



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Infeção por *Eimeria* e a sua relação com o ganho médio diário numa exploração de caprinos

Paulo Filipe Lopes Bento

Coimbra, julho 2018



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Infeção por *Eimeria* e a sua relação com o ganho médio diário numa exploração de caprinos

Coimbra, julho 2018

Paulo Filipe Lopes Bento

Aluno do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Constituição do Júri

Presidente do Júri: Professora Doutora

Sofia Duarte

Arguente: Doutor Jacinto Gomes

Orientador: Professor Doutor Sérgio

Sousa

Orientador Interno

Professor Doutor Sérgio Sousa

Coorientadores Internos

Dra. Elisabete Martins

Mestre Ricardo Cabeças

Orientadores Externos

Dr. João Fagundes

União das Cooperativas de Lacticínios Terceirense

Dr. Sérgio Pereira

Azores Veterinary Practice - Estados Unidos da América

Dissertação do Estágio Curricular do Ciclo de Estudos Conducente ao Grau de Mestre em
Medicina Veterinária da EUVG

Agradecimentos

Ao Professor Doutor Sérgio Sousa, por ter aceite ser meu orientador interno e partilhar os seus conhecimentos, metodologias e todas as correções necessárias até este ponto. À Dra. Elisabete Martins, por ser minha coorientadora e orientar-me sempre que necessário assim como apoiar e sugestões de alterações necessárias. Ao Prof. Dr. Nuno Carolino e Eng. Ricardo Cabeças pela ajuda na análise estatística dos dados. À Sra. Paula Amaral pela companhia e ajuda às oito da manhã durante o período de realização das análises coprológicas no Laboratório de Parasitologia da Escola Universitária Vasco da Gama.

A toda a equipa da União das Cooperativas de Lacticínios Terceirense, nomeadamente: Sr. Duarte Pimentel, Dr. José Carlos, Dr. Mário Silveira, Dra. Marlene Ribeiro, Dr. Pedro Garcia e principalmente ao Dr. Fagundes, por me ter aceite como estagiário nesta equipa e ser meu orientador externo. Agradeço a todos a paciência que tiveram comigo, tudo o que me deram a conhecer e a provar de diferente na Ilha Terceira. Um obrigado a tudo o que me permitiram fazer e que me ensinaram.

Agradeço ao Dr. Sérgio Pereira por também ter aceite ser meu orientador externo e permitir-me ver uma realidade de trabalho diferente ao que estava habituado assim como ao Dr. Scott Cantor pela ajuda e disponibilidade em ensinarem-me.

A todos os Professores que me foram acompanhando ao longo deste percurso universitário e que deram o seu melhor em ensinar-me e a moldar a pessoa que sou e o futuro Médico Veterinário que serei, principalmente o Prof. Carlos Cruz ao qual me aceitou como estagiário mesmo que este não contasse oficialmente para estágio curricular, e o qual considero um exemplo a seguir, quer como pessoa quer como profissional.

Aos meus amigos de Sines e de Coimbra, que sempre me apoiaram e ajudaram quando mais precisava, assim como momentos de descontração e divertimento com eles, momentos que aconteceram e que nunca serão esquecidos.

A toda a minha família, avós, pais e irmão que sem eles nada disto teria sido possível, pelas ajudas durante este longo caminho e por me terem educado e criado de modo a eu ser a pessoa que sou hoje em dia.

Por fim, mas não por último, à minha namorada Marie Alglave pela paciência que teve ao longo desde ano e pela sua ajuda durante os dias de mais trabalho neste projeto, nem que fosse apenas a fazer-me rir pelos nossos momentos de parvoíce.

Índice Geral

Agradecimentos	iv
Índice de Figuras	vi
Índice de Gráficos	vii
Índice de Tabelas	viii
Índice de Abreviaturas	ix
Página de Título	1
Resumo	2
<i>Abstract</i>	3
1. Introdução	4
2. Materiais e Métodos	7
2.1. Caracterização da Exploração	7
2.2. Amostragem	8
2.3. Procedimento Laboratorial	9
2.4. Análise Estatística	9
3. Resultados	10
3.1. Infecção	10
3.2. Ganho Médio Diário	13
4. Discussão e Conclusões	18
Referências Bibliográficas	21
Anexo 1	24
Anexo 2	25
Anexo 3	26
Anexo 4	27

Índice de Figuras

Figura 1 - Ciclo de vida do género <i>Eimeria</i> .	4
Figura 2 - Oocisto de <i>Eimeria caprina</i> (MO, 400x).	11
Figura 3 - Oocisto de <i>Eimeria arloingi</i> (MO, 400x).	11
Figura 4 - Oocisto de <i>Eimeria alijevi</i> (MO, 400x).	11
Figura 5 - Oocisto de <i>Eimeria ninakohlyakimovae</i> (MO, 400x).	11

Índice de Gráficos

Gráfico 1 - Frequência relativa da infecção por <i>Eimeria</i> e pelas diferentes espécies observadas.	12
Gráfico 2 - Animais negativos e animais com infecções simples e mistas, observados durante o período de estudo.	13
Gráfico 3 - Diferenças dos valores do ganho médio diário quando comparados animais positivos e negativos ao género <i>Eimeria</i> .	14
Gráfico 4 - Diferenças dos valores do ganho médio diário quando comparados animais positivos e negativos à espécie <i>Eimeria alijevi</i> e negativos ao género <i>Eimeria</i> .	15
Gráfico 5 - Diferenças dos valores do ganho médio diário quando comparados animais positivos e negativos à espécie <i>Eimeria ninakohlyakimovae</i> e negativos ao género <i>Eimeria</i> .	16
Gráfico 6 - Diferenças dos valores do ganho médio diário quando comparados entre animais negativos, animais com infecções simples e com infecções mistas.	17

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Caracterização morfométrica dos oocistos de diferentes espécies do género <i>Eimeria</i> , parasitas de caprinos.	6
Tabela 2 - Carga parasitária expressa em OOPG, para o género <i>Eimeria</i> .	10
Tabela 3 - Frequências absolutas e relativas das espécies de <i>Eimeria</i> isoladas na exploração.	10
Tabela 4 - Caracterização do ganho médio diário global da amostra estudada.	13
Tabela 5 - Diferenças no ganho médio diário em função da positividade ao género e às diferentes espécies de <i>Eimeria</i> .	14
Tabela 6 - Diferenças dos valores do ganho médio diário entre animais com infeções simples e mistas e grupo de animais negativos, com respetiva análise de variância entre os grupos.	17
Tabela 7 - Espécies de <i>Eimeria</i> , parasitas de caprinos.	26
Tabela 8 - Diferenças entre ambas as pesagens e respetivo ganho médio diário individual.	27

Índice de Abreviaturas

°C - Graus Celsius

g - Grama

GMD - Ganho Médio Diário

Kg - Kilograma

m² - Metro Quadrado

mL - Mililitro

MO - Microscopia Ótica

µm - Micrómetro

OOPG - Oocisto por Grama de Fezes

Infeção por *Eimeria* e a sua relação com o ganho médio diário numa exploração de caprinos

Paulo Bento^a, Edgar Rodrigues^{bc}, Elisabete Martins^a, Nuno Carolino^d Ricardo Cabeças^a, Sérgio Sousa^a

^a Departamento de Medicina Veterinária, Escola Universitária Vasco da Gama, Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário- Bloco B, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (pflbento@gmail.com)

^b Rações Zêzere, S.A., R. António Teixeira Antunes nº 1269, Águas Belas, Gravulha 2240-037, Ferreira do Zêzere, Portugal

^c Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, 3030-548, Coimbra, Portugal

^d Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. Polo de Investigação da Fonte Boa Fonte Boa, 2005-048, Vale de Santarém, Portugal

Resumo

O género *Eimeria* afeta o trato intestinal dos animais, podendo manifestar-se com sinais clínicos evidentes ou de forma subclínica. Ambas as manifestações resultam em perdas no ganho médio diário, principalmente nos animais jovens, que são os mais suscetíveis à infeção. A manifestação da infeção depende principalmente da carga parasitária do animal. Esta pode variar em função dos diferentes regimes de produção e do manejo existente sendo que, a gravidade da infeção depende também da patogenicidade de cada espécie do género *Eimeria*.

O presente estudo tem como objetivo determinar a infeção por *Eimeria* e suas diferentes espécies, em caprinos, na recria de uma exploração leiteira de regime intensivo, na região centro de Portugal, assim como observar as possíveis associações parasitárias com a variação do ganho médio diário.

Foram estudados 105 cabritos, aos quais foram recolhidas e analisadas amostras fecais utilizando método coprológico quantitativo de McMaster e método coprológico qualitativo de Willis. Foi ainda obtido os valores do ganho médio diário individual que, juntamente com os restantes dados foram submetidos a uma análise estatística, de variância, com o programa *General Linear Model Procedure* (PROC GLM) do *Statistical Analysis System*® de 2017.

Foi observada uma infeção por *Eimeria* de 87,62% (92/105), com um nível de infeção parasitário médio de 453,10 OOPG. Foram observadas sete espécies de *Eimeria*: *E. caprina* (39,05%), *E. arloingi* (38,10%), *E. caprovina* (36,19%), *E. alijevi* (29,52%), *E. christenseni* (29,52%), *E. ninakohlyakimovae* (20,95%) e *E. hirci* (15,24%). Foram ainda observadas infeções simples em 24,76% (26/105) e infeções mistas em 62,86% (66/105) do total da amostra estudada.

Os animais negativos ao parasitismo por *Eimeria* apresentaram um ganho médio diário superior em 20,17% quando comparados com os animais positivos. A variável ganho médio diário foi significativamente influenciada ($p < 0,05$) pela positividade ao género *Eimeria* ($p = 0,034$) e, consequentemente, por animais infetados com apenas uma espécie ($p = 0,012$) quando comparados com os animais negativos. Das sete espécies identificadas neste estudo, apenas a infeção por *E. alijevi* e *E. ninakohlyakimovae* mostrou ser estatisticamente significativa na variável ganho médio diário ($p = 0,005$ e $p = 0,033$, respetivamente), quando comparadas com o grupo de animais negativos.

Palavras-Chave: Caprinos, *Eimeria*, infeção, ganho médio diário, Portugal.

Abstract

Eimeria spp. is a gastrointestinal parasitic disease that can lead to clinical or subclinical disease. This is dependent on the parasitic load in one given animal, pathogenicity of the infecting species, different production systems and animal management. Average daily gain is impacted in either clinical presentation, with young animals being more susceptible to infection.

The goal of the present study is to determine the *Eimeria* spp. infection presence and intensity in a caprine dairy farm in the central region of Portugal and the potential associations between infection with one or more species and its effect on the average daily gain.

A total of 105 kids were studied over a period of 21 days. Fecal samples were collected on two different periods and analyzed by the McMaster and Willis methods (quantitative and qualitative methods, respectively). Individual weight was obtained at the beginning and at the end of the study period, and average daily gain for each kid was determined. Average daily gain and remaining data were subjected to a variance analysis using General Linear Model Procedure (PROC GLM) of Statistical Analysis System®, 2017.

Eimeria spp. infection was found in 87.62% (92/105) of the kids, with an average of 453.10 oocysts per gram of feces. Seven different species of *Eimeria* were detected: *E. caprina* (39.05%), *E. arloingi* (38.10%), *E. caprovina* (36.19%), *E. alijevi* (29.52%), *E. christenseni* (29.52%), *E. ninakohlyakimovae* (20.95%) and *E. hirci* (15.24%). Infections by a single species were present in 24.76% (26/105) of cases, which impacted significantly the average daily gain ($p=0.012$), while mixed infections were found in 62.86% (66/105) of the total population studied.

Average daily gain was 20.17% higher in non-infected kids when compared with positive cases. Infection with *Eimeria* spp. was found to significantly affect this variable ($p=0.034$) for $p<0.05$. Of the seven species detected in this study, only the infection by *E. alijevi* and *E. ninakohlyakimovae* showed to be statistically significant to the variable average daily gain ($p=0.005$ and $p=0.033$, respectively), when compared to the negative animals group.

Key words: Goats, *Eimeria*, infection, average daily gain, Portugal.

1. Introdução

A eimeriose é uma doença provocada pelo género *Eimeria*, subclasse Coccidia que pertence ao filo Apicomplexa e ordem Eucoccidiida (Argüello & Campillo, 1999). Trata-se de um parasita ubiqüitário, sendo a sua erradicação muito difícil devido à sua grande prolificidade, à sua elevada prevalência e resistência às condições ambientais adversas (Deniz, 2009; Grilo & Carvalho, 2014).

As coccídeas do género *Eimeria* apresentam um ciclo de vida monoxeno (Figura 1), ou seja, precisam apenas de um hospedeiro para o concluírem. O ciclo é composto por uma fase exógena, que se inicia quando os oocistos não esporulados são excretados para o meio ambiente nas fezes do animal. Caso estejam reunidas as condições necessárias, nomeadamente de temperatura, humidade relativa e oxigénio, os oocistos esporulam em dois a sete dias consoante a espécie, tornando-se assim na forma infectante para os respetivos hospedeiros (Foreyt, 1990; Radostits *et al.*, 2006; Chartier & Paraud, 2012; Grilo & Carvalho, 2014).

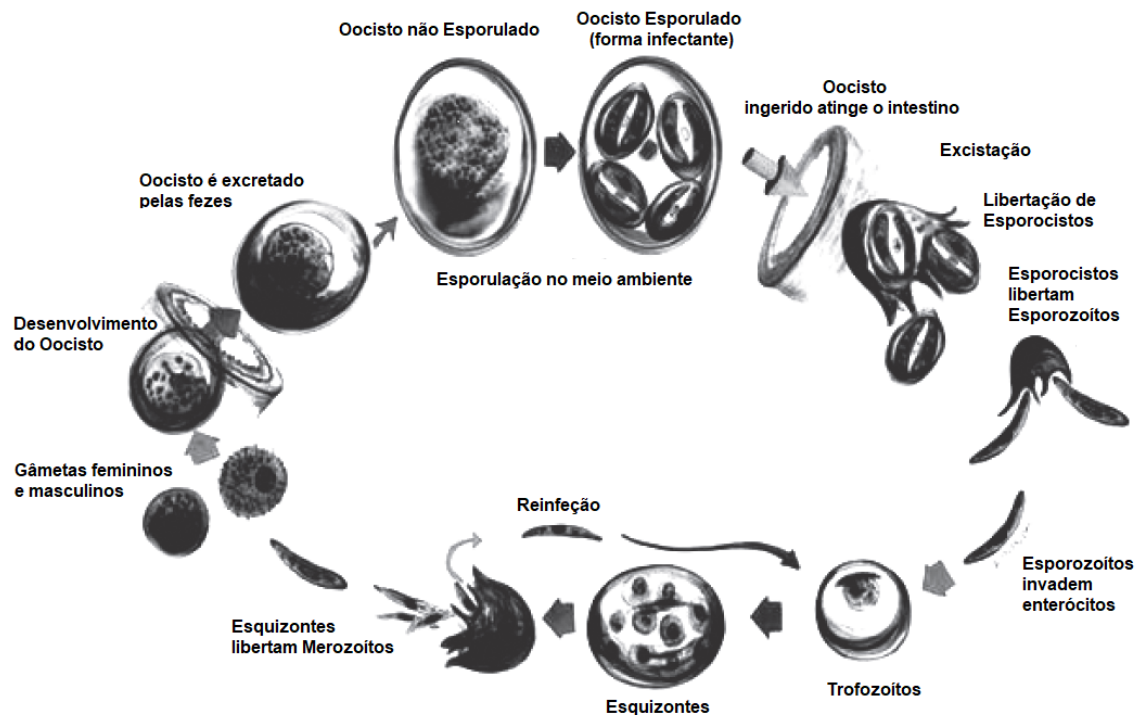


Figura 1 - Ciclo de vida do género *Eimeria* (Adaptado de Lassen, 2009).

Os animais ingerem os oocistos esporulados através de águas e alimentos contaminados, dando início à fase endógena do ciclo. No lúmen intestinal, devido à ação das enzimas digestivas, ocorre a excitação, com a libertação dos esporocistos e a de esporozoítos que posteriormente invadem os enterócitos onde se desenvolvem em trofozoítos, dando início à esquizogonia. Forma-se a primeira geração de esquizontes com libertação de merozoítos de primeira geração. Estes invadem novos enterócitos continuando assim a fase assexuada do ciclo e originando a segunda geração de merozoítos. Ocorre então a fase de reprodução sexuada, a gametogonia. Os gametócitos diferenciam-se em macrogametócitos e microgametócitos, que após desenvolvimento originam macrogâmetas (gâmetas femininos) e microgâmetas (gâmetas masculinos) (Foreyt, 1990; Radostits *et al.*, 2006; Chartier & Paraud, 2012; Grilo & Carvalho, 2014).

Por fim, ocorre a fecundação, com a união do macrogâmeta e microgâmeta, resultando na formação do zigoto, o qual após a formação de uma membrana que o envolve designa-se de oocisto (não esporulado). O ciclo exógeno inicia-se após excreção do oocisto pelas fezes do animal (Foreyt, 1990; Radostits *et al.*, 2006; Chartier & Paraud, 2012; Grilo & Carvalho, 2014).

Atualmente são conhecidas nove espécies de *Eimeria*, parasitas de caprinos, cuja caracterização morfológica dos oocistos encontra-se descrita na Tabela 1. As espécies *Eimeria ninakohlyakimovae* e *Eimeria arloingi* são as mais prevalentes na Europa e, em Portugal estão descritas todas as espécies. Apesar do género *Eimeria* ser pouco patogénico para os caprinos, as espécies *Eimeria ninakohlyakimovae* e *Eimeria christenseni* apresentam maior patogenicidade. A severidade clínica da parasitose está geralmente relacionada com a espécie e com a carga parasitária. A densidade animal, infraestruturas da exploração, transferência de imunidade passiva, manejo, higiene e desinfecção potenciam a carga ambiental que por sua vez estão diretamente correlacionados com a carga parasitária dos animais (Romero, 1984; Chartier & Paraud, 2012; Silva *et al.*, 2014; Grilo & Carvalho, 2014).

A eimeriose caprina apresenta um impacto económico significativo na produção animal e apresenta maior prevalência em animais jovens, normalmente até aos seis meses de idade, que exibem sinais clínicos três a oito semanas após infeção (Lima, 2004).

A infeção clínica caracteriza-se pela presença de diarreia severa e/ou hemorrágica, anemia, febre, desidratação, fraqueza, anorexia e dor abdominal (Argüello & Campillo, 1999; Grilo & Carvalho, 2014).

Em situações de infeção por espécies menos patogénicas, cargas parasitárias baixas ou imunidade adquirida competente, desenvolve-se uma infeção subclínica, caracterizada por uma menor eficiência alimentar com redução no ganho médio diário (GMD) e conseqüente atraso no crescimento que leva a perdas económicas para o produtor (Argüello & Campillo, 1999; Grilo & Carvalho, 2014).

A eimeriose aumenta ainda a suscetibilidade dos animais a outras patologias, como enterites de origem vírica e bacteriana, assim como pneumonias resultando em custos adicionais para o

produtor em tratamentos tal como perdas de GMD e atraso no crescimento dos animais (Koutny *et al.*, 2012).

Tabela 1 - Caracterização morfométrica dos oocistos de diferentes espécies do género *Eimeria*, parasitas de caprinos (Romero, 1984; Eckert *et al.*, 1995).

Espécie	Comprimento (µm)	Largura (µm)	Forma	Cor	Micrópilo	Opérculo
<i>E. alijevi</i>	15-23	12-22	Ovoide/ Elipsoidal	Incolor/Amarelo pálido	Ausente	Ausente
<i>E. arloingi</i>	17-42	13-27	Elipsoidal	Amarelo/Castanho	Presente	Presente
<i>E. aspheronica</i>	24-37	18-26	Ovoide	Amarelo/Castanho	Presente	Ausente
<i>E. caprina</i>	27-40	19-26	Ovoide	Amarelo/Castanho	Presente	Ausente
<i>E. caprovina</i>	26-36	21-28	Elipsoidal/ subesférica	Incolor	Presente	Ausente
<i>E. christenseni</i>	34-41	23-28	Ovoide	Incolor/Amarelo pálido	Presente	Presente
<i>E. hirci</i>	18-23	14-19	Oval	Amarelo claro	Presente	Presente
<i>E. jolchijevi</i>	26-37	18-26	Elipsoidal/ Ovoide	Amarelo pálido	Presente	Presente
<i>E. ninakohlyakimovae</i>	20-22	14-16	Elipsoidal	Incolor	Ausente	Ausente

A coccidiose em ruminantes é responsável por perdas económicas de milhões de euros anuais em todo o mundo devido à mortalidade e morbilidade (Niilo, 1970; Fitzgerald, 1980; Maas, 2007; Temizel *et al.*, 2011). Tendo em conta o conhecimento científico já existente, o presente estudo tem como objetivos identificar e quantificar *Eimeria* spp. em caprinos de uma exploração e avaliar o seu impacto no GMD da recria de uma exploração leiteira de caprinos.

A identificação e quantificação foram realizadas através de análises coprológicas pelo método quantitativo de McMaster e pelo método qualitativo de Willis. O estudo quantitativo permitiu calcular o nível de infeção parasitária dos animais através do valor da contagem de oocistos por grama de fezes (OOPG) e, apesar de também permitir identificar as espécies de *Eimeria*, a observação morfométrica e respetiva identificação específica foi realizada pelo estudo qualitativo utilizando os parâmetros referidos na Tabela 1 e na Tabela 7 (Anexo 3).

Os animais em estudo foram pesados em dois momentos, com 21 dias de intervalo, e dessa forma calculado o GMD.

2. Materiais e Métodos

2.1. Caracterização da Exploração

O estudo foi realizado em junho de 2017, numa exploração localizada em Ferreira de Zêzere (39°43'37.1"N 8°19'39.1"W), com 1000 caprinos de produção de leite, da raça Murciana Granadina em regime intensivo. O manejo reprodutivo da exploração assenta na cobrição natural com sincronização do estro. Os animais encontram-se agrupados em lotes de cobrição, sendo realizado um período de secagem de 45 dias. O lote de fêmeas em pré-parto é colocado em parque separado com programa de higienização e vazio sanitário prévio com 30 dias de duração.

Após o parto os cabritos são separados das progenitoras. É realizada a assepsia do umbigo com iodopovidona e administrado um suplemento de vitamina E e selénio (Duphafra[®] E-Se, 1mL via intramuscular por animal). O encolostramento, é realizado mediante a administração de duas tomas, nas primeiras seis e até às 12 horas de vida, respetivamente. Em cada toma é administrado um volume correspondente a cerca de 15% do peso vivo, de colostro pasteurizado.

Os cabritos são separados em lotes de 40 a 50 animais cada. Os cabriteiros, abrigados num pavilhão em policloreto de polivinila, com chão em *slats*, sendo construídos para facilitar a limpeza e evitar o contacto com os dejetos.

Após o encolostramento a alimentação dos cabritos consiste numa ração de pré-iniciação, leite de substituição e água, disponíveis *ad libitum*, desde o primeiro dia de vida. O leite de substituição é administrado a 38°C com uma tetina para 15 a 20 cabritos. O desmame é realizado de forma progressiva ao longo de uma semana e inicia-se quando a quantidade de leite e de ração ingerida é semelhante. Após o desmame, é feita a transição para o alimento de iniciação, ao longo de uma semana. Passado uma semana de consumo exclusivo de alimento de iniciação os animais são mudados para outro parque, devidamente limpo e higienizado, com camas de palha. Este parque é dotado de dispensadores de ração de queda automática, tapete de palha e de acesso ao exterior, sem pastagem. A densidade é inferior a um animal por 1,2m² e há um acréscimo diário de 200g por animal/dia de palhas para as camas, sendo a palha retirada totalmente e repostada de dois em dois meses.

Os animais jovens são desparasitados às quatro semanas de vida para coccídeos intercalando, entre lotes, com diclazuril (Vecoxan[®], 1mL de suspensão por 2,5Kg de peso vivo por via oral) e toltrazuril (Baycox Multi[®], 0,4mL por Kg de peso vivo via oral). Os animais jovens são ainda vacinados, com uma vacina inativada contendo toxóide beta e épsilon de *Clostridium perfringens*, toxóide de *Clostridium septicum*, *Clostridium tetani*, *Clostridium novyi*, *Clostridium chauvoei*, *Pasteurella trehalosi* e células mortas de *Mannheimia haemolytica* (Heptavac P Plus[®], 2mL por via subcutânea aos 45 dias com reforço passado 21 dias e reforços sucessivos de quatro em quatro meses). Os animais são vacinados com uma vacina atenuada de *Chlamydia*, (Ovilis Enzovax[®], 2mL por via subcutânea) e vacina atenuada para Paratuberculose (Gudair[®], 2mL por

via subcutânea aos 120 dias com um intervalo de 21 dias entre elas), cuja Autorização de Utilização Especial é requerida e autorizada pela Direção-Geral de Alimentação e Veterinária, uma vez que esta vacina não é comercializada em Portugal (CZV, s.d.; DGAV, 2013; DGAV, 2014; DGAV, 2017a; DGAV, 2017b).

2.2. Amostragem

O presente estudo foi realizado entre os dias cinco e 26 de junho de 2017. A amostra incluiu 105 indivíduos (n=105), todos do sexo feminino e com idade média de quatro meses, sendo a diferença de idade, não superior a duas semanas, entre animais provenientes de um só lote de partos.

Os animais foram pesados em dois momentos, com 21 dias de intervalo. Foi utilizado um aparelho de pesagem único, com o certificado número 285/2017, calibrado em 21 de abril de 2017, sendo as pesagens processadas de acordo com o seguinte protocolo:

1. Colocar a balança no parque de espera da ordenha;
2. Calibrar a balança;
3. Dividir em grupos, de 15 animais, de forma a limitar o espaço de fuga perto da área de pesagem;
4. Pesar e marcar individualmente cada animal;
5. Registar o peso e identificação do cabrito em tabela previamente disponível;
6. Libertar cabritos já pesados para outra área destinta;
7. Repetir o procedimento em todos os animais em estudo.

Para cada animal, foi determinado o GMD individual a partir das duas pesagens utilizando a fórmula $(P2-P1)/21$, onde 21 é o total de dias entre a pesagem inicial (P1) e pesagem final (P2), sendo que foram pesados no dia zero e no dia 21 de estudo.

Nesses mesmos animais foram realizadas duas recolhas de amostras fecais individuais, a primeira no dia um de estudo e a segunda no dia 22, com 21 dias de intervalo, ambas realizadas de acordo com o seguinte procedimento:

1. Colocar dois sacos resistentes fora do alcance dos cabritos, um vazio para colocação de recipientes já identificados e com amostra fecal, outro com os recipientes vazios prontos a utilizar;
2. Recolher, cerca de 40g de fezes, com luva e diretamente da ampola retal;
3. Colocar num recipiente individual devidamente identificado, com o número de identificação do brinco escrito a caneta de acetato;
4. Acondicionar e transportar as amostras numa caixa isotérmica com acumuladores de gelo;
5. Armazenar as amostras refrigeradas a 5-7°C, em frigorífico.

2.3. Procedimento Laboratorial

As amostras de fezes foram processadas no Laboratório de Parasitologia da Escola Universitária Vasco da Gama. Foram realizados, em conformidade com procedimentos protocolares listados em anexo, método coprológico quantitativo de McMaster (Anexo 1) e método coprológico qualitativo de Willis (Anexo 2).

Foram considerados resultados negativos os animais em que não foram observados oocistos de *Eimeria*, em ambas as amostras fecais analisadas pelo método de McMaster, sendo este grupo considerado a classe de referência para as análises estatísticas. Os animais que apresentaram, pelo menos uma das duas amostras fecais recolhidas, com valores iguais ou superiores a 50 OOPG no método de McMaster, foram considerados positivos.

Foram ainda considerados animais com infeções simples, aqueles em que foi observado só uma espécie de *Eimeria*, e animais com infeções mistas, aqueles em que foi observado mais do que uma espécie de *Eimeria*.

O método de Willis, foi realizado para o estudo morfométrico, e respetiva identificação das diferentes espécies de *Eimeria*. De acordo com características referidas na Tabela 1 e na Tabela 7, em anexo (Anexo 3).

2.4. Análise Estatística

O GMD foi considerado como variável de resposta e submetido a análise de variância, com o *General Linear Model Procedure* (PROC GLM) do programa *Statistical Analysis System*®, 2017, com diversos modelos que incluíram o efeito da positividade ao género *Eimeria* e suas espécies, a presença de infeções mistas e os valores médios de OOPG. Foi considerado um valor de prova de $p < 0,05$.

Nos resultados apresentados, foram principalmente incluídos fatores ou interações que individualmente influenciaram significativamente a variância.

3. Resultados

3.1. Infecção

A proporção de cabritos infetados por *Eimeria* foi de 87,62% (92/105), sendo que nenhum destes animais apresentou sinais clínicos no momento da recolha de fezes. Em 12,38% (13/105) dos animais não foram observados oocistos em nenhuma das amostras fecais analisadas pelo método de McMaster.

A carga parasitária observada, expressa em OOPG, foi em média 453,10, a mediana de 175 OOPG, valor mínimo de 50 OOPG e valor máximo de 14 800 OOPG, como se pode observar na Tabela 2.

Tabela 2 - Carga parasitária expressa em OOPG, para o género *Eimeria*.

Animais (n=105)		Contagem de OOPG				
Positivos	Negativos	Média	Mínimo	Mediana	Máximo	Desvio Padrão
87,62% (92)	12,38% (13)	453,10	50	175	14 800	1 482,86

Foi ainda realizada a análise de variância da variável GMD com máximos, médias e quartis de OOPG (25%, 50%, 75% e 100%), no entanto sem resultados significativos.

Através da avaliação morfométrica dos oocistos, foram observadas sete espécies, das quais as mais prevalentes foram *E. caprina*, *E. arloingi* e *E. caprovina*. As menos prevalentes foram *E. ninakohlyakimovae* e *E. hirci*. Os valores de infecção e as percentagens relativas à prevalência das espécies estão sumariadas na Tabela 3 e representadas no Gráfico 1, sendo que os dados refletem apenas os animais positivos no total de 92 indivíduos.

Tabela 3 - Frequências absolutas e relativas das espécies de *Eimeria* isoladas na exploração.

Espécies	Amostras		Frequência Relativa
	N	Positivas	
<i>E. caprina</i>	92	41	39,05%
<i>E. arloingi</i>	92	40	38,10%
<i>E. caprovina</i>	92	38	36,19%
<i>E. alijevei</i>	92	31	29,52%
<i>E. christenseni</i>	92	31	29,52%
<i>E. ninakohlyakimovae</i>	92	22	20,95%
<i>E. hirci</i>	92	16	15,24%

As Figuras 2, 3, 4 e 5 correspondem a fotografias de oocistos indiferenciados, das diferentes espécies de *Eimeria* observados em microscopia ótica (MO), a 400x no estudo morfométrico realizado com o método de Willis.



Figura 2 - Oocisto de *Eimeria caprina* (MO, 400x).



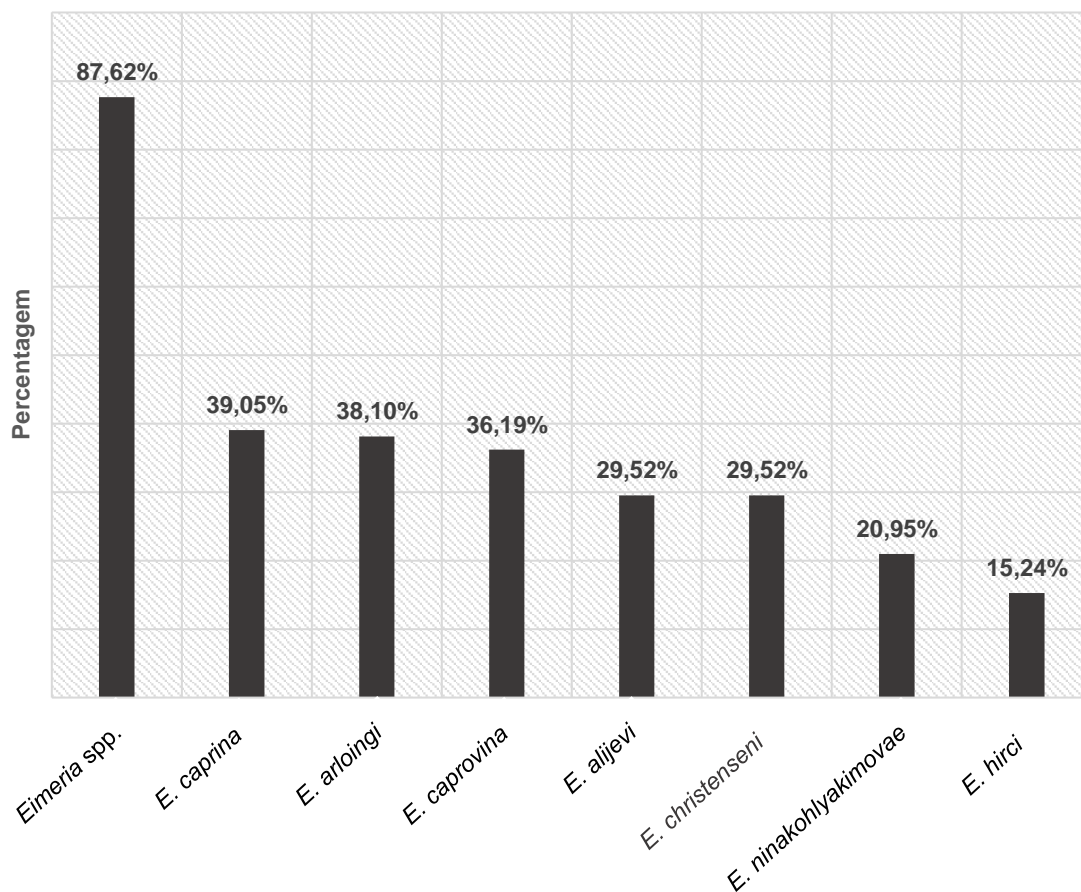
Figura 3 - Oocisto de *Eimeria arloingi* (MO, 400x).



Figura 4 - Oocisto de *Eimeria alijevi* (MO, 400x).



Figura 5 - Oocisto de *Eimeria ninakohlyakimovae* (MO, 400x).



Gênero *Eimeria* e respectivas espécies

Gráfico 1 - Frequência relativa da infecção por *Eimeria* e pelas diferentes espécies observadas.

Do total de animais infetados (n=92), 26 (24,76%) apresentavam infecções simples, com apenas uma espécie de *Eimeria* sendo que a espécie mais prevalente foi *E. alijevi* com 27%. Os restantes 66 animais (62,86%) apresentavam infecções mistas.

Em 29 animais (27,62%) foram observadas infecções mistas, com duas espécies diferentes de *Eimeria*, nomeadamente com *E. caprovina* e *E. caprina* (13,79%), *E. arloingi* e *E. caprovina* (10,34%) e *E. arloingi* e *E. christenseni* (10,34%). Em 22 animais (20,95%) foram observadas infecções com três espécies de *Eimeria*, em oito animais (7,62%) com quatro espécies, cinco animais (4,76%) com cinco espécies e em dois animais (1,90%) foram observadas seis espécies diferentes.

A frequência relativa das infecções simples e das infecções mistas encontra-se representada no Gráfico 2.

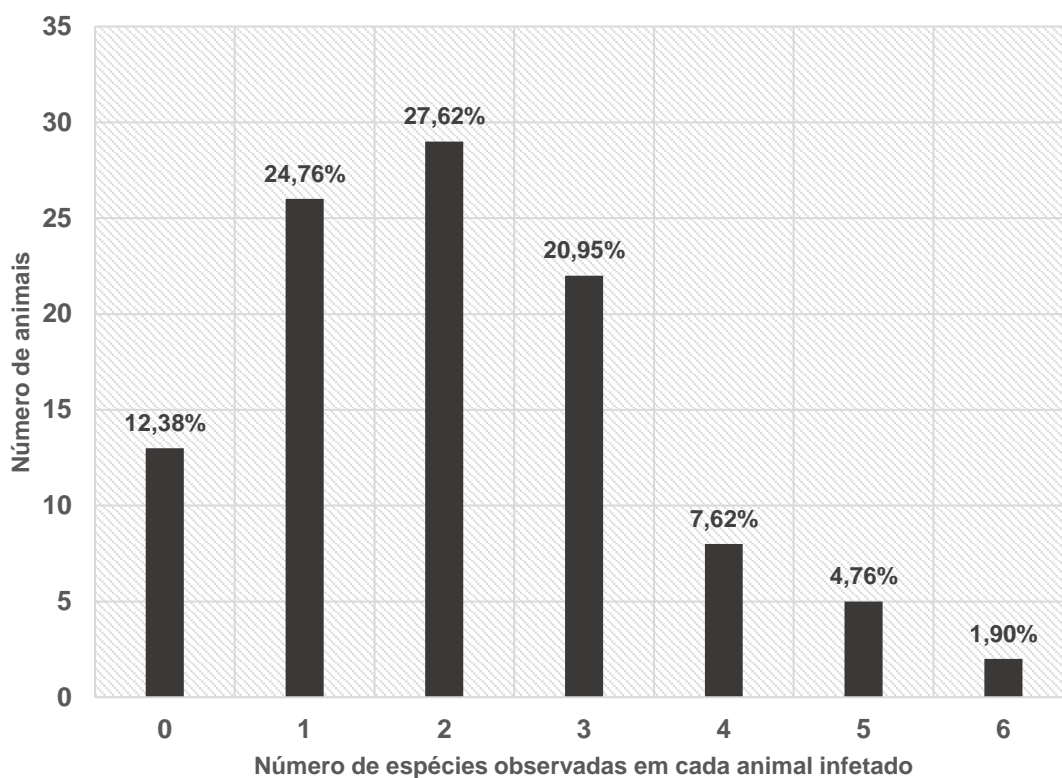


Gráfico 2 - Animais negativos e animais com infecções simples e mistas, observados durante o período de estudo.

3.2. Ganho Médio Diário

O GMD foi calculado individualmente e para todos os animais. O diferencial de peso entre a P2 e a P1 foi dividido pelo número de dias que as separou (21 dias). Os valores observados encontram-se reportados, de forma detalhada e individual na Tabela 7 (Anexo 4). O valor médio do GMD global da amostra observada foi de 143,56g, com valores mínimos e máximos de 47,62 e 400g respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4 - Caracterização do ganho médio diário global da amostra estudada.

	N	Média	Mediana	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Quartil Baixo	Quartil Alto
Amostra	105	143,56g	133,33g	56,04g	47,62g	400g	105,95g	176,19g

Foi analisada a variação do GMD em função da ausência ou da presença de infecção. Os animais não infetados foram considerados como classe de referência. O valor médio do GMD dos animais negativos e positivos ao género *Eimeria* foi de 174,36g e 139,20g respectivamente, o que

representou uma redução significativa de 20,17% ($p=0,034$) (Gráfico 3). A Tabela 5 apresenta o GMD dos animais positivos ao género *Eimeria* e dos animais positivos a cada espécie observada, assim como o valor de p para a comparação com a classe de referência. Observou-se que *E. alijevi* e *E. ninakohlyakimovae* influenciaram significativamente a variável GMD, quando comparadas com a classe de referência, com reduções de 29,70% ($p=0,005$) e 23,90% ($p=0,033$), respetivamente.

Tabela 5 - Diferenças no ganho médio diário em função da positividade ao género e às diferentes espécies de *Eimeria*.

	Média de GMD	Desvio Padrão	Valor de p
Animais Negativos	174,36g (n=13)	15,14	
Animais Positivos	139,20g (n=92)	47,51	0,034*
<i>E. alijevi</i>	122,58g (n=31)	9,73	0,005*
<i>E. arloingi</i>	150,24g (n=40)	8,63	0,169
<i>E. caprina</i>	146,28g (n=41)	8,59	0,112
<i>E. caprovina</i>	145,86g (n=38)	8,94	0,111
<i>E. christenseni</i>	141,63g (n=31)	9,94	0,076
<i>E. hirci</i>	140,48g (n=16)	13,84	0,104
<i>E. ninakohlyakimovae</i>	132,68g (n=22)	11,78	0,033*

*($p<0,05$)

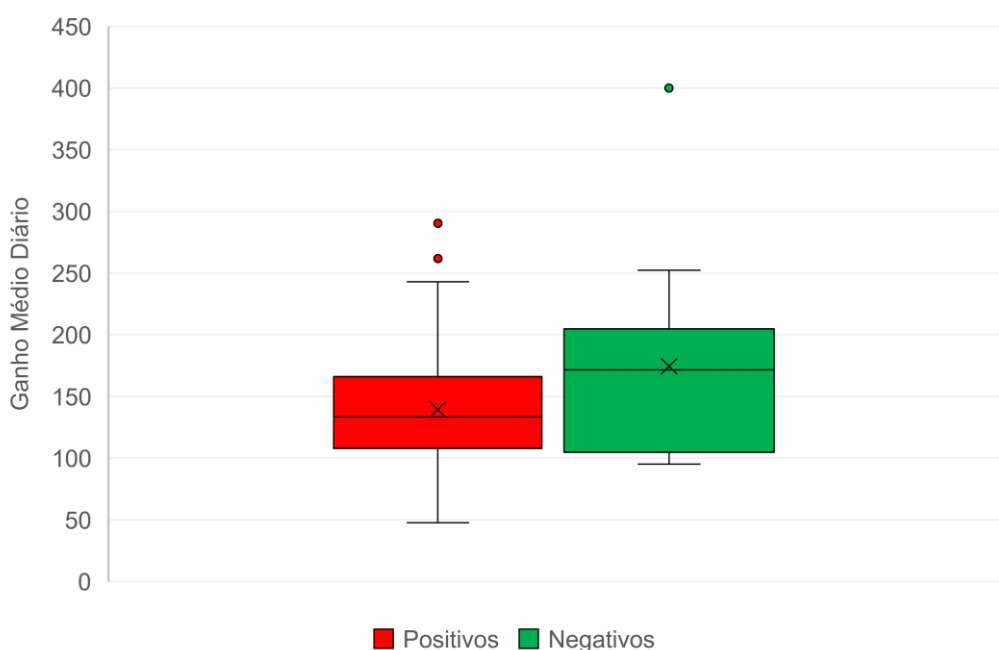


Gráfico 3 - Diferenças dos valores do ganho médio diário quando comparados animais positivos e negativos ao género *Eimeria*.

O Gráfico 4 e Gráfico 5 resultam da análise da diferença dos quadrados mínimos. Estes representam, respetivamente, os animais positivos à espécie *E. alijevi* e *E. ninakohlyakimovae*, quando comparados com o grupo de animais negativos ao género *Eimeria* e quando comparados com o grupo de animais positivos ao género, mas negativos à própria espécie.

Para além de ambas influenciarem significativamente o GMD dos animais positivos às espécies, a espécie *E. alijevi* também influencia significativamente quando comparado o grupo de animais positivos à espécie e o grupo de animais infetados por outras espécies que não a própria *E. alijevi*, com $p=0,038$.

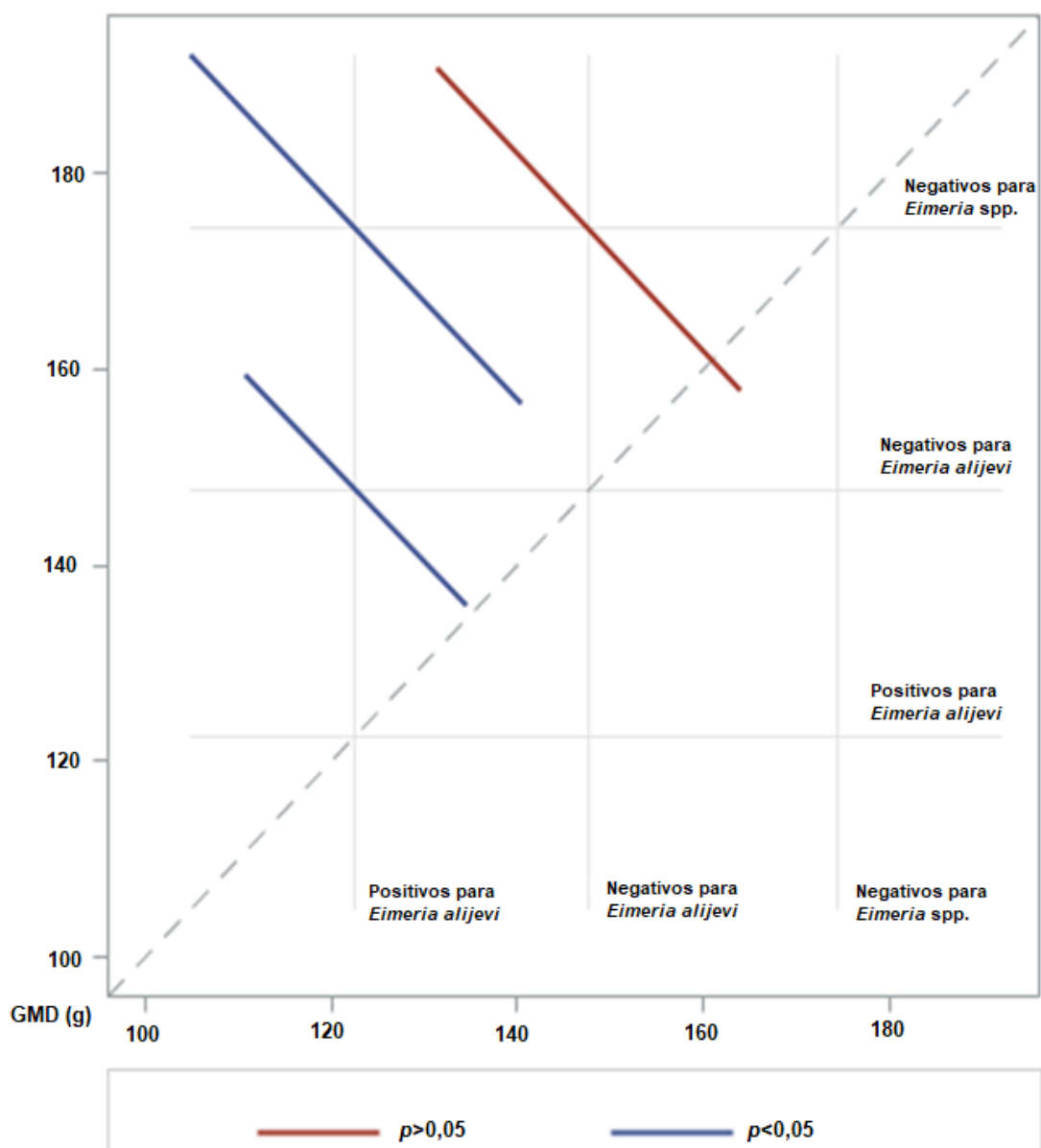


Gráfico 4 - Diferenças dos valores do ganho médio diário quando comparados animais positivos e negativos à espécie *Eimeria alijevi* e negativos ao género *Eimeria*.

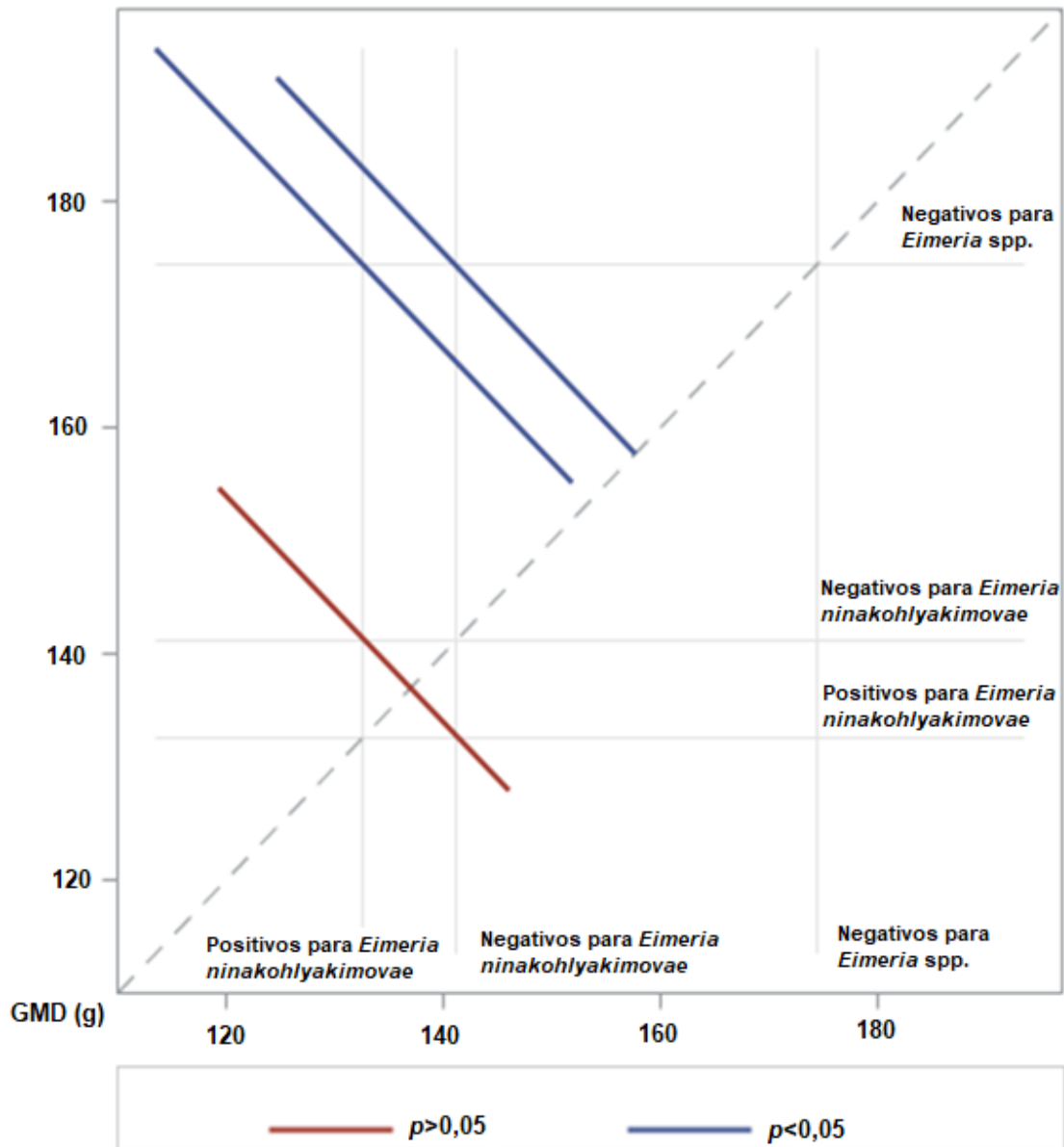


Gráfico 5 - Diferenças dos valores do ganho médio diário quando comparados animais positivos e negativos à espécie *Eimeria ninakohlyakimovae* e negativos ao género *Eimeria*.

Em relação aos animais com infeções simples, foi observado que o grupo parasitado apenas com uma espécie apresentou uma média de GMD, de 126,47g, uma redução de 27,47% em GMD quando comparados com o grupo de animais negativos. Por sua vez, animais com infeções mistas, apresentaram médias em GMD de 144,23g o que representa uma redução de 17,28% quando comparados também com o grupo de animais negativos. Foi ainda observado um valor de p significativo ($p=0,012$) quando os animais com infeções simples são comparados com o grupo de animais negativos. Esta informação pode ser observada no Gráfico 6 e Tabela 6, onde apresenta as diferenças entre grupos, para além de informação sobre cada um deles.

Tabela 6 - Diferenças dos valores do ganho médio diário entre animais com infecções simples e mistas e grupo de animais negativos, com respectiva análise de variância entre os grupos.

Infeção	GMD	Desvio Padrão	Negativos (valor de p)	Infeções Simples (valor de p)	Infeções Mistas (valor de p)
Negativos	174,36g	15,21g		0,012*	0,073
Infeções Simples	126,47g	10,75g	0,012*		0,165
Infeções Mistas	144,23g	6,75g	0,073	0,165	

*($p < 0,05$)

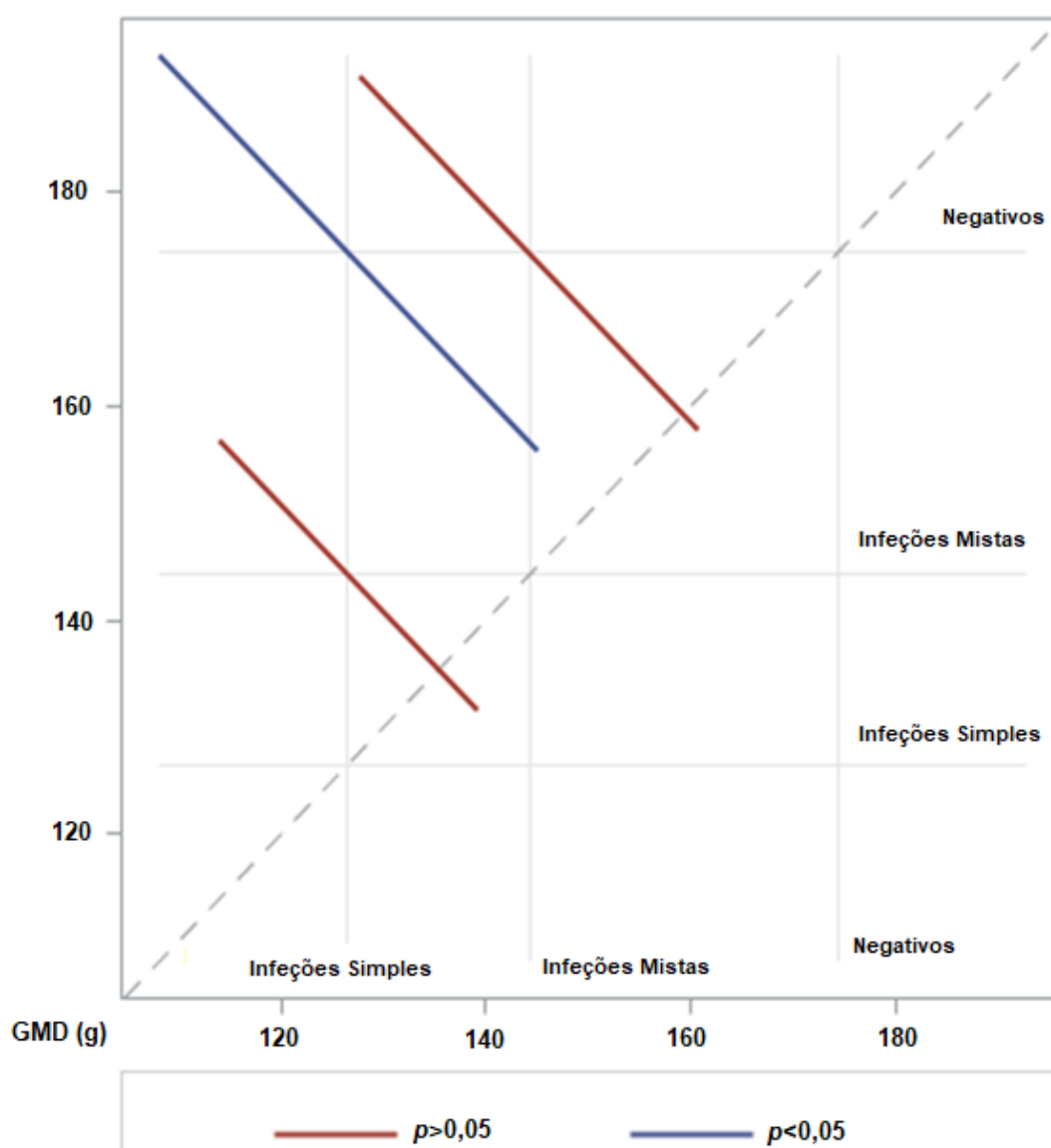


Gráfico 6 - Diferenças dos valores do ganho médio diário quando comparados entre animais negativos, animais com infecções simples e com infecções mistas.

4. Discussão e Conclusões

A caracterização e quantificação da presença de infecção por *Eimeria* em caprinos está ainda pouco documentada, sendo a bibliografia escassa, assim como em Portugal, no entanto, existem alguns trabalhos realizados; Lagares (2008) e Silva *et al.*, (2014) realizaram ensaios em explorações semi-intensivas com infecções de *Eimeria* de 100% e 98,61% respetivamente. No presente estudo a infecção foi menor (87,62%), sendo que a diferença poderá ser justificada pelo manejo e os diferentes regimes de produção, em ovinos segundo Gauly *et al.*, (2004) e em caprinos segundo Paredes (2010), as explorações extensivas apresentam valores de OOPG e níveis de infecção superiores às explorações intensivas.

Estudos em Portugal referem médias de OOPG entre 1 694,58 e 11 358 OOPG; no presente estudo observou-se uma média mais baixa (453,10 OOPG). De acordo com dados da exploração em estudo, na mesma época do ano de 2016, animais de idade semelhante apresentavam uma média de 1 285,65 OOPG. Sendo que a média obtida neste estudo foi de 453,10 OOPG, esta diminuição poderá dever-se a alterações de manejo que tiveram desde então com o objetivo de diminuir os fatores de risco de infecção. As alterações no manejo efetuadas foram: a colocação de *slats* nas instalações de amamentação dos cabritos, aumento da frequência da muda das camas na recria, desparasitação intercalada com dois princípios ativos diferentes, diclazuril e toltrazuril, aumento da frequência de limpeza e higienização de comedouros e bebedouros. Todas estas medidas de acordo com a bibliografia são ferramentas úteis no controlo de *Eimeria*, tendo impacto na prevalência e excreção da mesma (Bishop, 1997; Lima, 2004; McGarrity, 2011; Grilo & Carvalho, 2014).

Silva *et al.*, (2014) refere no seu estudo que mais de 50% dos animais estudados apresentaram infecções mistas de *Eimeria*, este resultado vai de encontro ao observado neste estudo, sendo que se observou em 62,86% (66/105) dos casos a presença de infecções mistas distribuídas da seguinte forma: 27,62% (29/105) dos animais foram positivos a duas espécies diferentes; 20,95% (22/105) a três espécies diferentes; 7,62% (8/105) a quatro espécies diferentes, 4,76% (5/105) a cinco espécies diferentes e 1,90% (2/105) a seis espécies diferentes. Foram ainda observadas infecções simples em 24,76% (26/105) dos animais.

Relativamente às espécies observadas neste estudo verifica-se que foram observadas sete espécies diferentes, não tendo sido identificado *E. jolchijevi* ao contrário de Paredes (2010) e Silva *et al.*, (2014) assim como não foi identificado *E. aspheronica*, apenas identificada por Silva *et al.*, (2014). Apesar de Paredes (2010) ter observado *E. aspheronica*, a prevalência desta foi muito baixa, tal como em Silva *et al.*, (2014) que também obteve uma prevalência baixa e, tal como observado com *E. jolchijevi*. Estas baixas prevalências podem explicar o facto de neste estudo não ter sido observado nenhum oocisto de ambas as espécies.

As espécies mais frequentemente identificadas foram *E. caprina* (39,05%), *E. arloingi* (38,10%), *E. caprovina* (36,19%). Segundo Koudela & Boková (1998) e Argüello & Campillo (1999), *E. ninakohlyakimovae* é uma das espécies mais prevalentes, no entanto Silva *et al.*, (2014) refere que *E. ninakohlyakimovae* apresenta prevalências mais baixas, quando comparada com outras espécies, em animais com menos de um ano, tal como observado neste estudo (prevalência de 20,95%).

Relativamente ao GMD observa-se neste estudo que os animais negativos (13/105) ao género *Eimeria* obtiveram um desempenho melhor (valor médio de 174,36g) quando comparados com os animais positivos (92/105), que apresentaram um GMD de 139,20g. Esta diferença ($p < 0,05$) representa uma redução de 20,17%, o que está de acordo com o descrito na bibliografia, que refere perdas associadas ao género *Eimeria* em ovinos por Gauly *et al.*, (2004) e em bovinos por Samson-Himmelstjerna (2006).

Os animais negativos ao género *Eimeria* apresentaram também um desempenho no valor médio do GMD superior em 27,47%, quando comparado aos valores médios do GMD dos animais positivos a apenas uma espécie de *Eimeria* (126,47g, $p = 0,012$) e a duas ou mais espécies de *Eimeria* em 17,28% (144,23g, $p = 0,073$). Este resultado pode ser explicado pelo facto de a espécie mais prevalente nas infeções simples ser *E. alijevi*, que foi a espécie que apresentou individualmente o maior impacto no GMD.

As espécies *E. alijevi* e *E. ninakohlyakimovae* tiveram um impacto significativo nos valores do GMD, de $p = 0,005$ e $p = 0,033$, respetivamente. Os animais positivos apenas à espécie *E. alijevi* (31/105), apresentaram GMD de 122,58g. Esta diferença representa uma percentagem de 29,70% quando comparados com o grupo de animais negativos ao género *Eimeria*. À presente data não é do conhecimento do autor a existência de nenhuma bibliografia que refira o impacto individual de *E. alijevi* nos ganhos médios diários.

Por sua vez, os animais positivos à espécie *E. ninakohlyakimovae* (22/105) apresentaram GMD de 132,68g e, quando comparados com os animais negativos esta diferença representa uma percentagem de 23,90%, sendo que *E. ninakohlyakimovae* está descrita na bibliografia como uma das espécies mais patogénicas, não obstante a redução do GMD da espécie *E. alijevi* observada ter sido superior a esta, no presente estudo (Romero, 1984; Chartier & Paraud, 2012; Grilo & Carvalho, 2014).

O próximo passo para estudos futuros, seria relacionar as diminuições do GMD com o aumento dos gastos a nível económico para o produtor, nomeadamente o atraso da idade à primeira cobertura de animais com peso inferior, quando comparados a animais não parasitados de idade semelhante, assim como a quantia monetária que corresponde esse atraso em alimentação e instalações. Animais nesta situação já deveriam estar a avançar para a primeira gestação, no entanto, precisam de recuperar a diferença perdida nos GMD ao longo do seu desenvolvimento e terem aptidão corporal necessária tal como os restantes animais para a primeira cobertura e posteriormente parição.

Poderá também ser investigada a influência das temperaturas e humidades relativas consoante às diferentes épocas e diferentes locais utilizados nos estudos existentes até à data em Portugal. Podendo esta diferença ter impacto, por exemplo, na influência de prevalência de infeção por certas espécies e nível de infeção parasitária presentes nas amostras, tendo em conta as condições climatéricas necessárias e ideais para o desenvolvimento do género *Eimeria*. Poderia ainda, ser estudado os gastos que o produtor tem na mortalidade, direta ou indiretamente afetada pelo género *Eimeria*, tal como tratamentos e tempo despendido nesses e em patologias oportunistas, em casos de eimeriose.

Referências Bibliográficas

Argüello, M. R. H., Campillo, M.C. (1999). Parasitoses del aparato digestivo: Coccidiosis. In: Campillo M.C., Vasquez, F.A.M., Fernandez, A.R.M., Acedo, M.C.S., Rodriguez, S.H., Lopez-Cozar, I.N., Baños, P.D., Romero, H.Q. & Varela, M.C. (Eds.), Parasitología veterinária. Madrid: McGraw-Hill - Interamericana, 195-212.

Bishop, Y. (1997). The Veterinary Formulary. *Veterinary Record*, 140, 314–314.
<https://doi.org/10.1136/vr.140.12.314>

Chartier, C., & Paraud, C. (2012). Coccidiosis due to *Eimeria* in sheep and goats, a review. *Small Ruminant Research*, 103(1), 84-92. <http://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.10.022>

CZV (s.d.) CZ Veterinaria - VADEMECUM. Última atualização: 2012. Disponível em: http://www.czveterinaria.com/common/VADEMECUM_czv.pdf Acedido em 12/05/2018.

Deniz, A. (2009). Coccidiose ovina: Revisão Bibliográfica. In *Albeitar* 2009. 3: 4-11.

DGAV - Direção Geral de Alimentação e Veterinária (2013), Anexo I Resumo das características do medicamento. Última atualização: julho de 2013. Disponível em: http://www.msd-animal-health.pt/Binaries/Heptavac-P-Plus_tcm61-162305.pdf Acedido em 07/05/2018.

DGAV - Direção Geral de Alimentação e Veterinária (2014), Anexo I Resumo das características do medicamento. Última atualização: julho de 2014. Disponível em: http://www.msd-animal-health.pt/Binaries/Ovilis-Enzovax_tcm61-190572.pdf Acedido em 07/05/2018.

DGAV - Direção Geral de Alimentação e Veterinária (2017a), Anexo I Resumo das características do medicamento. Última atualização: julho de 2017. Disponível em: <http://www.medvet.simpodium.pt/RCM/Index/4204> Acedido em 07/05/2018.

DGAV - Direção Geral de Alimentação e Veterinária (2017b), Anexo I Resumo das características do medicamento. Última atualização: julho de 2017. Disponível em: <http://medvet.dgav.pt/RCM/Index/4578> Acedido em 07/05/2018.

Eckert, J., Braun, R., Shirley, M. W., & Coudert, P. (1995). Biotechnology - Guidelines on techniques in coccidiosis research, 103-119.

Fitzgerald, P.R. (1980). The economic impact of coccidiosis in domestic animals. In *Adv Vet Sci Comp Med*. 24: 121-43.

- Foreyt, W. (1990). Coccidiosis and Cryptosporidiosis in Sheep and Goats. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 6(3), 655-670. [http://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30838-0](http://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30838-0)
- Gauly, M., Reeg, J., Bauer, C., & Erhardt, G. (2004). Influence of production systems in lambs on the *Eimeria* oocyst output and weight gain. *Small Ruminant Research*, 55(1–3), 159–167. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2004.02.001>
- Grilo, M., & Carvalho, L. M. de. (2014). Coccidiose em Ruminantes - Pequenos agentes e grandes problemas nas diarreias parasitárias, (September), 34-48.
- Koudela, B. & Boková, A. (1998). Coccidiosis in goats in the Czech Republic. *Vet Parasitol* 1998; 76(4): 261-7. [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00147-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00147-7)
- Koutny, H., Joachim, A., Tichy, A., & Baumgartner, W. (2012). Bovine *Eimeria* species in Austria. *Parasitology Research*, 110(5), 1893-1901. <http://doi.org/10.1007/s00436-011-2715-7>
- Lagares, (2008). Parasitoses de pequenos ruminantes na região da Cova da Beira, Tese de Mestrado. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa.
- Lassen, B. (2009) Diagnosis, epidemiology and control of bovine coccidiosis in Estonia, Dissertação de Doutoramento. Tartu: Estonian University of Life Sciences.
- Lima, J. (2004). Coccidiose dos ruminantes domésticos. XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária & I Simpósio Latino-Americano de Ricketisioses, 9-13.
- Maas, J. (2007). Coccidiosis in cattle. *California Cattlemen's Magazine*. Disponível em: http://www.vetmed.ucdavis.edu/vetext/local_resources/pdfs/pdfs_beef/cca0711-coccidiosis.pdf
- McGarrity, M. (2011). Anthelmintic drugs and coccidiostats: anti-parasitic, 4(3), 7–9.
- Niilo, L. (1970). Bovine Coccidiosis in Canada. *The Canadian Veterinary Journal*, 11(5), 91–98.
- Paredes, (2010). Coccidiose em Pequenos Ruminantes, Tese de Mestrado. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa.
- Quiroz Romero, H. (1984). Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos, 120-140.

Radostits, O.M.; Gay, C.C.; Hinchcliff, K.W.; Constable, P.D. (2006). Diseases associated with protozoa. In *Veterinary Medicine – A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats*. 10th Ed. Saunders Elsevier. St. Louis. 1498-1506.

SAS Institute Inc., 2017. Copyright © 2017 SAS Institute Inc., Cary, NC, USA

Silva, L. M. R. da, Vila-Viçosa, M. J. M., Nunes, T., Taubert, A., Hermosilla, C., & Cortes, H. C. E. (2014). *Eimeria* infections in goats in Southern Portugal. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 23(2), 280-286. <http://doi.org/10.1590/S1984-29612014051>

Temizel, E., Selçuk, Ö, Çatık, S., & Bayram, Ş. (2011). Effect of Treatment with Cyindamycine in an Outbreak of Coccidiosis in Goat Kids in Turkey. *Journal of Biological & Environmental Sciences*, 5(13), 37–40.

Von Samson-Himmelstjerna, G., Epe, C., Wirtherle, N., Von Der Heyden, V., Welz, C., Radeloff, I., Krieger, K. (2006). Clinical and epidemiological characteristics of *Eimeria* infections in first-year grazing cattle. *Veterinary Parasitology*, 136(3–4), 215–221. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.11.022>

Zajac, A., Conboy, G. Greiner, E., Smith, S., Snowden, K. (2012) Fecal Examination for the Diagnosis of Parasitism. In: Zajac, A., Conboy, G. Greiner, E., Smith, S., Snowden, K. (Eds.) *Veterinary Clinical Parasitology*, 8th Edition. Iowa, USA: Wiley-Blackwell, 3-164.

Anexo 1

Método de McMaster (Eckert *et al.*, 1995; Zajac *et al.*, 2012)

1. Recolher 1g de fezes (da amostra original) e colocar num copo;
2. Adicionar (ao copo) 14mL de solução saturada previamente medidos numa proveta;
3. Homogeneizar (vareta);
4. Filtrar a solução obtida com um tamis para outro copo;
5. Preencher a câmara de McMaster com o auxílio de pipetas de *Pasteur*;
6. Observar ao microscópio (ampliação 100x);
7. Contagem de oocistos (contar apenas os oocistos sobre a linha lateral esquerda e a linha de baixo);
8. Calcular o valor OOPG [(número de oocistos/2) X 100];
9. Registrar resultados obtidos numa tabela;
10. Repetir para todas as amostras.

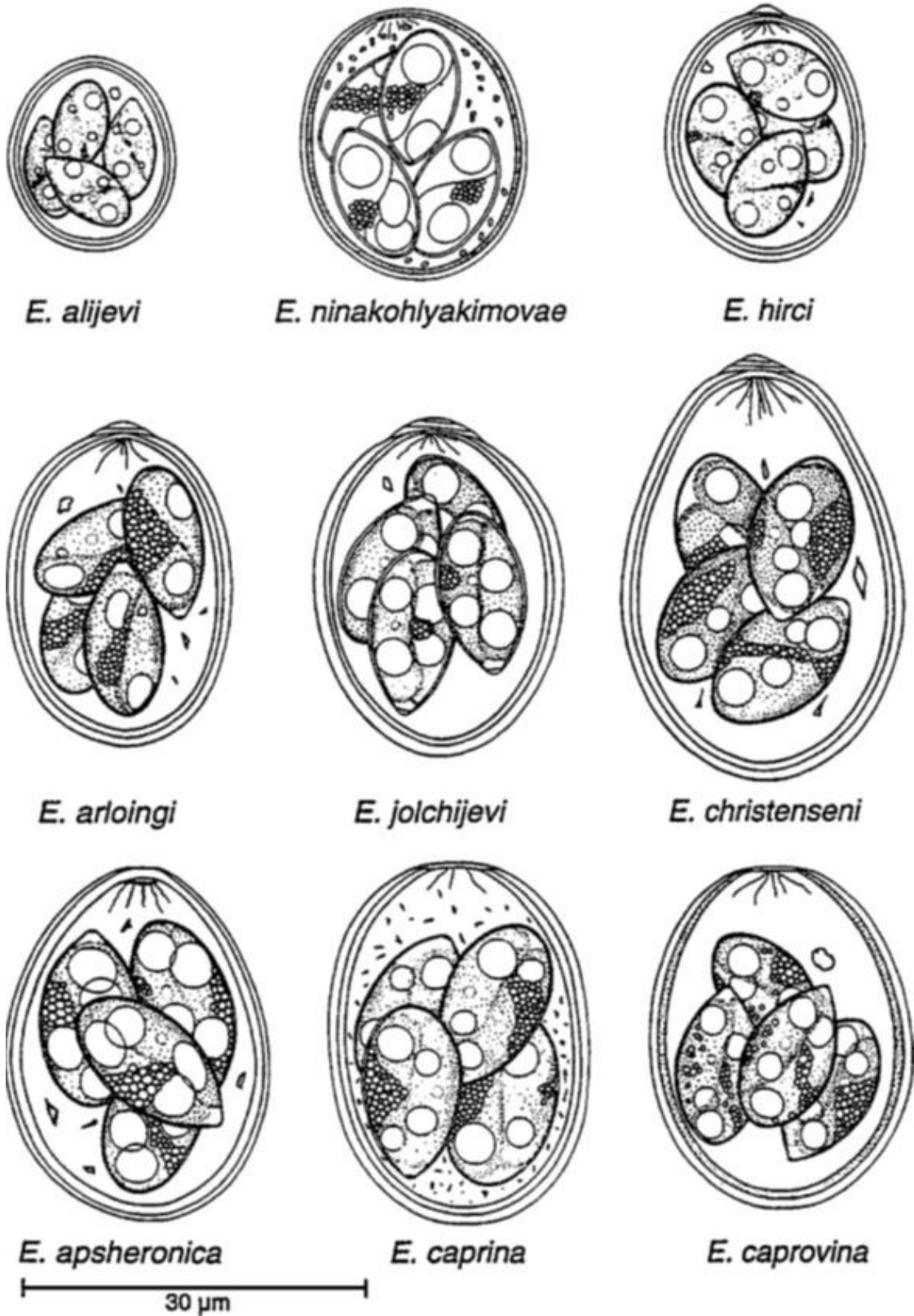
Anexo 2

Método de Willis (Eckert *et al.*, 1995; Zajac *et al.*, 2012)

1. Recolher 3g de fezes (da amostra inicial) e colocar num copo;
2. Homogeneizar (vareta) com solução salina saturada;
3. Filtrar com um tamis para outro copo;
4. Da suspensão resultante, retirar uma amostra para um tubo de ensaio com o auxílio de uma pipeta de *Pasteur* até perfazer dois terços deste;
5. Adicionar solução salina saturada até formar um menisco;
6. Colocar uma lamela sobre o menisco;
7. Esperar 10 minutos;
8. Colocar a lamela numa lâmina;
9. Observar ao microscópio;
10. Identificação da espécie de *Eimeria* (ampliação 400x);
11. Registrar resultados obtidos numa tabela;
12. Repetir para todas as amostras.

Anexo 3

Tabela 7 - Espécies de *Eimeria*, parasitas de caprinos (Adaptado de Chartier & Paraud, 2012).



Anexo 4

Tabela 8 - Diferenças entre ambas as pesagens e respectivo ganho médio diário individual.

Animal	Dif. de peso (Kg)	GMD (g)	Animal	Dif. de peso (Kg)	GMD (g)	Animal	Dif. de peso (Kg)	GMD (g)
1	2,00	95,238	37	3,30	157,143	73	2,70	128,571
2	3,80	180,952	38	2,90	138,095	74	4,00	190,476
3	3,20	152,381	39	2,30	109,524	75	4,60	219,048
4	2,80	133,333	40	2,70	128,571	76	2,95	140,476
5	4,20	200,000	41	2,70	128,571	77	1,50	71,429
6	3,60	171,429	42	3,20	152,381	78	3,20	152,381
7	4,10	195,238	43	6,10	290,476	79	3,70	176,190
8	1,80	85,714	44	2,90	138,095	80	2,75	130,952
9	4,20	200,000	45	4,80	228,571	81	2,80	133,333
10	5,30	252,381	46	2,90	138,095	82	2,90	138,095
11	3,80	180,952	47	2,50	119,048	83	3,40	161,905
12	3,35	159,524	48	1,60	76,190	84	4,80	228,571
13	2,20	104,762	49	1,50	71,429	85	2,65	126,190
14	3,10	147,619	50	2,15	102,381	86	1,60	76,190
15	3,20	152,381	51	1,70	80,952	87	2,75	130,952
16	2,20	104,762	52	1,65	78,571	88	4,60	219,048
17	3,50	166,667	53	3,95	188,095	89	1,00	47,619
18	2,40	114,286	54	3,25	154,762	90	3,00	142,857
19	1,10	52,381	55	2,70	128,571	91	3,80	180,952
20	2,50	119,048	56	2,50	119,048	92	4,20	200,000
21	2,50	119,048	57	4,40	209,524	93	4,60	219,048
22	1,80	85,714	58	2,50	119,048	94	5,50	261,905
23	3,70	176,190	59	2,60	123,810	95	2,80	133,333
24	4,20	200,000	60	1,60	76,190	96	2,60	123,810
25	2,00	95,238	61	3,80	180,952	97	3,90	185,714
26	1,30	61,905	62	2,85	135,714	98	2,05	97,619
27	2,80	133,333	63	2,20	104,762	99	2,40	114,286
28	1,15	54,762	64	1,35	64,286	100	1,30	61,905
29	2,20	104,762	65	8,40	400,000	101	3,00	142,857
30	3,60	171,429	66	4,50	214,286	102	4,70	223,810
31	2,40	114,286	67	2,25	107,143	103	2,75	130,952
32	3,40	161,905	68	2,75	130,952	104	1,05	50,000
33	3,00	142,857	69	2,00	95,238	105	5,10	242,857
34	2,95	140,476	70	3,15	150,000			
35	2,65	126,190	71	3,45	164,286			
36	2,60	123,810	72	2,20	104,762			