) ocorre na matriz fecal. No estádio L3, as larvas infetantes migram das fezes para a vegetação, até cerca de 10 cm acima do solo, dependendo da altura e tipo da pastagem e da incidência solar, podendo ser ingeridas pelos animais ao pastorearem.

Avaliação dos níveis de eliminação

A infeção parasitária na exploração é avaliada pela contagem de ovos de EGI excretados nas fezes através da técnica de McMaster (Figura 2). Os resultados são apresentados como número de ovos por grama de fezes (OPG) e dão informação sobre os níveis de eliminação e, como tal, indicação da carga parasitária nos animais.

Identificação dos géneros presentes

Tradicionalmente, a identificação de EGI na população parasitária utiliza referências morfométricas em larvas infetantes obtidas em coproculturas, com incubação das fezes pelo menos durante 7 dias, para eclosão dos ovos e desenvolvimento das larvas L3 (Figura 1). A utilização de técnicas moleculares, como o PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) e

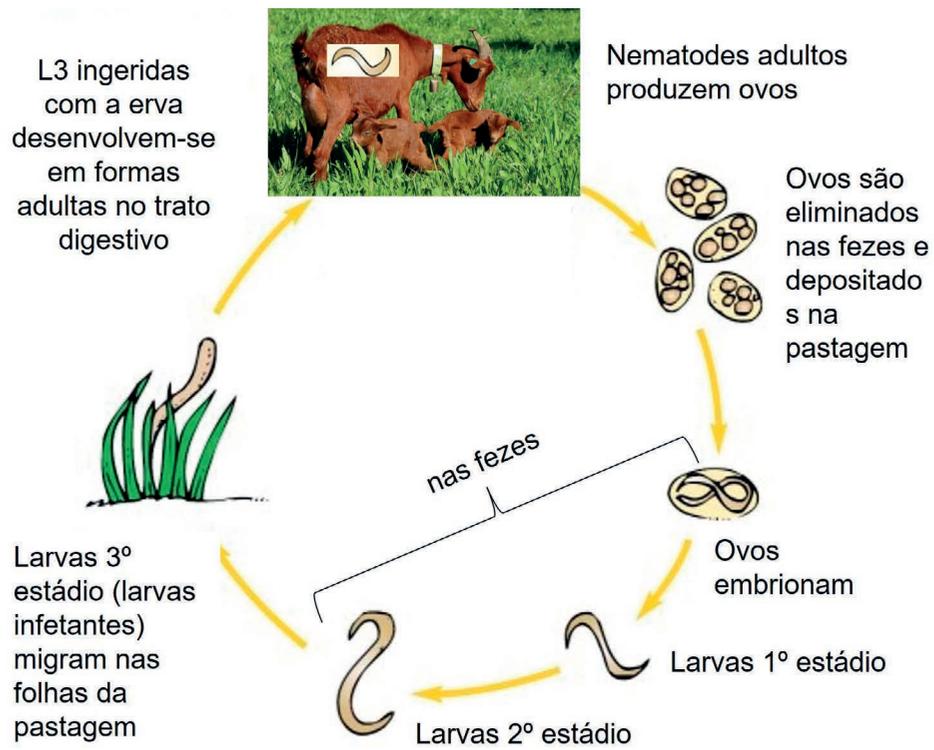


Figura 1 – Exemplo do ciclo de vida dos EGI (adaptado de EggsAct 2019, <https://www.faecaleggcountkit.com.au>).

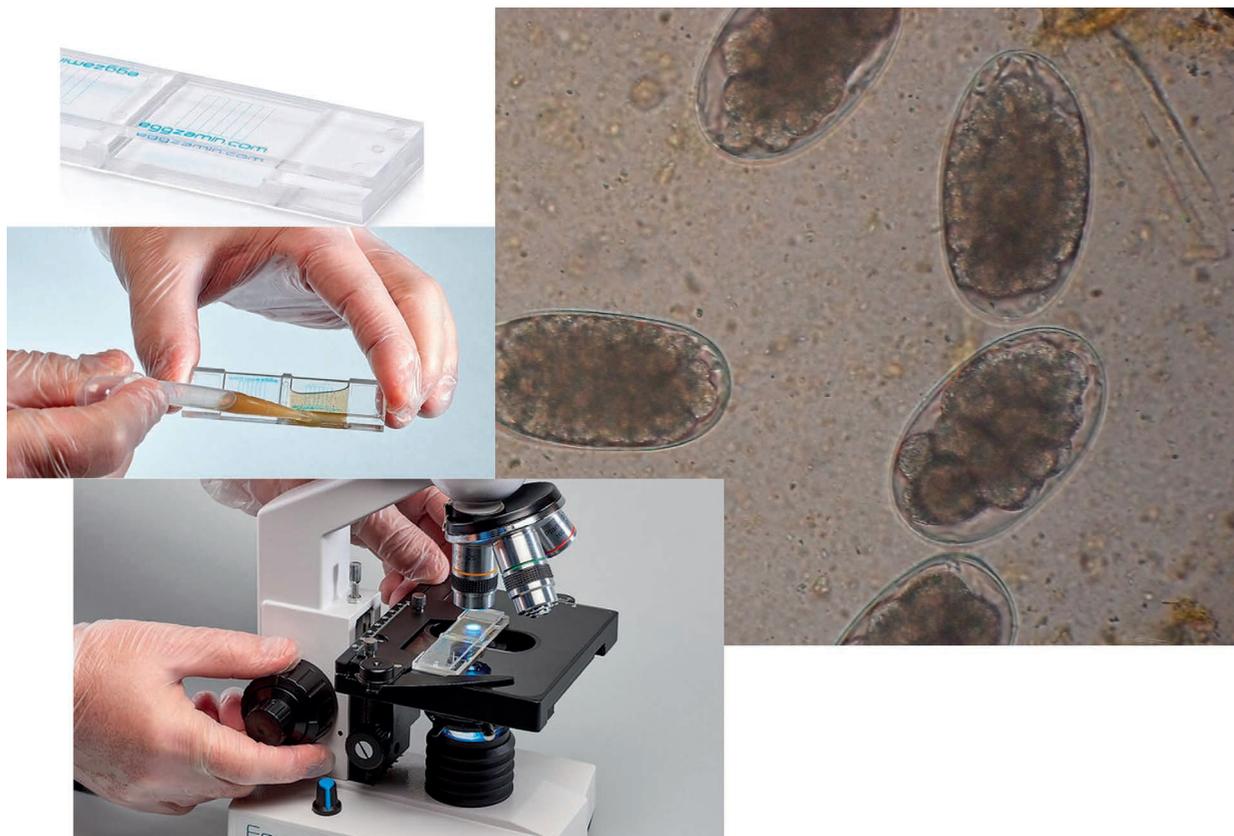


Figura 2 – Técnica McMaster.

a sequenciação do ADN, permitem a identificação mais rápida e exata das espécies de EGI, quer a partir de ovos quer de larvas. Estas técnicas avançadas são altamente sensíveis, proporcionando uma identificação muito exata dos estromgilídeos até ao nível da espécie. Em 2009, Bott *et al.* apresentaram um PCR em tempo real do ADN ribossómico para melhorar a identificação de sete espécies de estromgilídeos comuns em pequenos ruminantes. Com o desenvolvimento tecnológico, estas metodologias têm-se tornado menos laboriosas e mais acessíveis, existindo atualmente um método molecular para a identificação semiquantitativa de sete géneros e 12 espécies de nemátodes gastrointestinais nos ruminantes domésticos (Santos *et al.*, 2020). O método baseia-se na amplificação e análise de fragmentos, seguida de minissequenciação da região ITS-2 (espaçador interno transcrito 2) do ADN ribossómico dos ovos ou larvas dos parasitas, apresentando entre 0,84 e 0,99 concordância entre as análises morfológicas e moleculares na deteção dos géneros.

Deteção da RA

Para a deteção da RA podem ser utilizadas técnicas *in vivo* e *in vitro*. O teste da redução na contagem de ovos nas fezes (FECRT) avalia *in vivo* a eficácia de um AH ao comparar a eliminação de ovos por grama de fezes (OPG) antes e depois do tratamento dos animais. No entanto, o intervalo de tempo para a recolha de fezes após o tratamento varia com a classe de AH suspeito de resistência. Os métodos *in vitro* são realizados com ovos de EGI presentes nas fezes dos animais da exploração. Os testes baseiam-se na capacidade de eclosão dos ovos, na capacidade de sobrevivência ou na motilidade das larvas, sendo necessário diversos períodos de incubação. Também aqui, as técnicas moleculares têm avançado. Por exemplo, sabe-se hoje que a resistência ao benzimidazol (BZ) em nemátodes gastrointestinais (e em algumas espécies às lactonas macrocíclicas) está associada a polimorfismos de um único nucleótido (SNP) no gene da beta-tubulina (Lubeaga e Prichard, 1990). Esta descoberta permitiu desenvolver ferramentas moleculares para genotipar larvas ou EGI adultos resistentes ou suscetíveis, e

descobrir, em ovinos, que os níveis de resistência podem estar a ser subavaliados quando baseados nos resultados de FECRT (Esteban-Ballesteros *et al.*, 2017).

Alternativas para o controlo parasitário

Nutrição e condição corporal

Animais adultos, bem-nutridos e com condição corporal adequada possuem uma resistência e resiliência consideráveis devido ao reforço do seu sistema imunitário. Ao utilizar suplementos nutricionais, em especial proteicos, em alturas-chave do ciclo produtivo dos animais, procura-se manter a produtividade e aumentar a resiliência. De facto, a suplementação proteica na alimentação de fêmeas no final da gestação e início da lactação pode contrariar o aumento da excreção de ovos de EGI neste período periparto.

Alimentos ricos em compostos bioativos

A utilização de alimentos ricos em compostos bioativos com potencial anti-helmíntico visa “perturbar” a biologia dos EGI, quer pela diminuição da excreção de ovos ocasionado pelo decréscimo da fertilidade das L3, quer pela inibição da instalação das L3 no trato gastrointestinal do hospedeiro ou do desenvolvimento dos ovos em larvas L3 no exterior.



Foto 1 – Cabras em pastoreio de espécies arbustivas.

As propriedades bioativas de leguminosas forrageiras, como a sula (*Hedysarum coronarium*), o sanfeno (*Onobrychis viciifolia*), a chicória (*Cichorium intybus*), assim como de diversas espécies arbustivas, como a urze (*Calluna vulgaris*), a aroeira (*Pistacia lentiscus*), o carrasco (*Quercus coccifera*), entre outras, têm sido investigadas por diversos autores, nomeadamente quanto ao seu potencial anti-helmítico (ver Belo *et al.*, 2021). Compostos como os taninos, as saponinas, os flavonoides e os alcaloides são responsáveis pela ação anti-helmítica. Além da ingestão direta destas plantas pelos animais, a produção de extratos em variadas concentrações e tipos de administração tem sido testada e documentada a sua eficácia, embora ainda seja necessário compreender a ação na inviabilização das formas dos EGI.

Mais recentemente, tem aumentado o interesse em avaliar o potencial anti-helmítico de recursos alimentares menos convencionais como subprodutos agroindustriais e sobrantes da agricultura. Hoste *et al.* (2022) referem diversos estudos, publicados ou ainda em desenvolvimento, realizados com cascas de castanha, avelã e diversas vagens, folhas de castanheiro e outras árvores, alfarroba, subprodutos da produção de vinho, azeite e citrinos e até borra de café.



Foto 2 – Cabras à manjedoura.

Pastoreio rotacional

O manejo adequado das pastagens é uma ferramenta poderosa no controlo natural do parasitismo GI, interferindo nas condições ideais ao desenvol-

vimento das formas parasitárias no ambiente. Sabendo que as larvas migram usualmente até cerca de 10 cm acima do solo, é fundamental gerir a altura da pastagem implementando o pastoreio rotacional. O tempo de permanência em cada parcela, 3 a 5 dias, permite aos animais ingerir a erva mais alta e folhosa, garantindo não só a qualidade de erva ingerida como a recuperação da pastagem, mas também a interrupção no ciclo de desenvolvimento dos parasitas GI, reduzindo a reinfeção dos animais.

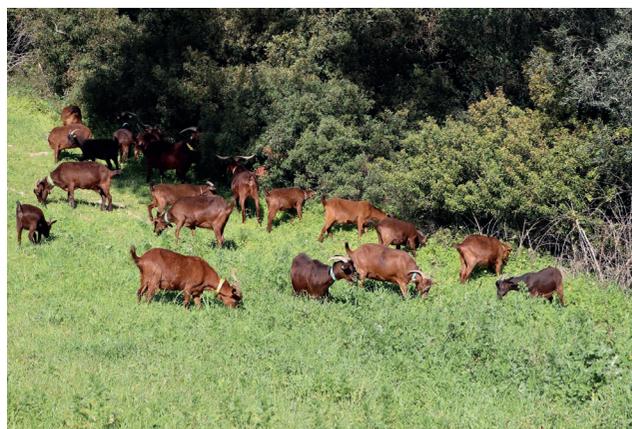


Foto 3 – Cabras em pastoreio.

Fungos nematófagos

Os fungos nematófagos são outro recurso potencial na prevenção do parasitismo. São predadores naturais de nemátodes e habitantes naturais dos solos, sendo o mais eficaz o fungo *Duddingtonia flagrans*. No entanto, são facilmente destruídos por fertilizantes químicos ou outros químicos agrícolas. Os esporos obtidos são comercializados como aditivo alimentar (BioWorma, Australia). Vilela *et al.* (2020) relataram uma quebra de 90% na contagem de OPG, relativamente aos valores iniciais, em cabras Saanen em estabulação, após administração de *D. flagrans* durante quatro meses. Num estudo anterior, Vilela *et al.* (2012) já tinham observado bons resultados no controlo biológico da reinfeção por EGI em cabras em pastoreio.

Boas Práticas na desparasitação de caprinos

Após resultados de OPG que indiquem ser necessário administrar AH, as boas práticas ditam os cuidados a ter nessa administração: 1) a escolha dos

AH mais adequados e direcionados às espécies presentes na exploração, previamente identificadas; 2) a administração correta da dose, com base no peso do animal mais pesado, caso não seja possível pesar individualmente; 3) a calibração da pistola doseadora; 4) a melhor altura do dia, antes de o animal iniciar a ingestão (Rodrigues *et al.*, 2022).

Projeto VegMedCabras*



Os resultados obtidos ao longo do projeto VegMedCabras mostraram um efeito cumulativo da ingestão da vegetação arbustiva no controle das eliminações de EGI das cabras Charnequeiras monitoriza-

das, em diferentes fases do seu ciclo produtivo, em oposição a um grupo de cabras de referência, mantido em pastagem sem acesso a espécies arbustivas (referido em Belo *et al.*, 2021).

Neste projeto, realizaram-se igualmente testes anti-helmínticos *in vitro* onde se procurou conhecer o efeito dos compostos fenólicos excretados nas fezes sobre a viabilidade das formas parasitárias presentes, nomeadamente sobre os ovos e as formas larvares infetantes (L3). Utilizaram-se extratos etanólicos das diversas espécies arbustivas, isoladamente (Padre *et al.*, 2020; Figura 3) ou em associação (Figura 4) em ensaios de coprocultura quantitativa. Os resultados obtidos indicaram um efeito ovicida, tendo em conta a diferença no número de ovos que eclodiram em relação ao controlo negativo em que se utilizou água, e/ou efeito larvicida, em relação à percentagem de larvas eclodidas que morreram após saírem do ovo, devido à ação dos compostos bioativos presentes nas fezes. Na figura 3, para a mesma concentração de compostos fenólicos

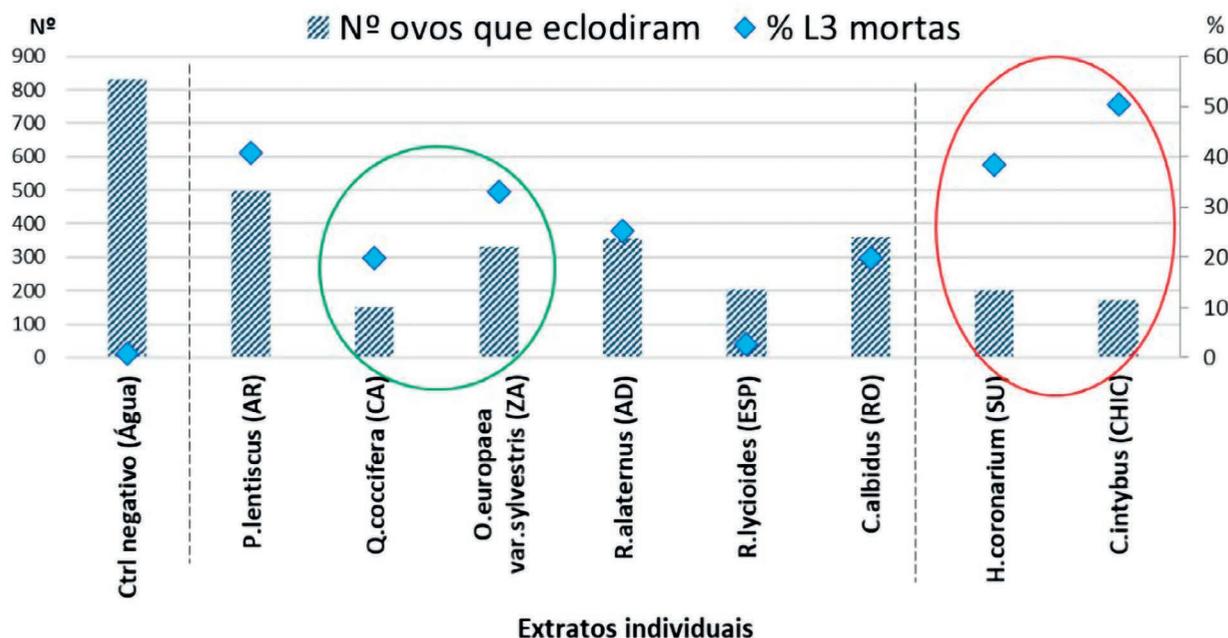


Figura 3 – Número de ovos que eclodiram e percentagem de formas infetantes (L3) mortas ao testar diversas espécies arbustivas (*P. lentiscus*, *Q. coccifera*, *Olea europaea* var. *sylvestris*, *R. alaternus*, *R. lycioides* e *C. albidus*) e forrageiras (*H. coronarium* e *C. intybus*), na concentração de 30 mg GAE/ml de compostos fenólicos totais.

*Projeto VegMedCabras – Vegetação mediterrânica: anti-helmínticos naturais na dieta selecionada por cabras em pastoreio (ALT20-03-0145-FEDER-000009) financiado pelo programa Alentejo 2020 através do Fundo Europeu de Desenvolvimento Rural.

totais, é visível a melhor combinação dos indicadores referidos no caso dos extratos de carrasco (*Q. coccifera*) e zambujeiro (*O. europaea* var. *sylvestris*) e das espécies forrageiras sula (*H. coronarium*) e chicória (*C. intybus*). Na figura 4 estão representa-

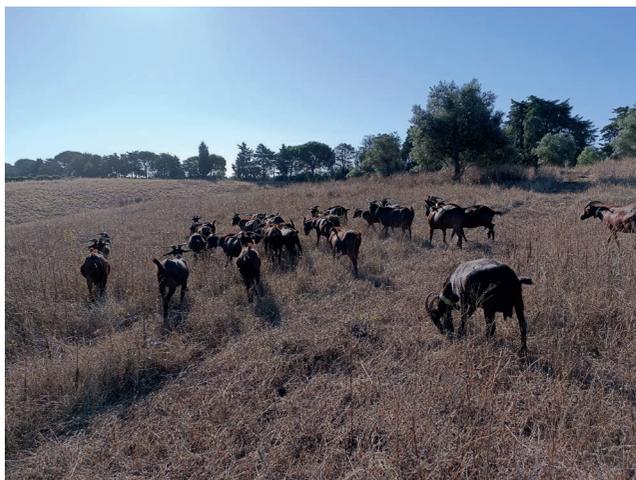


Foto 4 – Cabras em pastagem de sequeiro.

dos os resultados obtidos na associação de espécies arbustivas. Pode-se ver que a mistura das 3 espécies em partes iguais produziu bons resultados, mas, ao incrementar a proporção de extrato de carrasco na mistura, o número total de larvas diminuiu e a proporção de larvas mortas aumentou. No caso da utilização de apenas 2 espécies, sobressai a mistura com extratos de carrasco e zambujeiro, e embora o número total de larvas tenha aumentado, a proporção de formas infetantes que morreram aumentou consideravelmente.

Estes testes parecem indicar uma ação AH de determinadas espécies em sinergia, provavelmente relacionada com a especificidade dos compostos bioativos presentes a ser elucidada em próximos estudos. Esta observação reforça a vantagem de existir biodiversidade na disponibilidade de biomassa vegetal para pastoreio dos animais.

No projeto VegMedCabras, os resultados mostram assim que a ingestão de compostos fenólicos pre-

PUB

Agronomia em campo



ASSESSORIA TÉCNICA AGRONÓMICA
NUTRIÇÃO VEGETAL
FITOSSANIDADE
ADUBOS

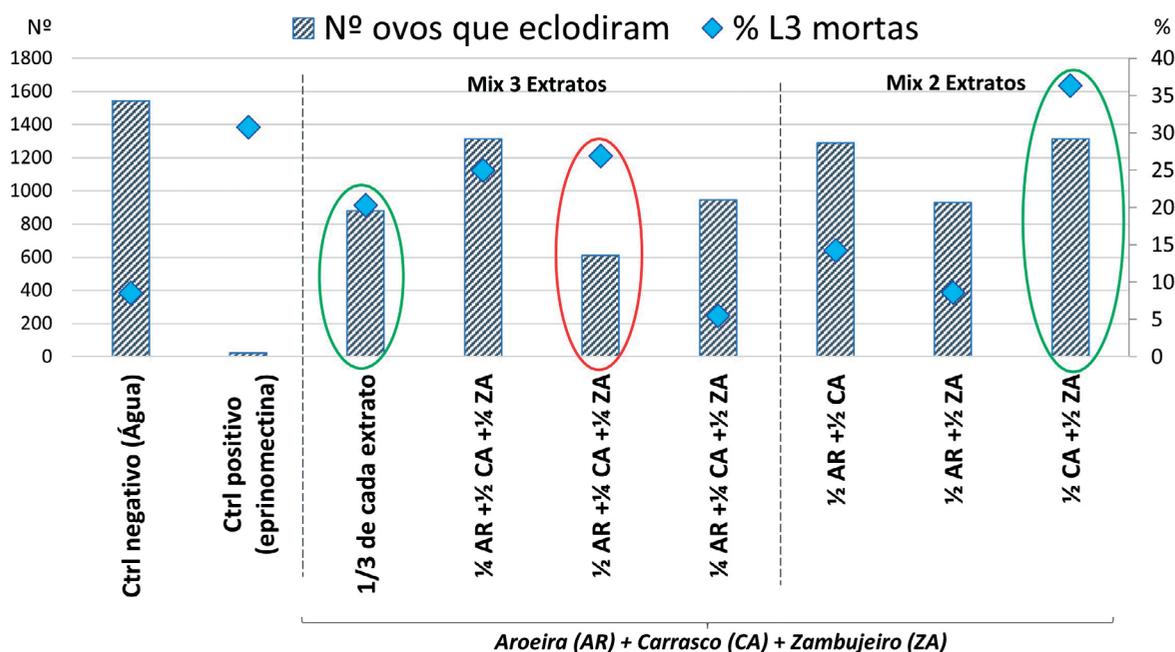


Figura 4 – Número de ovos que eclodiram e percentagem de formas infantas (L3) mortas ao testar combinações de extratos de aroeira (*P. lentiscus*; AR), carrasco (*Q. coccifera*; CA) e zambujeiro (*Olea europaea* var. *sylvestris*; ZA), na concentração de 28 mg GAE/ml de compostos fenólicos totais.

sentas em leguminosas forrageiras e diversas espécies arbustivas apresenta não só uma ação anti-helmíntica sobre a população parasitária adulta no hospedeiro, como, através da sua excreção nas fezes juntamente com as formas parasitárias, pode reduzir a contaminação ambiental, nomeadamente por formas infantas (L3). 🍷

Bibliografia

Aksit, D. et al. (2015). *BMC Vet. Res.*, **11**:124.
 Bott, N.J. et al. (2009). *Int J Parasitol.*, **39**:1277–1287.
 COMBAR - Combatting Anthelmintic Resistance in Ruminants, <https://www.combar-ca.eu>.
 Esteban-Ballesteros, M. et al. (2017). *BMC Vet Res.*, **13**(1):71.
 Fissiha, W.; Kinde, M.Z. (2021). *Infect. Drug Resist.*, **14**: 5403–5410.
 Fthenakis, G.C.; Papadopoulos, E. (2018). *Small Rum. Res.*, **163**:21–23.
 Hoste, H. et al. (2022). *Parasite*, **29**:10.
 Kaplan, R.M. (2004). *Trends Parasit.*, **20**(10):477–481.
 LiHRA – Livestock Helminth Research Alliance, <https://www.lihra.eu>.

Lubega, G.W.; Prichard, R.K. (1990). *Mol. Biochem. Parasitol.*, **38**(2):221–232.
 Mickiewicz, M. et al. (2021). *BMC Vet. Res.*, **17**:19.
 Padre, L. et al. (2020). *Book of Abstracts EAAP2020*, poster 24, session 72.
 Rodrigues, F.T. et al. (2022). *Manual de Boas Práticas de Pequenos Ruminantes / Douro Verde, GO Pequenos Ruminantes no Douro Verde*, Dolmen-Desenv. Local e Reg., Crl, 199 págs.
 Santos, L.L. et al. (2020). *Parasitol Res.*, **119**(2):529–543.
 Vilela, V.L.R. et al. (2012). *Vet. Parasit.*, **188**(1–2):127–133.
 Vilela, V.L.R. et al. (2020). *Ciências Agrárias, Londrina*, **41**(3):915–924.