



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMIÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS ANIMAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL *Stricto sensu*
DOUTORADO EM CIÊNCIA ANIMAL

JOSIEL BORGES FERREIRA

**VALIDAÇÃO DO MÉTODO FAMACHA[®] PARA O CONTROLE DAS
ENDOPARASITOSE GASTRINTESTINAIS EM OVELHAS DA RAÇA
MORADA NOVA**

MOSSORÓ - RN
2021

JOSIEL BORGES FERREIRA

**VALIDAÇÃO DO MÉTODO FAMACHA[®] PARA O CONTROLE DAS
ENDOPARASITOSE GASTRINTESTINAIS EM OVELHAS DA RAÇA
MORADA NOVA**

Tese apresentada ao curso de Doutorado em Ciência Animal do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (*Strict sensu*) da Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA) como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Sanidade e Produção e Animal

Orientadora: Débora Andréa Evangelista Façanha, Profa. Dra.

MOSSORÓ - RN
2021

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

F383v Ferreira, Josiel Borges.
Validação do método FAMACHA® para o controle das endoparasitoses gastrintestinais em ovelhas da raça Morada Nova / Josiel Borges Ferreira. - 2021.
119 f. : il.

Orientador: Débora Andréa Evangelista Façanha.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, 2021.

1. análise multivariada. 2. especificidade. 3. Haemonchus contortus. 4. raças nativas. 5. sensibilidade. I. Façanha, Débora Andréa Evangelista, orient. II. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

JOSIEL BORGES FERREIRA

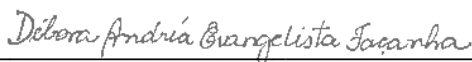
**VALIDAÇÃO DO MÉTODO FAMACHA® PARA O CONTROLE DAS
ENDOPARASIToses GASTRINTESTINAIS EM OVELHAS DA RAÇA
MORADA NOVA**

Tese apresentada ao curso de Doutorado
em Ciência Animal do Programa de Pós-
Graduação em Ciência Animal da
UFERSA, como requisito para obtenção
do título de Doutor em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Sanidade e Produção
Animal

Tese defendida e aprovada em 20 de janeiro de 2021.

BANCA EXAMINADORA



Profª Dra Débora Andréa Evangelista Façanha
UFERSA

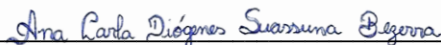
Orientadora, 1º Membro da banca examinadora



Profª Dra Magda Maria Guilhermino
Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN
2º Membro da banca examinadora



Profª Dra Cristina Santos Sotomaior
Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUCPR
3º Membro da banca examinadora



Profª Dra Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra
UFERSA

4º Membro da banca examinadora



Prof Dr José Ernandes Rufino de Sousa
UFERSA

5º Membro da banca examinadora

DADOS CURRICULARES DO AUTOR



Josiel Ferreira ingressou na UFRN no ano de 2010 e cursou bacharelado em Zootecnia, finalizando o curso em dezembro de 2015. Durante sua formação como Zootecnista, participou de atividades de ensino (monitoria nas disciplinas de Anatomia dos Animais Domésticos, Bovinocultura de Leite e Bovinocultura de Corte), participou de pesquisas voltadas a adaptação de ruminantes em regiões semiáridas e projetos de extensão nos municípios do Seridó Oriental, sendo estas atividades associadas ao Departamento de Morfologia da UFRN, ao Departamento de Ciências Animais da UFRSA e ao “Grupo de Estudos em Produção Sustentável do Rio Grande do Norte (GEPARN)”. No trabalho de conclusão de curso, sob orientação da Prof^a. Dra. Magda Guilhermino, trabalhou em associação com o “Laboratório de Fisiologia Adaptativa e Recursos Genéticos Animais - LATIVA” e o “Grupo de Estudos em Fisiologia Adaptativa de Ruminantes Nativos – NATIVA da UFRSA, em contribuição com a EMBRAPA caprinos e ovinos, no projeto “Caracterização e bases para o melhoramento genético de ovinos da raça Morada Nova”. Em março de 2016, ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA-UFRSA), sob orientação da Prof^a. Dra. Débora Façanha e concluiu o mesmo no período de 16 meses, ingressando concomitantemente, via mudança de nível (Mestrado para o Doutorado), no curso de Doutorado do mesmo programa. Durante seu percurso no curso de Doutorado, foi representante discente durante um ano, participou de bancas examinadoras em outras universidades e atualmente participa como membro editorial de periódicos nacionais e internacionais, além de trabalhar em parceria direta com a Universidade Estadual do Vale Acaraú (UVA), a Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cernagen) e a *Facultad de Ciencias Agrarias (FACA, Argentina)*, realizando parcerias para publicações de artigos científicos em periódicos de diferentes áreas, palestras e organização de eventos. Já publicou cerca de 30 artigos nos últimos 5 anos e possui experiência nas áreas associadas a sistemas de produção animal, saúde e produção animal e análise multivariada.

*Aos meus Pais (Deda e Ene),
aos meus irmãos (Nildo e Nilda),
aos meus sobrinhos (Pedro, Sophie e Luis),
aos meus cunhado e cunhada (Fábio e Andreza),
ao amor da minha vida (Saulo),
dedico.*

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos são pontuais e tenho certeza de que não vou esquecer quem realmente é importante pra mim...

Meu primeiro agradecimento é ao **Sr. Deus**, pois ele criou tudo e todos no universo, fazendo disso vida e luz, nossa fonte preciosa, obrigado Senhor.

Aos elementos que usamos como ferramenta principal no exercício da **Zootecnia** e todas as outras profissões vinculadas as Ciências Agrárias, a **fauna e a flora**, além dos **recursos naturais** (água, solo e ar) e toda biodiversidade do planeta.

A toda a equipe que gira as engrenagens das Universidade, principalmente da **UFERSA**, no que se enquadra o **Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal** (PPGCA), além dos **setores administrativos**.

Aos **amigos** que carregarei para vida, amigos que eu cuidei, briguei, ri e abracei, que cuidaram de mim, amigos que sempre serão quem eles realmente são. Obrigado Rogeane, Monalisa, Aquilina e Géssica.

Aos que me acolheram como **família**, meus sinceros agradecimentos a Neidinha, Aquilina, Matheus e Arthur (13º Andar) e também a Ana Paula, Edson e Dudu (11º andar).

Ao meu **parceiro** de toda hora, pelo apoio e incentivo diário... Saulinho, você foi fundamental nessa fase final, te amo!

Aos **profissionais** que admiro pela sabedoria e inteligência, e que acima de tudo, me ajudaram prontamente no ato de “ensinar e ser ensinado” sobre a vida: Profª Magda Guilhermino, Danielle Sales, Robson Silveira, Profº José Ernandes, Profª Ana Carla, Profª Valéria Veras, Profª Angela Vasconcelos, Profª Cristina Sotomaior e Prof Ivan Sampaio (*in memoriam*).

A **outros profissionais** que me conduziram nas diferentes atividades, a toda equipe da UFRN, LATIVA, LABGEMA e NATIVA aos professores que me orientaram em

diversas linhas de pesquisa, ensino e extensão, e produtores rurais que contribuíram fortemente para o meu aprendizado social, teórico e prático.

A **EMBRAPA caprinos e ovinos**, financiadora do projeto: “Estratégias de manejo considerando as características adaptativas, características produtivas, reprodutivas e de resistência de ovinos Morada Nova”.

A cidade de **Mossoró**, que me acolheu de braços abertos como um filho e que me deu de presente pessoas que vão ficar marcadas na minha vida...

Aos meus **familiares**, pelo apoio incondicional na minha vida pessoal, profissional e na formação do meu caráter.

A minha **orientadora, Profª Débora Façanha** que dedicou tempo e na minha formação e me apoiou nas minhas ideias e desafios durante o percurso do curso de Mestrado-Doutorado.

E a minha **amiga Débora**, pela pessoa querida e parceira nas horas *ex situ* da Universidade. Foram momentos maravilhosos e inesquecíveis, foi um prazer vivê-los com você!

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a concretização de uma das muitas etapas mais importantes da minha vida.

Meus sinceros agradecimentos!

EPÍGRAFE

“A natureza separa por sobrevivência, o homem por aparência.

É da guerra da natureza, da fome e da morte que o mais elevado objetivo que somos capazes de conceber, ou seja, a produção dos animais superiores advém naturalmente. A grandeza nessa visão de vida, de que enquanto este planeta foi girando de acordo com a lei da gravidade, a partir de um início muito simples, infinitas formas evoluíram e continuam evoluindo”.

A Origem das Espécies

Charles Darwin

APRESENTAÇÃO DA TESE

Esta Tese foi originada a partir de parcerias entre a UFERSA e a Embrapa ovinos e caprinos. Nela, são abordadas questões acerca das ferramentas de avaliação das endoparasitoses gastrintestinais em ovelhas da raça Morada Nova, dividida em três capítulos (I – Controle sustentável de parasitos gastrintestinais na produção de ovinos; II - Sensibilidade e especificidade do sistema FAMACHA[®] em ovelhas da raça Morada Nova; III – Avaliação do sistema FAMACHA[®] em ovelhas da raça Morada Nova sob abordagem multivariada). O capítulo II está publicado no periódico *Tropical Animal Health and Production* (<https://www.springer.com/journal/11250/>) e o capítulo III está parcialmente publicado no periódico *Veterinary Parasitology* (<https://www.journals.elsevier.com/veterinary-parasitology>) e parcialmente submetido no periódico *Tropical Animal Health and Production*.

A Tese trata de uma temática relevante para a elaboração de estratégias sanitárias para rebanhos da raça Morada Nova, levando em consideração o risco de extinção e perda de material genético, diagnosticado pelos núcleos de criadores da raça Morada Nova. Também são analisados métodos tradicionais de diagnóstico das endoparasitoses gastrintestinais em ovinos, utilizando diferentes abordagens estatísticas, a fim de interrelacionar elementos fenotípicos na ciência animal, mais especificamente na parasitologia.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACP	Análise de componentes principais
ADC	Análise discriminante canônica
ALB	Albumina
ALT	Alanino aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
CC	Classificação correta
CH	Concentração de hemoglobina
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
CV	Coeficiente de variação
COL	Colesterol
CRE	Creatinina
dp	Desvio padrão
ECC	Escore de condição corporal
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
F [©]	FAMACHA [©]
FAO	<i>Food Agricultural Organization</i>
FN	Falso-negativo
HCM	Hemoglobina corpuscular média
HE	Hemácias
HTC	Hematócrito
OPG	Contagem de ovos nas fezes
GLO	Globulina
GLI	Glicose
IBGE	Instituto Brasileiro de Pesquisa e Estatística
k	kappa
LE	Leucócitos
Max	Máximo
μ	Média
Min	Mínimo

MMA	Ministério do Meio Ambiente
PAV	Porcentagem de ovelhas anêmicas
PROCRIAR	Núcleo de Estudos em Pequenos Ruminantes
PT	Proteínas totais
PC	Peso corporal
SE	Sensibilidade
SP	Especificidade
TRI	Triglicerídeos
TSD	Tratamento seletivo direcionado
TST	<i>Targeted Selective Treatment</i>
UFERSA	Universidade Federal Rural do Semiárido
URE	Ureia
VPN	Valor preditivo negativo
VPP	Valor preditivo positivo
VN	Verdadeiro-negativo
VP	Verdadeiro-positivo
VCM	Volume corpuscular médio

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

REFERENCIAL TEÓRICO: CONTROLE SUSTENTÁVEL DE PARASITOS GASTRINTESTINAIS NA PRODUÇÃO DE OVINOS

Figura 1. Cartão-guia do sistema FAMACHA®	33
---	----

CAPÍTULO II

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DO SISTEMA FAMACHA® EM OVELHAS DA RAÇA MORADA NOVA

Figura 1. Rebanhos ovinos da raça Morada Nova utilizados no estudo	46
Figura 2. Localização geográfica do Brasil, da região nordeste brasileira, seguidas do estado do Ceará e da cidade de Morada Nova	47

CAPÍTULO III

AVALIAÇÃO DO SISTEMA FAMACHA® EM OVELHAS DA RAÇA MORADA NOVA SOB ABORDAGEM MULTIVARIADA

Figura 1. Rebanhos ovinos da raça Morada Nova utilizados no estudo	61
Figura 2. Localização geográfica do Brasil, da região nordeste brasileira, seguidas do estado do Ceará e da cidade de Morada Nova	62
Figura 3. Plotagem bidimensional da ACP para os diferentes grupos de classificação usando o HTC e o escore F® de ovelhas da raça Morada Nova	69
Figura 4. Plotagem bidimensional da ACP para os diferentes grupos de classificação usando o HTC e o escore F® de ovelhas da raça Morada Nova	69

Figura 5. Plotagem bidimensional da ACP para todas as variáveis do estudo, nos diferentes grupos de classificação usando o HTC e o escore $F^{\odot}$ em ovelhas da raça Morada Nova	70
Figura 6. Plotagem bidimensional da ACP para todas as variáveis do estudo, nos diferentes grupos de classificação usando o HTC e o escore $F^{\odot}$ em ovelhas da raça Morada Nova	70
Figura 7. Frequências de classificações do escore $F^{\odot}$ nas bases de dados sem utilizar a correspondência entre HTC e $F^{\odot}$ (A) e utilizando a correspondência HTC e $F^{\odot}$ (B)	73
Figura 8. Frequência de classificações do ECC nas bases de dados sem utilizar a correspondência entre HTC e $F^{\odot}$ (A) e utilizando a correspondência HTC e $F^{\odot}$ (B)	73
Figura 9. Plotagem bidimensional para a ADC nas bases de dados sem utilizar a correspondência entre HTC e $F^{\odot}$ (A) e utilizando a correspondência entre HTC e $F^{\odot}$ (B)	76

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DO SISTEMA FAMACHA[®] EM OVELHAS DA RAÇA MORADA NOVA

Tabela 1. Distribuição (n = número; % = porcentagem) de ovelhas, media $\pm$ desvio padrão ($\mu \pm dp$), valores da mediana, mínimo e máximo para a variável OPG, de acordo com a categoria do escore F [®]	50
Tabela 2. Número de resultados falso negativo (FN,) falso positivo (FP), verdadeiro negativo (VN), verdadeiro positivo (VP) e concordância (CC) dos resultados de classificação do escore F [®] de acordo com diferentes critérios de avaliação para ovelhas da raça Morada Nova	51
Tabela 3. Porcentagem de ovelhas anêmicas (PAV), valor preditivo positivo (VPP) e negativo (VPN) do sistema F [®] (com intervalos de confiança de 95%) e valores de k ente HTC e sistema F [®]	51
Tabela 4. Sensibilidade (SE) e especificidade (SP) do sistema F [®] (com intervalo de confiança de 95%) de acordo com diferentes critérios de avaliação	52

CAPÍTULO III

AValiação DO SISTEMA FAMACHA[®] EM OVELHAS DA RAÇA MORADA NOVA SOB ABORDAGEM MULTIVARIADA

Tabela 1. Posição geográfica (latitude, longitude e altitude), número de animais e número de informações de cada rebanho avaliado no município de Morada Nova – CE	62
Tabela 2. Variáveis meteorológicas do município de Morada Nova – CE	63

Tabela 3. Correspondências entre a categoria classificação do sistema F [©] e a porcentagem de HTC em ovinos	65
Tabela 4. Médias $\pm$ desvio padrão ($\mu \pm dp$) para o PC, OPG, hematologia e bioquímica sérica em diferentes grupos de HTC e escore F [©] em ovelhas da raça Morada Nova	67
Tabela 5. Médias $\pm$ desvio padrão ($\mu \pm dp$), mínimos (Min.), máximos (Max.) e coeficientes de variação (CV) para o PC, OPG, hematologia e bioquímica sérica, sem utilizar a correspondência entre o HTC e escore F [©] em ovelhas da raça Morada Nova	71
Tabela 6. Médias $\pm$ desvio padrão ($\mu \pm dp$), mínimos (Min.), máximos (Max.) e coeficientes de variação (CV) para PC, OPG, hematologia e bioquímica sérica, utilizando a correspondência entre o HTC e escore F [©] em ovelhas da raça Morada Nova	72
Tabela 7. Número e porcentagem de animais classificados em cada grupo de acordo com a classificação do sistema F [©] , sem utilizar a correspondência entre HTC e F [©]	74
Tabela 8. Número e porcentagem de animais classificados em cada grupo de acordo com a classificação do sistema F [©] , utilizando a correspondência entre HTC e F [©]	75

SUMÁRIO

DADOS CURRICULARES DO AUTOR	
DEDICATÓRIA	
AGRADECIMENTOS	
EPÍGRAFE	
APRESENTAÇÃO DA TESE	
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	
LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE TABELAS	
1 INTRODUÇÃO/JUSTIFICATIVA	21
2 OBJETIVOS	23
2.1 OBJETIVO GERAL	23
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
3 HIPÓTESES	24
4 CAPÍTULO I - REFERENCIAL TEÓRICO: CONTROLE SUSTENTÁVEL DE PARASITOS GASTRINTESTINAIS NA PRODUÇÃO DE OVINOS	25
4.1 INTRODUÇÃO	28
4.2 CONSERVAÇÃO DE RECURSOS GENÉTICOS OVINOS LOCAIS PARA A SUSTENTABILIDADE DOS SISTEMAS PRODUTIVOS	30
4.3 MEDIDAS PARA O CONTROLE E DIAGNÓSTICO DE ENDOPARASIToses GASTRINTESTINAIS EM OVINOS	32
4.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	36
REFERÊNCIAS	37
5 CAPÍTULO II - SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DO SISTEMA FAMACHA® EM OVELHAS DA RAÇA MORADA NOVA	41
5.1 INTRODUÇÃO	44
5.2 MATERIAL E MÉTODOS	46
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
5.4 CONCLUSÕES	53

REFERÊNCIAS	54
6 CAPÍTULO III - AVALIAÇÃO DO SISTEMA FAMACHA® EM OVELHAS DA RAÇA MORADA NOVA SOB ABORDAGEM MULTIVARIADA	56
6.1 INTRODUÇÃO	59
6.2 MATERIAL E MÉTODOS	61
6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
6.4 CONCLUSÃO	80
REFERÊNCIAS	81
7 CONCLUSÕES FINAIS	85
8 LIMITAÇÕES E DIFICULDADES	86
REFENRÊNCIAS	88
ANEXOS	89
Anexo A - <i>Sensitivity and specificity of the FAMACHA® system in tropical hair sheep</i>	89
Anexo B - <i>A multivariate approach to the diagnosis of gastrointestinal infection in ewes</i>	94
Anexo C - <i>Parasitological, performance, hematological and serum biochemical parameters of tropical ewes: a canonical study based on the relationship between FAMACHA® scores and packed cell volume</i>	97

RESUMO

VALIDAÇÃO DO MÉTODO FAMACHA[®] PARA O CONTROLE DAS ENDOPARASIToses GASTRINTESTINAIS EM OVELHAS DA RAÇA MORADA NOVA

FERREIRA, Josiel Borges. **Validação do método FAMACHA[®] para o controle das endoparasitoses gastrintestinais em ovelhas da raça Morada Nova**. 2021. 119 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), Mossoró – RN, Brasil, 2021.

A raça Morada Nova é um importante recurso genético da região semiárida brasileira, que atualmente sofre com problemas relacionados à gestão de sua população e ao manejo sanitário dos rebanhos, aumentando os índices de mortalidade e morbidade desses animais. O objetivo desse estudo foi validar o método FAMACHA[®] (F[®]) para o controle das endoparasitoses gastrintestinais em ovelhas da raça Morada Nova. Cento e trinta e oito fêmeas adultas foram avaliadas nos meses de março, junho, setembro e dezembro quanto a parâmetros de desempenho, parasitológicos, hematológicos e bioquímicos séricos. A tese foi dividida em dois capítulos, o primeiro avaliando a sensibilidade e a especificidade do sistema F[®] e o segundo capítulo avaliando a concordância entre o F[®] e os valores de hematócrito sob abordagem multivariada, utilizando análises de componentes principais e discriminante canônica. O estudo concluiu que o sistema F[®] pode ser usado como uma alternativa confiável, auxiliando na redução da pressão de seleção de anti-helmínticos em relação ao tratamento seletivo de rotina, para o controle de parasitos hematófagos e que a relação entre as categorias do sistema F[®] e as faixas de HTC são semelhantes a realidade de utilização proposta por VAN WYK e BATH (2002), embora tenham padrões de indicadores fisiopatológicos particulares.

Palavras chave: análise multivariada; especificidade; *Haemonchus contortus*; raças nativas; sensibilidade.

ABSTRACT

VALIDATION OF THE FAMACHA[®] METHOD FOR GASTRINTESTINAL ENDOPARASITOSE CONTROL OF THE MORADA NOVA EWES

FERREIRA, Josiel Borges. **Validation of the FAMACHA[®] method for gastrointestinal endoparasitoses control of the Morada Nova ewes.** 2021. 119 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), Mossoró – RN, Brasil, 2021.

The Morada Nova breed is an important genetic resource in the Brazilian semi-arid region, which currently suffers from problems related to the management of its population and the health management of flocks, increasing the mortality and morbidity rates of these animals. The aim of this study was to validate the FAMACHA[®] (F[®]) method for gastrointestinal endoparasitoses control of the Morada Nova ewes. One hundred and thirty-eight adult females were evaluated in the months of March, June, September and December for performance, parasitological, hematological and serum biochemical parameters. The thesis was divided into two chapters, the first evaluating the sensitivity and specificity of the F[®] system and the second chapter evaluating the agreement between the F[®] and the packed cell volume (HTC) values under a multivariate approach, using principal component analysis and canonical discriminant. The study concluded that the F[®] system can be used as a reliable alternative, helping to reduce the selection pressure of anthelmintics in relation to routine selective treatment, for the control of hematophagous parasites and that the relationship between the system categories F[®] and the HTC bands are similar to the reality of use proposed by VAN WYK and BATH (2002), although they have patterns of particular pathophysiological indicators.

Keywords: multivariate analysis; specificity; *Haemonchus contortus*; native breed; sensitivity.

1 INTRODUÇÃO/JUSTIFICATIVA

É comum a presença de rebanhos ovinos de raças nativas localmente adaptadas nas fazendas do Nordeste brasileiro (FERREIRA et al., 2017), e estes estão dentro de uma população total de 19,7 milhões de animais (IBGE, 2019). As raças Santa Inês, Rabo Largo, Cariri, Somalis e Morada Nova, assim como os seus diversos cruzamentos e grupos genéticos são as raças de maior destaque na região. Naturalmente, esses rebanhos possuem populações reduzidas e na maioria dos casos em processo de diminuição da variabilidade genética como é o caso da raça Morada Nova (SHIOTSUKI et al., 2016; NUNES et al., 2020).

A grande exposição dos animais aos agentes do ambiente natural de criação (clima, relevo, vegetação e condições particulares de manejo dos sistemas de produção), permite a maior ocorrência de problemas sanitários e possibilita o aparecimento de enfermidades que aumentam os índices de mortalidade dessas populações, e, portanto, ocasiona uma preocupação quanto às ações de conservação, melhoramento e recuperação dessas raças. É interessante entender a importância do aumento contínuo de indivíduos dessas populações, à luz das recomendações do Ministério do Meio Ambiente (MMA, 2000) quanto à conservação do patrimônio genético local.

A infecção por parasitos gastrintestinais é, sem dúvida, um dos problemas mais sérios na indústria ovina em todo o mundo. No estado do Ceará, onde se encontra a maior parte da população ovina da raça Morada Nova, este problema é um dos que afetam o desenvolvimento da raça. Nestes animais, a infecção ocorre durante quase todo o ano, sendo os parasitos de maior importância os do gênero: *Haemonchus* spp, *Strogylodes* spp, *Oesophagostomum* spp, *Trichostrongylus* spp, detectados por FERREIRA et al. (2017). Diagnosticar os efeitos das infecções por helmintos é uma forma eficiente de produzir informações e gerenciar esse problema nos sistemas de produção de ruminantes (FERREIRA et al., 2018) e em um futuro próximo exigirá alternativas de estratégias para a avaliação e controle de enfermidades (ANDRONICOS et al., 2014).

Com o intuito de controlar as infecções por parasitos gastrintestinais em pequenos ruminantes, algumas medidas alternativas são frequentemente adotadas, incluindo o

Tratamento Seletivo Direcionado (TSD), do inglês *Targeted Selective Treatment (TST)*. Esta medida consiste em diagnosticar animais que necessitam de tratamento anti-helmínticos, com o objetivo de diminuir a frequência dos tratamentos e, conseqüentemente, aumentar a população refugia e prevenir o desenvolvimento de resistência para os princípios ativos mais utilizados. O termo refugia é utilizado para definir um grupo de parasitos adultos que permanece no ambiente (pastagem e/ou trato gastrintestinal do animal) sem sofrer ação de anti-helmínticos, sendo consideradas como um estoque de parasitos susceptíveis. Um fator importante para minimizar o fenômeno da resistência anti-helmíntica são os parasitos em refugia, pois segundo VAN WYK (2001), o aparecimento da resistência está intimamente ligado ao sucesso da progênie dos parasitos que sobreviveu ao tratamento. As larvas em refugia permanecem com a sua característica de susceptibilidade, pois ficam livres de qualquer medida de seleção para resistência anti-helmíntica (MOLENTO, 2005), contribuindo para a diluição dos genes que codificam para esta característica nas próximas gerações, ou seja, o tamanho da população em refugia tem papel fundamental na manutenção da eficácia das drogas, retardando o processo de seleção (VAN WYK, 2001; BENAVIDES et al., 2015). À medida que os critérios do TSD se mostram mais fáceis e práticos de serem implementados, mais viáveis eles se tornam.

Contudo, apesar da atual disseminação dos métodos de TSD, gera questionamentos em torno da hipótese de que o sistema FAMACHA[®] (F[®]), por exemplo, “pode não ser aplicável para a raça Morada Nova” e com isso trazer sérios riscos para o futuro das populações dessa raça, que atualmente luta para aumentar sua população efetiva e com isso a variabilidade genética dentro da raça, em virtude da grande eliminação de animais de acordo com padrão racial, que foi discutido por SHIOTSUKI et al. (2016) como um fator considerado uma medida de “pioramento genético” da raça até a atual conjuntura.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo desta tese foi validar o método FAMACHA[®] para o controle das endoparasitoses gastrintestinais em ovelhas da raça Morada Nova.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Medir a sensibilidade (SE) e a especificidade (SP) do sistema F[®];
- Examinar a relação entre os escores do sistema F[®] e os pontos de corte dos valores de hematócrito (HTC) em ovelhas da raça Morada Nova, usando uma abordagem multivariada;

3 HIPÓTESE

H1 – O sistema F[©] pode ser usado de forma segura para reduzir a pressão por endoparasitas hematófagos gastrointestinais em ovelhas da raça Morada Nova, assim como no controle do uso desnecessário de anti-helmínticos.

H0 – O sistema F[©] não pode ser usado de forma segura para reduzir a pressão por endoparasitas hematofagos gastrointestinais em ovelhas da raça Morada Nova, assim como no controle do uso desnecessário de anti-helmínticos.

CAPÍTULO I

4 REFERENCIAL TEÓRICO: CONTROLE SUSTENTÁVEL DE PARASITOS GASTRINTESTINAIS NA PRODUÇÃO DE OVINOS

CONTROLE SUSTENTÁVEL DE PARASITOS GASTRINTESTINAIS NA PRODUÇÃO DE OVINOS

RESUMO

O manejo sanitário de ovinos é um dos pontos fundamentais para a sustentabilidade dos sistemas de produção, assim como dos rebanhos em sua região específica, promovendo a conservação de raças e/ou seus cruzamentos e a manutenção da biodiversidade nos diferentes biomas. O uso de medidas sustentáveis visando a manutenção dos rebanhos, com viabilidade econômica, preservação do meio ambiente e conservação dos recursos naturais, possibilita meios para equidade social e é uma tendência em todo o mundo. Associado ao controle das enfermidades, a criação dos pequenos ruminantes tornou-se mais viável e longa. Atualmente, medidas seletivas de controle das endoparasitoses gastrintestinais, como é o caso do uso do sistema FAMACHA[®] vêm tomando espaço nas unidades produtivas. Essa prática tem diminuído consideravelmente a mortalidade animal e o uso indiscriminado de anti-helmínticos, trazendo benefícios para os animais e para o meio ambiente. Associada a esses fatores, também estão as ferramentas estatísticas que possibilitam a interpretação de dados e a tomada de decisão para a mitigação desse entrave. O objetivo desse referencial bibliográfico é discutir a aplicabilidade e a eficiência de algumas ferramentas de diagnóstico e controle das parasitoses gastrintestinais, visando a sustentabilidade dos sistemas de produção ovinos.

Palavras chave: parasitologia; sistemas de produção; resistência; ruminantes; sustentabilidade; tratamento seletivo.

SUSTAINABLE CONTROL OF GASTRINTESTINAL PARASITES IN THE SHEEP PRODUCTION

ABSTRACT

The health management of sheep is one of the fundamental points for the sustainability of the production systems, as well as of the herds in their specific region, promoting the conservation of breeds and/or their crossings and the maintenance of biodiversity in the different biomes. The use of sustainable measures aimed at maintaining livestock, with economic viability, preservation of the environment and conservation of natural resources, enables means for social equity and is a trend worldwide. Associated with disease control, the creation of small ruminants has become more viable and long-lived. Currently, selective control measures for gastrointestinal endoparasitoses, such as the use of the FAMACHA[®] system, have been gaining ground in production units. This practice has considerably reduced animal mortality and the indiscriminate use of anthelmintics, bringing benefits to animals and the environment. Associated with these factors are also the statistical tools that enable data interpretation and decision-making to mitigate this obstacle. The purpose of this bibliographic reference is to discuss the applicability and efficiency of some diagnostic and control tools for gastrointestinal parasites, aiming at the sustainability of sheep production systems.

Keywords: parasitology; production systems; resistance; ruminants; sustainability; selective treatment.

4.1 INTRODUÇÃO

No Brasil, o efetivo de ruminantes (bovinos, bubalinos, ovinos e caprinos) é estimado em cerca de 247,1 milhões de animais, sendo que destes, 19,7 milhões são ovinos, correspondendo a mais de 10% da população de pequenos ruminantes (7,47% ovinos e 4,57% caprinos) segundo o censo realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2019). Para a *Food Agricultural Organization* (FAO, 2008), há uma tendência à prática pecuária para países que se encontram em desenvolvimento, como ênfase nas regiões do Nordeste brasileiro. A maioria dos sistemas de produção animal, provenientes da criação de ovinos desta região, estão inseridos no bioma Caatinga e são caracterizados pelo uso de animais adaptados às regiões de clima quente, tornando a criação de pequenos ruminantes exitosa.

As raças nativas de ovinos localmente adaptadas, são amplamente distribuídas nessa região. Entretanto, seus rebanhos estão diminuídos, pela substituição por ovinos exóticos especializados, principalmente para a pecuária de carne, em razão de apresentarem índices produtivos quantitativamente mais atrativos para o produtor rural, como descrito por NOGUEIRA (2009). Como consequência disso, os programas de melhoramento genético sofrem com a redução na base genética dos animais. De acordo com SHIOTSUKI et al. (2016), as raças de ovinos brasileiros foram selecionadas de acordo com características morfológicas (padrão racial), como por exemplo, pelagem, presença de cornos, despigmentação de mucosas e cascos, sendo que estas características não estão associadas ao desempenho animal. Desta maneira, animais com potencial produtivo são descartados e assim, ocorre uma diminuição direta na variabilidade genética dos rebanhos. Dentro dessas perdas, podem estar animais com características ligadas à resistência ou resiliência a possíveis enfermidades, comuns em animais criados nas regiões tropicais brasileiras.

A criação de animais localmente adaptados é uma característica marcante de alguns sistemas de produção das regiões brasileiras e que, segundo MARIANTE e CAVALCANTE (2000), são rebanhos mantidos geralmente em regime de criação extensivo, expostos às condições edafoclimáticas e aos agentes patogênicos,

possibilitando a diminuição de índices zootécnicos desejáveis para a produção animal (taxa de mortalidade, peso ao nascimento, peso a desmama, peso ao abate, dentre outros).

As endoparasitoses gastrintestinais representam uma das principais problemáticas na saúde de pequenos ruminantes, principalmente para a criação de ovinos em regime extensivo de criação. O seu impacto traduz a situação em perdas econômicas, que se associam à diminuição produtiva, perda de peso, redução do consumo de alimento, diminuição de taxas de fertilidade e, em casos mais severos, ocorrem altas taxas de mortalidade (VIERA et al., 2010; COUTINHO et al., 2015; NOBRE et al., 2020). A infecção por parasitos gastrintestinais está associada a fatores como clima, ambiente, manejo sanitário das instalações do próprio rebanho, resistência parasitária aos anti-helmínticos e genética animal (WANG et al., 2018). Portanto, fica claro que existem fatores muito associados ao sistema produtivo e ao manejo geral dos rebanhos.

Há um interesse em selecionar raças ou indivíduos dentro de uma população animal que apresentem marcadores fenotípicos associados à resistência aos endoparasitos gastrintestinais, dando início ao uso das ferramentas para o melhoramento, conservação e preservação das raças localmente adaptadas. Desta maneira, o objetivo deste referencial teórico é discutir a aplicabilidade e a eficiência do diagnóstico e controle das parasitoses gastrintestinais, visando a sustentabilidade dos sistemas de produção de ovinos.

4.2 CONSERVAÇÃO DE RECURSOS GENÉTICOS OVINOS LOCAIS PARA A SUSTENTABILIDADE DOS SISTEMAS PRODUTIVOS

A “sustentabilidade” é um termo que tem sido destaque na ciência e produção animal e, apesar de apresentar um conceito abstrato e muito complexo, difundiu-se com muita evidência. De maneira clássica, a sustentabilidade pode ser conceituada como uma condição que promove a longevidade, permitindo entender a importância crucial da relação simbiótica entre o meio ambiente (fauna, flora, ecossistemas, nichos ecológicos, paisagens, etc.), os recursos naturais (água, solo e ar) e o homem (DARNHOFER et al., 2010).

A ação antrópica indiscriminada sob o ambiente acarreta prejuízos e diminui a vida útil dos recursos naturais, ou seja, a sustentabilidade de qualquer que seja a atividade tende a diminuir ao longo dos anos. O método de criação dos animais, bem como os sistemas de produção pecuários, mudou drasticamente no século XX até a atualidade. A explosão demográfica deu origem a uma concorrência generalizada com outras espécies e o uso das terras agrícolas, influenciando o ambiente de forma geral. Segundo NOGUEIRA (2009), tudo isso resultou em uma intensificação da produção, alterações dos sistemas de produção e nos recursos genéticos utilizadas. Além disso, associadas a esse entrave, as mudanças climáticas resultaram em aumentos na frequência de estresse pelo calor, secas e inundações, causando efeitos adversos sobre o planeta, e consequentemente, sobre a produção animal e vegetal (SCHOLTZ et al., 2013).

As unidades de produção ocupam 30% da superfície do planeta (STEINFELD et al., 2006) e empregam cerca de 1,3 bilhões de pessoas no mundo (TORTON, 2010), tornam-se cada vez mais produtivas e, com isso, mais exploratórias, degradantes e desrespeitosas com o planeta. Os sistemas pecuários têm efeitos positivos e negativos sobre a base de recursos naturais (água, solo e ar), a biodiversidade, a saúde pública, a equidade social e o crescimento econômico (WORLD BANK, 2009).

A biodiversidade, os costumes, a cultura local, o tradicional, a paisagem rural, as plantas nativas, as raças nativas/locais (recursos zoogenéticos) são um patrimônio de uma localidade e devem ser utilizadas como ferramentas para mitigar problemas

socioambientais visando à sustentabilidade local, regional e/ou mundial. TORTON (2010) relata a importância da pecuária na redução do êxodo rural e nas possibilidades de uso da atividade (alimentação, tração e lazer) em unidades de produção local de pequeno porte, principalmente. Os recursos zoogenéticos da região semiárida nordestina, assim como acontece em outras regiões, estão completamente interligados aos sistemas de produção, ao ambiente em que as unidades produtivas estão inseridas, ao estilo tradicional dos produtores locais e à disponibilidade de mão de obra e insumos da região (DARNHOFER et al., 2010).

As raças locais e grupos genéticos de ovinos, além de seus cruzamentos, muitas vezes possuem vantagens em termos de sua capacidade de cumprir funções econômicas e socioculturais atribuídas ao processo de seleção natural. A criação de pequenos ruminantes é uma característica forte do perfil pecuário da região Nordeste do Brasil; entretanto, está geralmente associada à bovinocultura leiteira, em sistemas de produção extensivos extrativistas e predatórios, geridos por agricultores familiares (SILVEIRA, 2019). Segundo a Associação de Criadores de Caprinos e Ovinos da região Nordeste, as raças ovinas comumente utilizadas nos sistemas produtivos são: Cariri, Rabo Largo, Santa Inês, Somalis, Dorper e Morada Nova. Vale ressaltar que, qualquer raça ou grupo genético pode ser localmente adaptado, desde que consiga sobreviver ao ambiente, sem sofrer graves alterações nos seus aspectos de saúde e produção.

Pesquisas são comumente desenvolvidas com animais localmente adaptados, na tentativa de estabelecer um “modelo de produção”. Contudo, este modelo se torna funcional quando permite a longevidade dos rebanhos, visto que estes animais representam uma importante fonte de renda para os diferentes sistemas produtivos (SHIOTSUKI et al., 2014; MUNIZ et al., 2016; SHIOTSUKI et al., 2016; NUNES et al. 2020) e para a manutenção da biodiversidade do planeta.

4.3 MEDIDAS PARA O CONTROLE E DIAGNÓSTICO DE ENDOPARASITOSE GASTRINTESTINAIS EM OVINOS

Considerada entre as enfermidades mais frequentes em ovinos, principalmente para os que estão inseridos em sistemas de produção extensivo e em regiões de clima quente e úmido, com macroclimas e microclimas favoráveis à proliferação dos parasitos (WANG et al., 2018), as endoparasitoses gastrintestinais são responsáveis pela diminuição de medidas de desempenho produtivo, como: crescimento, peso corporal, eficiência alimentar, produção de leite, carne, couro e lã (FERREIRA et al., 2017; NOBRE et al., 2020) e reprodutivo (ISSAKOWICZ et al., 2016), além de efeitos mais específicos como: anemia, edema submandibular e diarreia.

A maioria das infecções por endoparasitoses gastrintestinais é mista, sendo comum as helmintoses causadas pelas seguintes espécies: *Haemonchus contortus* (AMARANTE, 2004; FERREIRA et al., 2017), *Trichostrongylus colubriformis*, *Oesophagostomum columbianum* (TAYLOR et al., 2010; FERREIRA et al., 2017), *Cooperia* spp., *Strongyloides papillosus* (ATHAYDE et al., 2004; AMARANTE e SALES, 2007). As ações práticas para mitigar este problema nos sistemas de produção animal estão em torno das medidas ativas de manejo sanitário, associadas aos tratamentos com anti-helmínticos, que possuem efeitos sobre os animais, e, por consequência, sobre o meio ambiente.

Medidas alternativas como o sistema F[©], desenvolvido por pesquisadores sul-africanos para identificar clinicamente ovinos parasitados por *Haemonchus* spp. e acometidos de anemia, é uma das medidas de tratamento seletivo, TSD, das endoparasitoses gastrintestinais em ovinos (VAN WYK e BATH, 2002). As avaliações são realizadas de acordo com comparações entre um cartão guia com a coloração da conjuntiva ocular associada a uma faixa específica de hematócrito (VAN WYK e BATH, 2002), que direcionam a medida de tratamento seletivo para escolha dos animais que serão tratados ou não (Figura 1).

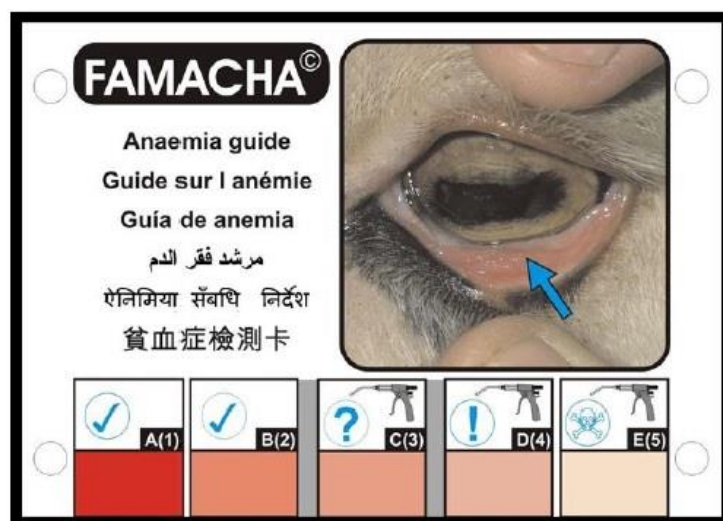


Figura 1. Cartão-guia do sistema FAMACHA®.

No cartão guia do sistema F[®] são definidas cinco categorias, variando de 1 (coloração vermelho escuro) a 5 (coloração muito pálida). Estas colorações representam diferentes valores de HTC, sendo > 28, 23-25, 18-22, 13-17 e < 12% para os escores de coloração 1, 2, 3, 4 e 5, respectivamente (VAN WYK e BATH, 2002). O método foi criado levando em consideração a associação entre o grau de coloração da mucosa ocular e o HTC, onde, animais com escore F[®] 4 e 5 e, em alguns casos escore 3, devem receber tratamento anti-helmíntico. Esta metodologia permite o uso de anti-helmínticos em animais parasitados por vermes hematófagos, além de retardar o aparecimento da resistência anti-helmíntica (VIEIRA, 2010).

O desenvolvimento deste método teve como objetivo tornar mais prático o diagnóstico clínico de possíveis parasitoses por nematoides hematófagos, associando-as com possíveis graus de anemia e que, segundo IDIKA et al. (2012) funciona de forma mais eficaz tanto em ovinos resistentes ou susceptíveis a esses parasitos, excluindo outras espécies importantes de parasitos que afetam a produção animal, tais como *Oesophagostomum columbianum* e *Trichostrongylus colubriformis* por não serem parasitos hematófagos. O uso do sistema F[®] deve ser cauteloso e em alguns casos obriga a utilização de outra metodologia alternativa que esteja associada ao grau de anemia dos ovinos, como é o caso dos exames hematológicos (FERREIRA et al., 2018).

Alguns estudos que avaliam a contagem de ovos e o método F° associados ao ganho de peso e escore de condição corporal para o controle de parasitos gastrintestinais, mostraram resultados significativos, comprovando maiores ganhos de peso e, conseqüentemente, maior escore de condição corporal (ECC) em animais com ausência de parasitose ou resistentes às parasitoses (IDIKA et al., 2012).

O sistema F° depende de avaliações subjetivas realizadas pelo observador, o que reforça a necessidade de treinamento prévio (MAIA et al., 2015), além de não estar definido especificamente para uma espécie, raça ou genótipo, portanto, pode estar passível de resultados inconsistentes. Questionamentos como:

“Onde se enquadra o escore F° 3, em animais com parasitose, sem parasitose ou com grau de parasitose intermediária?”

Há diferença na avaliação do sistema F° entre as raças?

Há diferença nas avaliações do sistema F° entre diferentes idades?”

são comumente levantados.

A sensibilidade e a especificidade do sistema F° têm sido bastante estudadas, dando enfoque à aplicação da metodologia em ovinos e caprinos, como é caso do estudo realizado por SOTOMAIOR et al. (2012) e CINTRA et al. (2018), que utilizaram a idade como um efeito de variação em cordeiros. Nestes estudos, foram verificados resultados interessantes quanto ao agrupamento do escore F° 3 aos escores 4 e 5 como forma de otimizar a sensibilidade do método. Para animais muito jovens, cordeiros, o sistema F° não se apresentou como uma ferramenta de diagnóstico de anemia eficaz no controle de *Haemonchus* spp.

Diagnosticar os efeitos das infecções por helmintos é uma forma eficiente de produzir informações e gerenciar este problema na produção de ruminantes (FERREIRA et al., 2018). Os métodos analíticos de processamento de dados e, posteriormente, transformação em informações, são cada vez mais inseridos no contexto experimental. As abordagens multivariadas são propostas atuais deste contexto. Esses métodos analíticos permitem, por meio de diversas correlações, entender a relação existente entre

variáveis (FERREIRA et al., 2018), traçando eixos de valor decrescente de ligação direta entre todas elas, sendo que, na área da parasitologia existem poucos estudos.

Em um estudo particular, realizado por ANDRONICOS et al. (2014), utilizando ovelhas infectadas experimentalmente, foram realizadas análises multivariadas para definir algoritmos possivelmente úteis, para classificar a capacidade de resistência à infecção por nematoides, e constatou-se que poucas amostras foram necessárias para aplicação das medidas de diagnóstico e controle e a metodologia mostrou-se útil.

4.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As maneiras pelas quais os ovinos eram criados, assim como os sistemas de produção pecuários, mudaram drasticamente ao longo das décadas. O aumento populacional deu origem a uma ampla concorrência com outras espécies e outras utilidades para o uso da terra, influenciando o ambiente como um todo, assim como o ambiente em que os ovinos são criados. Isso resultou na intensificação da produção, nas mudanças nos sistemas de produção e nas raças e grupos genéticos utilizados. Além disso, o exagero no uso de drogas anti-parasitárias elevou a resistência pelos endoparasitos e criou efeitos adversos sobre a saúde animal e assim para a produção pecuária.

Em contrapartida, as duas últimas décadas foram marcadas pelo desenvolvimento de técnicas e tecnologias avançadas contra as endoparasitoses gastrintestinais em ruminantes, no entanto, ainda precisam ser estudadas e avaliadas de maneira mais profunda, respeitando as particularidades individuais das raças e grupos genéticos, assim como dos sistemas de produção animal.

REFERÊNCIAS

- ANDRONICOS, N. M. A et al. one shot blood phenotype can identify sheep that resist *Haemonchus contortus* challenge. **Veterinary Parasitology**, v. 205, p. 595-605, 2014.
- AMARANTE, A. F. T. Controle da verminose gastrointestinal no sistema de produção de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ESPECIALIDADES EM MEDICINA VETERINÁRIA, v. 1, Paraná, **Anais...** 2004.
- AMARANTE, A. F. T.; SALES, R. O. Controle de endoparasitoses do Ovinos: Uma revisão. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 1, p. 14-36, 2007.
- ATHAYDE, A. C. R. Difusão do uso de plantas medicinais anti-helmínticas na produção de caprinos do sistema de produção da região de Patos. In: 2º Congresso Brasileiro de Extensão Universitária, **Anais...** 2º Congresso Brasileiro de Extensão Universitária, Belo Horizonte, 2004.
- BENAVIDES, M. V. et al. Identification of novel loci associated with gastrointestinal parasite resistance in a Red Maasai Dorper backcross population. **Plos One**, v. 10, 2015.
- CINTRA, M. C. R.; OLLHOFF, R. D.; SOTOMAIOR, C. S. Sensitivity and specificity of the Famacha[®] system in growing lambs. **Veterinary Parasitology**, v. 251, p. 106-111, 2018.
- COUTINHO, R. M. A. et al. Phenotypic markers to characterize F2 crossbreed goats infected by gastrointestinal nematodes. **Small Ruminant Research**, v. 123, n. 1, p. 173-178, 2015.
- DARNHOFER, I. et al. Adaptiveness to enhance the sustainability of farming systems. A review. **Agronomy**, v. 30, p. 545-455, 2010.
- MAIA, D. et al. FAMACHA[®] system assessment by previously trained sheep and goat farmers in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 209, p. 202-209, 2015.

- FAO, *Food and Agriculture Organization*. Página de acesso: <http://www.faostat.fao.org>.
Data do acesso: 30 de dezembro de 2020.
- FERREIRA, J. B. et al. A multivariate approach to the diagnosis of gastrointestinal infection in ewes. **Veterinary Parasitology**, v. 252, p. 95-97, 2018.
- FERREIRA, J. B. et al. Performance, endoparasitary control and blood values of ewes locally adapted in semiarid region. **Comparative Immunology Microbiology and Infection Diseases**, v. 52, p. 23-29, 2017.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Página de acesso: <https://censos.ibge.gov.br/agro/2019/>. Data do acesso: 03 de dezembro de 2020.
- IDIKA, I.K. et al. Changes in the body condition scores of Nigerian West African Dwarf sheep experimentally infected with mixed infections of *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis*. **Veterinary Parasitology**, v. 188, n. 1-2, p. 99-103, 2012.
- ISSAKOWICZ, J. et al. Parasitic infection, reproductive and productive performance from Santa Inês and Morada Nova ewes. **Small Ruminant Research**, v. 136, p. 96-103, 2016.
- MARIANTE, A, da S.; CAVALCANTE, N. **Animais do descobrimento: raças domésticas da história do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa-Assessoria de Comunicação Social: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2000.
- MOLENTO, M. B. Avanços no diagnóstico e controle das helmintoses em caprinos. I Simpósio Paulista de Caprinocultura. In: I Simpósio Paulista de Caprinocultura (SIMPAC). **Anais...** Multipress, Jaboticabal, p.101-110, 2005.
- MOLENTO, M. B. et al. Método Famacha como parâmetro clínico individual de infecções por *Haemonchus contortus* em pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, v. 34, p. 1139-1145, 2004.
- MUNIZ, M. M. M. et al. Application of genomic data to assist a community-based breeding program: A preliminary study of coat color genetics in Morada Nova sheep. **Livestock Science**, v. 190, p. 89-93, 2016.

- NOBRE, C. O. R. et al. Benefits of vaccination goats against *Haemonchus contortus* during gestation and lactation. **Small Ruminant Research**, v. 182, p. 46-51, 2020.
- NOGUEIRA, F. R. B. Uma abordagem sistêmica para a agropecuária e a dinâmica evolutiva dos sistemas de produção do Nordeste semi-árido. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 2, p. 01-06, 2009.
- NUNES, S.F. et al. Morphometric characterization and zoometric indices of white *Morada Nova* breed: the first step for conservation. **Small Ruminant Research**, v. 182, n. 106178, 2020.
- SCHOLTZ, M. M. et al. Livestock breeding for sustainability to mitigate global warming, with the emphasis on developing countries. **South African Journal of Animal Science**, v. 43, n. 3, 2013.
- SHIOTSUKI, L. et al. Genetic parameters for growth and reproductive traits of *Morada Nova* kept by smallholder in semi-arid Brazil. **Small Ruminant Research**, v. 120, p. 204-208, 2014.
- SHIOTSUKI, L. et al. The impact of racial pattern on the genetic improvement of *Morada Nova* sheep. **Animal Genetic Resources, Food and Agricultural Organization of the United Nations**, p. 1-10, 2016.
- SILVEIRA, R. M. F. **Tipologias de propriedades e relações entre a sazonalidade e qualidade da água e do leite bovino no semiárido brasileiro**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Vale do Acaraú. UVA, p. 100. 2019.
- SOTOMAIOR, C. S. et al. Sensitivity and specificity of the Famacha[®] system in Sufflk sheep and crossbred Boer goats. **Veterinary Parasitology**, v. 190, p. 114-119, 2012.
- STEINFELD, H. et al. Livestock's long shadow: environmental issues and options. Rome, Italy, 2006.
- TAYLOR, M. A.; COOP, R.L.; WALL, R.L. **Parasitologia Veterinária**. 4^{ed}, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 1052p.
- TORTON, P. K. Livestock production: recent trends, future prospects. **Philosophical transactions of The Royal Society B**, v. 365, p. 2853-2867, 2010.

- VAN WYK, J. A. Refugia – overlooked as perhaps the most important factor concerning the development of anthelmintic resistance, **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 68, p. 55-67, 2001.
- VAN WYK, J. A.; BATH, G.F. The FAMACHA system for managing *haemonchus* in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. **Veterinary Research**, v. 33, p. 509-529, 2002.
- VIEIRA, L. S. et al. **Panorama do controle de endoparasitoses em pequenos ruminantes**. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2010. 40 p. Documentos / Embrapa Caprinos e Ovinos, ISSN 1676-7659; 98.
- WANG, T. et al. Microclimate has a greater influence than macroclimate on the availability of infective *Haemonchus contortus* larvae on herbage in a warm temperate environment. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 265, p. 31-36, 2018.
- WORLD BANK. **Minding the stock: bringing public policy to bear on livestock sector development**. 2009. Página de acesso: <http://worldbank.org/>.

CAPÍTULO II

5 SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DO SISTEMA FAMACHA® EM OVELHAS DA RAÇA MORADA NOVA¹

¹ Este capítulo é uma adaptação do artigo apresentado no ANEXO A (*Sensitivity and specificity of the FAMACHA® system in tropical hair sheep – Tropical Animal Health and Production*)

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DO SISTEMA FAMACHA[®] EM OVELHAS DA RAÇA MORADA NOVA

RESUMO

O tratamento seletivo e o correto diagnóstico das endoparasitoses gastrintestinais, tal como a causa da anemia causada por endoparasitoses gastrintestinais, pode ser uma das medidas para mitigar este problema; em outras palavras, é fundamental para aumentar a população efetiva de animais da raça Morada Nova. O objetivo desse estudo foi avaliar a sensibilidade (SE) e especificidade (SP) do sistema FAMACHA[®] (F[®]) no diagnóstico da anemia e tratamento seletivo de endoparasitoses gastrintestinais em ovelhas da raça Morada Nova. Foram avaliadas 562 conjuntivas de ovelhas, usando o sistema F[®]. Os valores de hematócrito (HTC) serviram como padrão ouro para a avaliação clínica. Para calcular a SE e SP do sistema F[®], foram adotados diferentes critérios: animais classificados como (I) F[®] 4 e 5 ou (II) F[®] 3, 4 e 5 foram considerados como anêmicos e os animais classificados como (I) F[®] 1, 2 e 3 ou (II) F[®] 1 e 2 foram considerados como não anêmicos. Três valores padrões de HTC ($\leq 19\%$, $\leq 18\%$ ou $\leq 15\%$), foram usados para confirmar a anemia (testes positivos). A porcentagem de tratamentos corretos foi sempre maior quando os escores 4 e 5 do sistema F[®] foram usados como critério para testes positivos para anemia. Para todos os pontos de corte do HTC, mais animais foram classificados como falso positivo quando avaliados usando os escores 3, 4 e 5 do sistema F[®] como critério para o teste positivo para anemia e mais animais verdadeiros negativos quando avaliados usando apenas os escores 4 e 5 do sistema F[®] como critério para o teste positivo para anemia. Para ambos os critérios de teste positivo, poucos animais foram classificados como falso negativo e verdadeiro positivo. Portanto, eliminar a classificação do escore F[®] 3 como anêmico diminui a SE e aumenta a SP para todos os pontos de corte do HTC de ovelhas da raça Morada Nova. O sistema F[®] pode ser usado como uma alternativa confiável, reduzindo a pressão de seleção de anti-helmínticos em relação ao tratamento seletivo de rotina, para o controle de vermes hematófagos nas ovelhas da raça Morada Nova.

Palavras chave: *Haemonchus contortus*; ovinos; região semiárida; resistência; tratamento seletivo; vermes.

SENSITIVITY AND SPECIFICITY OF THE FAMACHA[®] SYSTEM IN MORADA NOVA EWES

ABSTRACT

Selective treatment and the correct diagnosis of the gastrointestinal endoparasitosis, such as anemia caused by gastrointestinal endoparasites, may be one of the measures to mitigate this problem; in other words, it is fundamental to increase the effective population of individuals of the Morada Nova breed. The aim of this research was to evaluate the sensitivity (SE) and specificity (SP) of the FAMACHA[®] (F[®]) system in Morada Nova ewes. The conjunctivae of 562 ewes were evaluated using the F[®] system. Packed cell volume (HTC) served as the gold standard for clinical F[®] evaluation. To calculate the S_E and S_P of the F[®] system, different criteria were adopted: animals classified as (I) F[®]4 and 5 or (II) F[®]3, 4 and 5 were considered to be anemic, and animals classified as (I) F[®]1, 2 and 3, or (II) F[®]1 and 2 were considered to be non-anemic. Three standard values of HTC, namely $\leq 19\%$, $\leq 18\%$ or $\leq 15\%$, were used to confirm anemia. The percentage of correct treatments was always high when F[®] values 4 and 5 were used as criteria for positive tests. For all HTC cut-off values, more animals were classified as false positives when evaluated using F[®]3, 4 and 5 as criteria for a positive test and more true negative animals when evaluated using only F[®]4 and 5 as criteria for a positive test. For both sets of criteria for positive tests, few animals were classified as false negatives and true positives. Eliminating the classification of F[®]3 as anemic decreased the sensitivity and increased the specificity for all HTC cut-off values for ewes. The F[®] system can be used as a reliable alternative to reduce selection pressure for anthelmintics in relation to routine non-selective blanket treatment for worm control in Morada Nova ewes.

Keywords: *Haemonchus contortus*; sheep; semiarid region; resistance; selective treatment; worms.

5.1 INTRODUÇÃO

A infecção por nematoides gastrintestinais é uma das maiores causas da perda de produção em sistemas de produção de ruminantes e que são particularmente importantes em regiões tropicais e subtropicais do mundo (MARTINEZ-VALADARES et al., 2013; MPHAHLELE et al., 2018). A região Nordeste brasileira é tradicionalmente conhecida pelos sistemas de produção de origem familiar e neles estão as vacas, cabras e ovelhas de raças localmente adaptadas ou nativas, agrupadas nas unidades produtivas. Nesta região, núcleos de melhoramento genético são formados com a participação das fazendas (ARANDAS et al., 2017), como tem acontecido com a raça Morada Nova.

Em relação ao controle das endoparasitoses, as fazendas não seguem um padrão de controle e tratamento. Normalmente, as medidas profiláticas não são adotadas nas pastagens nativas do bioma Caatinga, tampouco em instalações como os currais coletivos, associado ao uso pouco frequente de tratamento seletivo nos rebanhos, aumentando a prevalência de enfermidades, especialmente a infecção por parasitos gastrintestinais (FERREIRA et al., 2017). Apesar dos produtores rurais serem conscientes quanto a existência da resistência a drogas anti-helmínticas, não houve um convencimento do uso necessário dos métodos de tratamento seletivo nas fazendas. Quando um rebanho inteiro é tratado, pode haver grande pressão de seleção para resistência na população de nematoides, dependendo dos níveis de animais refúgios naquele momento (SOTOMAIOR et al., 2012). O manejo sustentável das endoparasitoses nos sistemas de produção de pequenos ruminantes permite a manutenção do número máximo de animais livres do contato com a droga (VAN WYK, 2001).

O sistema FAMACHA[®] (F[®]) é uma ferramenta clínica de avaliação da anemia, preliminarmente utilizada para o tratamento seletivo anti-helmíntico individual de animais cuja necessidade de gerenciar as infecções por vermes hematófagos do gênero *Haemonchus contortus* (VAN WYK e BATH, 2002; ARECE-GAECÍA et al., 2016). Neste método, algumas variações podem ocorrer nos resultados, permitindo uma serie de diagnósticos. Variações quanto as raças (MOORS e GAULY, 2009), categorias animais e idades (CINTRA et al., 2018), avaliadores e avaliações do método (FERREIRA et al.,

2018) podem ter efeitos sobre o resultado final. Apesar da anemia poder apresentar outras causas (GRACE et al., 2007; OLAH et al., 2015), o método F[®] é um dos indicadores de diagnóstico com maior sucesso até hoje, para o uso estratégico em tratamento seletivo contra *H. contortus* em pequenos ruminantes (MARTINÍNEZ-VALADARES et al., 2013).

A raça Morada Nova é dotada de características adaptativas para o semiárido brasileiro. Mesmo assim, em um período de aproximadamente dez anos, a população efetiva tem diminuído consideravelmente, chegando ao risco de ser extinta de acordo com a Associação de Criadores de Ovinos da Raça Morada Nova. O tratamento seletivo e o correto diagnóstico dessa doença, tal como a causa da anemia em função das endoparasitoses gastrintestinais, pode ser uma das medidas para mitigar este problema; em outras palavras, é fundamental para aumentar a população efetiva de animais. O objetivo desse estudo foi avaliar a sensibilidade (SE) e a especificidade (SP) do sistema F[®] no diagnóstico da anemia e tratamento seletivo das endoparasitoses gastrintestinais em ovelhas da raça Morada Nova, acreditando que o sistema F[®] pode ser usado como uma alternativa confiável para reduzir a pressão de seleção de anti-helmínticos em relação ao tratamento seletivo de rotina nestes animais.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

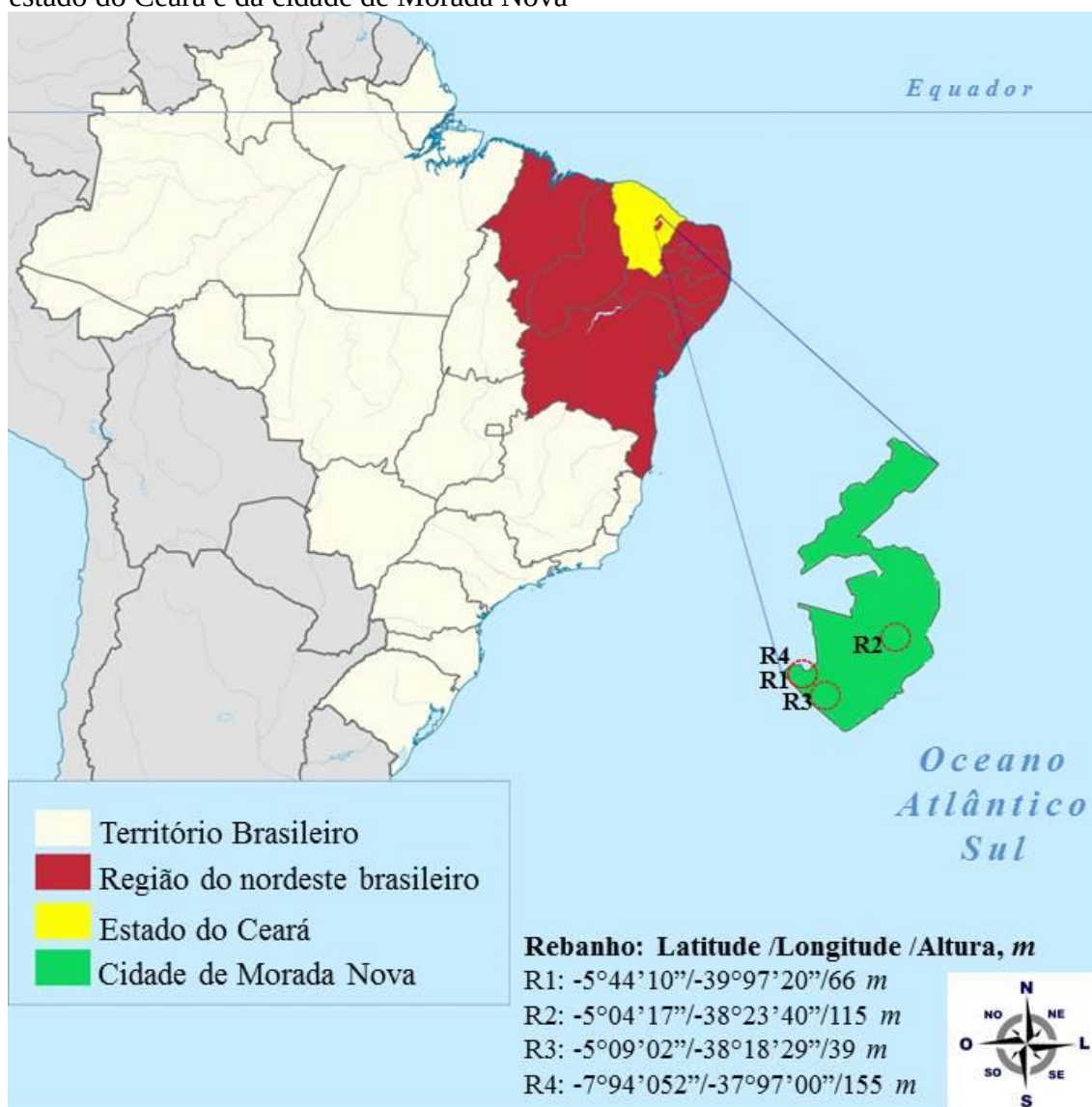
O estudo foi realizado pelo grupo de alunos, professores e colaboradores que compõe o Laboratório de Fisiologia Adaptativa e Recursos Genéticos da UFERSA e Embrapa caprinos e ovinos, sendo conduzido em rebanhos de fazendas comerciais (Figura 1) localizados no estado do Ceará, especificamente na cidade de Morada Nova (Latitude – 5° 44' 10"; longitude – 39° 97' 20"; altitude 66 m) (Figura 2).

Figura 1. Rebanhos ovinos da raça Morada Nova utilizados no estudo



Fonte: Arquivo pessoal do autor (J. Ferreira)

Figura 2. Localização geográfica do Brasil, da região nordeste brasileira, seguidas do estado do Ceará e da cidade de Morada Nova



Fonte: Arquivo pessoal do autor (J. Ferreira)

O manejo geral adotado para os animais se baseava na alimentação de maneira extensiva na vegetação do bioma Caatinga durante o período diurno e durante o período noturno ocorria o recolhimento dos animais em currais coletivos, onde era disponibilizado água e mistura mineral *ad libitum*. Os animais recebiam tratamento anti-helmíntico variando os princípios ativos após apresentarem sinais clínicos de parasitose gastrointestinal (magreza, pelos opacos, mucosa ocular esbranquiçada, dentre outros). A variação anual de temperatura ambiental, humidade relativa e precipitação pluviométrica permaneceram em torno de 35,6 °C, 42,4 % e 76,1 mm, respectivamente.

Foram consideradas as informações em cada uma das coletas de dados, realizadas nos meses de março, junho, setembro e dezembro como informações individuais de diagnóstico para as quatro fazendas estudadas. Portanto, foram registrados 562 dados de escore F[©] - realizadas por um único avaliador - em ovelhas adultas da raça Morada Nova, com idades entre 1 e 5 anos, segundo a classificação cronologia dentária determinada por PUGH (2002).

A SE e a SP do sistema F[©] foram calculadas utilizando dois critérios para considerar os animais como anêmicos ou com teste positivo para anemia: animais classificados em escore F[©] 4 e 5 ou animais classificados em escores F[©] 3, 4 e 5. No primeiro caso, os animais foram classificados nos escores F[©] 1, 2 e 3, considerados como não-anêmicos ou com teste negativo para anemia. No segundo caso, foram considerados não-anêmicos ou com teste negativo para anemia, os animais com escores F[©] 1 e 2. Os valores de HTC serviram como padrão ouro para confirmar a anemia e foram utilizados com base em três pontos de corte: $\leq 19\%$, $\leq 18\%$ e $\leq 15\%$, conforme proposto pelo estudo de SOTOMAIOR et al. (2012). O valor de HTC de $\leq 19\%$ foi escolhido em virtude do intervalo normal para o HTC em pequenos ruminantes ser de 19-38 segundo JAIN (1986), já o valor de HTC $\leq 18\%$ foi escolhido porque é o valor limite entre as categorias 3 e 4 do sistema F[©] (VAN WYK e BATH, 2002) e o valor de HTC $\leq 15\%$ é considerado um risco de vida para ovelhas (KAPLAN et al., 2004).

Para o animal ser classificado em um diagnóstico verdadeiro positivo (VP), os animais devem ser anêmicos (HTC $\leq 15\%$, $\leq 18\%$ ou $\leq 19\%$) com escores F[©] 4 e 5 ou 3, 4 e 5. Para serem classificados com resultado falso positivo (FP), os animais não devem ser anêmicos (HTC $> 15\%$, $> 18\%$ ou $> 19\%$) com escores de olho pálido. Os animais que estavam anêmicos com escores de olhos vermelhos ou rosas (F[©] 1 e 2 ou F[©] 1, 2 e 3) foram denominados como falso negativo (FN) e os animais que não eram anêmicos com escores de olhos vermelhos ou rosados receberam a denominação de verdadeiro negativo (VN). Para análise parasitológica, as fezes foram coletadas individualmente e realizadas a contagem de ovos (OPG) por gramas de fezes utilizando a metodologia de GORDON e WHITLOCK (1939).

A SE e SP do sistema F[©] (calculadas com 95% de intervalos de confiança) foram calculadas (VATTA et al., 2001; THRUSFIELD, 2005) como segue:

$$SE = \frac{VP \times 100}{VP + FN}$$

Neste caso, SE é a proporção de animais identificados corretamente como anêmicos (VP) pelo sistema F[©].

$$SP = \frac{VN \times 100}{VN + FP}$$

SP é a proporção de animais não anêmicos que são corretamente classificados como tal (VN) pelo sistema F[©].

Por fim, foi calculado o valor preditivo negativo (VPN) e o valor preditivo positivo (VPP) usando as seguintes fórmulas:

$$VPN = \frac{FN \times 100}{VN + FN}$$

$$VPP = \frac{VP \times 100}{VP + FP}$$

Os valores preditivos são a probabilidade de um animal não ser anêmico quando o escore F[©] é negativo para anemia (NPV) ou anêmico quando o escore F[©] é positivo para anemia (VPP). O valor kappa (κ) foi calculado usando a associação entre os escores F[©] e o HTC (THRUSFIELD, 2005). Os valores de κ foram classificados de acordo com o estudo de SOTOMAIOR et al. (2012) e repetidos no atual estudo da seguinte maneira: > 0,80 = concordância excelente, 0,61-0,80 = concordância boa, 0,41-0,60 = concordância moderada, 0,21-0,40 = concordância ruim e <0,2 = concordância péssima.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A raça Morada Nova é amplamente usada em fazendas de manejo extensivo no bioma Caatinga e é considerada pelos produtores uma raça resistente as enfermidades que acometem os pequenos ruminantes. Por se tratar de uma raça nativa, localmente adaptada e contribuir para a sustentabilidade dos sistemas de produção do Nordeste brasileiro, ocorre um enorme estímulo para o desenvolvimento de estudos para entender melhor os aspectos gerais de saúde desses animais. A distribuição dos animais nas cinco categorias de escore F° e suas respectivos valores de OPG são listados na Tabela 1.

Tabela 1. Distribuição (n = número; % = porcentagem) de ovelhas, media $\pm$ desvio padrão ($\mu \pm dp$), valores da mediana, mínimo e máximo para a variável OPG, de acordo com a categoria do escore F°

	$F^{\circ}1$	$F^{\circ}2$	$F^{\circ}3$	$F^{\circ}4$	$F^{\circ}5$
n	21	145	269	123	4
%	3,74	25,80	47,86	21,89	0,71
Média $\pm$ dp	239,6 $\pm$ 673,4	81,2 $\pm$ 167,6	117,1 $\pm$ 228,6	216,3 $\pm$ 470,7	122,9 $\pm$ 264,0
Mediana	24,0	24,0	36,0	72,0	90,0
Mínimo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Máximo	3112,0	1176,0	1124,0	3300,0	264,0

Mais de 45% dos animais foram classificados com $F^{\circ}3$, seguidos de 25,80% no $F^{\circ}2$ e 21,88% no $F^{\circ}4$. Poucas ovelhas foram classificadas com escore $F^{\circ}1$ (3,73%) e $F^{\circ}5$ (0,88%). Os limites para os valores de OPG variaram entre zero e 3300. Os parâmetros de saúde das ovelhas da raça Morada Nova desse estudo sofreram uma elevada influência ambiental relacionada as mudanças climáticas, sendo expostas a elevadas temperaturas e privações de água durante um longo período do ano, adicionalmente, também houveram relatos de outras enfermidades nesses mesmos rebanhos (linfadenite caseosa, mastite, ectoparasitoses e outras endoparasitoses) mantidos em regime extensivo, apresentadas no trabalho de FERREIRA et al., (2017).

A porcentagem de classificações corretas (VN + VP) são sempre maiores quando os valores de F° para os escores 4 e 5 foram considerados como um resultado positivo para anemia (Tabela 2). Para todos os valores de HTC, mais animais foram classificados

como FP quando avaliados e classificados nos escores $F^{\odot}$ 3, 4 e 5 como teste positivo para anemia e mais animais foram classificados como VN, quando avaliados usando apenas as classificações de escore $F^{\odot}$ 4 e 5 como teste positivo para anemia. Para ambos os testes positivos, poucas ovelhas foram classificadas como FN e VP.

Tabela 2. Número de resultados falso negativo (FN,) falso positivo (FP), verdadeiro negativo (VN), verdadeiro positivo (VP) e concordância (CC) dos resultados de classificação do escore $F^{\odot}$ de acordo com diferentes critérios de avaliação para ovelhas da raça Morada Nova

	FN	FP	VN	VP	CC
Teste positivo ($F^{\odot}3$, $F^{\odot}4$, $F^{\odot}5$)					
HTC ≤ 15	1 (0,18%)	384 (68,33%)	165 (29,36%)	12 (2,14%)	177 (31,50%)
HTC ≤ 18	2 (0,36%)	361 (64,23%)	164 (29,18%)	35 (6,23%)	199 (35,59%)
HTC ≤ 19	5 (0,89%)	344 (61,21%)	161 (28,65%)	52 (9,25%)	213 (37,90%)
Teste positivo ($F^{\odot}4$, $F^{\odot}5$)					
HTC ≤ 15	9 (1,60%)	123 (21,89%)	426 (75,80%)	4 (0,71%)	430 (76,51%)
HTC ≤ 18	19 (3,38%)	109 (19,40%)	416 (74,02%)	18 (3,20%)	434 (77,22%)
HTC ≤ 19	32 (5,69%)	102 (18,15%)	403 (71,71%)	25 (4,45%)	428 (76,16%)

O índice κ foi baixo para o critério de avaliação usando os escores $F^{\odot}3$, 4 e 5 como testes positivos para anemia (Tabela 3). Os limites do índice κ estiveram entre 0,01 e 0,15, indicando uma concordância ruim para ambos os testes. A porcentagem de animais (PAV; estimado pelos valores de HTC), PPV e NPV também estão listados abaixo.

Tabela 3. Porcentagem de ovelhas anêmicas (PAV), valor preditivo positivo (VPP) e negativo (VPN) do sistema $F^{\odot}$ (com intervalos de confiança de 95%) e valores de k entre HTC e sistema $F^{\odot}$

	PAV (%)	VPV (%)	VPN (%)	k
Teste positivo ($F^{\odot}3$, $F^{\odot}4$, $F^{\odot}5$)				
HTC ≤ 15	2,31 (1,24 – 3,92)	3,03 (2,58 – 3,56)	99,40 (96,15 – 99,91)	0,01
HTC ≤ 18	6,58 (4,68 – 8,96)	8,84 (8,09 – 9,46)	98,80 (95,49 – 99,69)	0,04
HTC ≤ 19	10,14 (7,77 – 12,94)	13,13 (12,03 – 14,32)	96,99 (93,25 – 98,69)	0,06
Teste positivo ($F^{\odot}4$, $F^{\odot}5$)				
HTC ≤ 15	2,31 (1,24 – 3,92)	3,15 (1,40 – 6,94)	97,93 (97,05 – 98,55)	0,01
HTC ≤ 18	6,58 (4,68 – 8,96)	14,17 (10,23 – 19,31)	95,63 (94,10 – 96,78)	0,13
HTC ≤ 19	10,14 (7,77 – 12,94)	19,69 (14,84 – 25,63)	92,64 (90,88 – 94,09)	0,15

Para as ovelhas da raça Morada Nova, os valores de PAV e VPP foram mais altos quando o HTC esteve $\leq 19\%$ nos dois testes positivos para anemia, ou seja, existe uma maior probabilidade de um animal ser anêmico quando o escore $F^{\odot}$ é positivo para anemia. Nos valores de VPN para os dois testes, foram encontrados valores altos para $HTC \leq 15\%$, indicando alta probabilidade destes animais não serem anêmicos quando o escore $F^{\odot}$ é negativo para a anemia. Apesar de todas essas justificativas para os limites de HTC, FERREIRA et al., (2018) usou esses mesmos animais e verificou que essas ovelhas apresentaram uma alta carga de vermes ao longo do ano (até 3300 OPG) e a presença de *H. contortus* foi verificada, entretanto, com poucas mudanças nas medidas de peso corporal e escore de condição corporal. Melhor direcionamento para tratamentos efetivos eficazes, como sugerido nos trabalhos de SOTOMAIOR et al. (2012), THOMAS e SYAMALA (2017) e CINTRA et al. (2018), diminuem a pressão de seleção para anti-helmínticos em parasitas, e assim, prolongam a vida efetiva das drogas.

De acordo com SOTOMAIOR et al. (2012), os valores para SE e SP dependem dos critérios utilizados no estudo e envolvem o manejo dos animais no sistema de produção. Para as ovelhas da raça Morada Nova, esses valores são desconhecidos. Os limites de SE ficaram entre 30,77 e 94,59% e SP entre 30,05 e 79,80% (Tabela 4).

Tabela 4. Sensibilidade (SE) e especificidade (SP) do sistema $F^{\odot}$ (com intervalo de confiança de 95%) de acordo com diferentes critérios de avaliação

	SE (%)	SP (%)
Teste positivo ($F^{\odot}3$, $F^{\odot}4$, $F^{\odot}5$)		
$HTC \leq 15$	92,31 (63,97 – 99,81)	30,05 (26,24 – 34,08)
$HTC \leq 18$	94,59 (81,81 – 99,34)	31,24 (27,29 – 35,40)
$HTC \leq 19$	91,23 (80,70 – 97,09)	31,88 (27,83 – 36,14)
Teste positivo ($F^{\odot}4$, $F^{\odot}5$)		
$HTC \leq 15$	30,77 (9,09 – 61,43)	77,60 (73,87 – 81,02)
$HTC \leq 18$	48,65 (31,92 – 65,60)	79,24 (75,51 – 82,63)
$HTC \leq 19$	43,86 (30,74 – 57,64)	79,80 (76,03 – 83,22)

Quando a classificação do escore $F^{\odot}3$ foi eliminada no critério de teste positivo para anemia, os valores de SE diminuíram e a SP aumentou para todos os pontos de corte do HTC.

5.4 CONCLUSÃO

O sistema F[©] pode ser usado como uma alternativa confiável, reduzindo a pressão de seleção de anti-helmínticos em relação ao tratamento seletivo de rotina, para o controle de vermes hematófagos nas ovelhas da raça Morada Nova.

REFERÊNCIAS

- ARANDAS, J. H. G. et al. Do traditional sheep breeders perform conscious selection? An example from a participatory breeding program of Morada Nova sheep. **Tropical Animal Health and Production**, v. 49, p. 1-9, 2017.
- ARECE-GARCÍA, J. et al. Effect of selective anthelmintic treatments on health and production parameters in Pelibuey ewes during lactation. **Tropical Animal Health and Production**, v. 48, p. 283-287, 2016.
- CINTRA, M. C. R. et al. Sensitivity and specificity of the FAMACHA[®] system in growing lambs, **Veterinary Parasitology**, v. 251, p. 106-111, 2018.
- FERREIRA, J. B. et al. Performance, endoparasitary control and blood values of ewes locally adapted in semiarid region. **Comparative Immunology, Microbiology & Infection Diseases**, v. 52, p. 23-29, 2017.
- FERREIRA, J. B. et al. A multivariate approach to the diagnosis of gastrointestinal infection in ewes. **Veterinary Parasitology**, v. 252, p. 95-97, 2018.
- GORDON, H. M.; WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Council for Scientific and Industrial Research**, v. 12, p. 50-62, 1939.
- GRACE, D. et al. Comparing FAMACHA[®] eye color chart and hemoglobin color scale tests for detecting anemia and improving treatment of bovine trypanosomosis in West Africa. **Veterinary Parasitology**, v. 147, p. 26-9, 2007.
- JAIN, N. C. **Schalm's Veterinary Haematology**. 4^{ed}, Lea & Febiger, Filadélfia, 1986.
- KAPLAN, R. M. et al. Validation of the FAMACHA[®] eye color chart for detecting clinical anemia in sheep and goats on farms in the southern United States. **Veterinary Parasitology**, v. 123, p. 105-120, 2004.
- MARTÍNEZ-VALLADARES, M. et al. The present status of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematode infections of sheep in the northwest of Spain by in vivo and in vitro techniques. **Veterinary Parasitology**, v. 191, p. 177-181, 2013.

- MOORS, E.; GAULY, M. Is the FAMACHA chart suitable for every breed? Correlations between FAMACHA[®] scores and different traits of mucosa colour in naturally parasite infected sheep breeds. **Veterinary Parasitology**, v. 166, p. 108-111, 2009.
- MPHAHLELE, M. et al. Risk factors associated with occurrence of anthelmintic resistance in sheep of resource-poor farmers in Limpopo province, South Africa. **Tropical Animal Health and Production**, v. 51, p. 1-9, 2018.
- OLAH, S. et al. FAMACHA[®]: A potential tool for targeted selective treatment of chronic fasciolosis in sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 212, p. 188-192, 2015.
- PUGH, D. G. **Sheep and goat medicine**. Philadelphia: Elsevier, 2002. 468p.
- SOTOMAIOR, C. S. et al. Sensitivity and specificity of the FAMACHA[®] system in Suffolk sheep and crossbred Boer goats. **Veterinary Parasitology**, v. 190, p. 111-119, 2012.
- THOMAS, M. e SYAMALA, K. Sensitivity and specificity of the FAMACHA[®] system in attapady black goats of kerala. **Indian Journal of Small Ruminant**, v. 23, p. 20-207, 2017.
- THRUSFIELD, M. V. 2005. **Veterinary Epidemiology**. 3^{ed}, Blackwell, Cambridge.
- VAN WYK, J. A. Refugia – overlooked as perhaps the most important factor concerning the development of anthelmintic resistance. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 68, p. 55-67, 2001.
- VAN WYK, J. A.; BATH G. F. The FAMACHA[®] system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. **Veterinary Research**, v. 33, p. 509-529, 2002.
- VATTA, A. F. et al. Testing for clinical anaemia caused by *Haemonchus* spp. in goats farmed under resource-poor conditions in South Africa using an eye colour chart developed for sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 99, p. 1-14, 2001.

CAPÍTULO III

6 AVALIAÇÃO DO SISTEMA FAMACHA[®] EM OVELHAS DA RAÇA MORADA NOVA SOB ABORDAGEM MULTIVARIADA²

² Este capítulo é uma compilação entre dois artigos apresentados no ítem ANEXO B (*A multivariate approach to the diagnosis of gastrointestinal infection in ewes - Veterinary Parasitology*) e ANEXO C (*Parasitological, performance, hematological and serum biochemical parameters of tropical ewes: a canonical study based on the relationship between FAMACHA[®] scores and packed cell volume – Tropical Animal Health and Production*).

AVALIAÇÃO DO SISTEMA FAMACHA[®] EM OVELHAS DA RAÇA MORADA NOVA SOB ABORDAGEM MULTIVARIADA

RESUMO

Diagnosticar os efeitos das infecções por helmintos é uma maneira eficiente de gerenciar esse problema em sistemas de produção de ruminantes. A seleção de animais em um rebanho infectado com *H. contortus* envolve tradicionalmente medições de hematócrito (HTC) e, nos últimos anos, o sistema FAMACHA[®] (F[®]) tem sido muito usado. O objetivo deste estudo foi avaliar a relação entre os escores do sistema F[®] e as faixas HTC em ovelhas localmente adaptadas, utilizando uma abordagem multivariada de componentes principais (APC) e discriminante canônica (ADC). Os animais foram avaliados por meio de características de desempenho (Peso corporal, PC; Escore de condição corporal, ECC), contagem de ovos por gramas de fezes (OPG), valores sanguíneos e bioquímica sérica. Para o primeiro teste, utilizando ACP, as ovelhas foram classificadas em três categorias, de acordo com o escore F[®] e as porcentagens de HCT, como segue: Grupo A (F[®] entre 1 e 2 e HTC $\geq$ 30%); Grupo B (escore F[®] 3 e HTC entre 21 e 29%); Grupo C (F[®] 4 e 5 e HTC $\leq$ 20%). Para o segundo teste, utilizando ADC, as ovelhas foram avaliadas quanto a relação de todas as variáveis do estudo de maneira simultânea em seus agrupamentos nas classificações do escore F[®], com ou sem a correspondência entre o escore F[®] e os valores de HTC. Houve uma semelhança na relação entre o método F[®] e as faixas de HTC, embora os animais tenham padrões de indicadores fisiopatológicos particulares. A ACP e a ADC foram eficientes em determinar a ordem de importância das variáveis do estudo e classificar os diagnósticos animais, respectivamente, utilizando variáveis de desempenho, parasitologia, parâmetros sanguíneos e painel bioquímico sérico em ovelhas da raça Morada Nova.

Palavras chave: bioquímica sérica; componentes principais; discriminante canônica; hematócrito; hematologia; indicadores fisiopatológicos.

EVALUATION OF THE FAMACHA[®] SYSTEM IN MORADA NOVA EWES UNDER A MULTIVARIATE APPROACH

ABSTRACT

Diagnosing the effects of helminth infections is an efficient way to manage the problem in ruminant production systems. The selection of animals in a flock infected with *H. contortus* traditionally involves hematocrit (HTC) measurements and, in recent years, the FAMACHA[®] (F[®]) system has been widely used. However, minor analytical changes have been made. The aim of this study was to evaluate the relationship between the F[®] system scores and HTC strips in locally adapted sheep, using a multivariate principal component (APC) and canonical discriminant (ADC) approach. The animals were evaluated using performance characteristics (body weight, PC; body condition score, ECC), egg count per gram of feces (OPG), blood values and serum biochemistry. For the first test, using ACP, the sheep were classified into three categories, according to the F[®] score and HCT, as follows: Group A (F[®] between 1 and 2 and HTC $\geq$ 30%); Group B (F[®] 3 and HTC score between 21 and 29%); Group C (F[®] 4 and 5 and HTC $\leq$ 20%). For the second test, using ADC, the sheep were evaluated for the relationship of all study variables simultaneously in their groupings in the F[®] score classifications, with or without the correspondence between the F[®] score and the HTC values. There was a similarity in the relationship between the F[®] method and the HTC bands, although the animals have particular pathophysiological indicator patterns. ACP and ADC were efficient in determining the order of importance of the study variables and classifying animal diagnoses, respectively, using performance variables, parasitology, blood parameters and serum biochemical panel in Morada Nova ewes.

Keywords: serum biochemical; principal components; canonical discriminant; packed cell volume; hematology; physiopathology indicators.

6.1 INTRODUÇÃO

A infecção por helmintos é um problema que afeta as ovelhas, causando perdas econômicas significativas, especialmente quando associado à má nutrição e administrações inapropriadas de princípios anti-helmínticos ou mesmo dos tratamentos seletivos direcionados. Como alguns helmintos são parasitos hematófagos, os sinais clínicos podem ser evidentes, dentre eles estão: diminuição do peso corporal, condição corporal deficiente, anemia, hipoproteinemia, sinais de apatia, edema submandibular e aumento da ingestão de água, provavelmente para compensar a perda de peso corporal (FITZPATRICK, 2013; COUTINHO et al., 2015).

Diagnosticar os efeitos das infecções por helmintos é uma maneira eficiente de produzir informações e gerenciar esse problema em sistemas de produção de ruminantes. As medições do percentual de hematócrito (HTC) assim como a identificação de animais com coloração da mucosa ocular pálida utilizando o sistema FAMACHA[®] (F[®]), são indicadores de infecção por parasitos do gênero *Haemonchus*. Em pequenos ruminantes, o sistema F[®] é usado para identificar ovinos que apresentam anemia (VAN WYK e BATH, 2002) e tem sido usado em uma ampla variedade de condições (raças ovinas e seus cruzamentos, diferentes idades e sexos, condições do sistema de produção, condições edafoclimáticas e outras).

Segundo ANDRONICOS et al. (2014), o controle efetivo sobre parasitos gastrintestinais da pecuária do futuro exigirá diversas estratégias de combate e até mesmo convivência. Para determinar as reais limitações do método F[®], diferenças entre espécies, raças (MOUROS e GAULY, 2009), ambientes (FERREIRA et al., 2017), categorias e idades dos animais (MAHIEU et al., 2007; SOTOMAIOR et al., 2012) e sistemas de produção (REYNECKE et al., 2011), fatores cada vez mais específicos devem ser investigados.

Por se tratar de uma variável com elevado nível de subjetividade e além disso, ser classificatória, o escore F[®] foi por muito tempo avaliado de maneira isolada, sem o auxílio de outras variáveis, associando-se minimamente as variáveis contínuas, como por exemplo o próprio valor de HTC. Na verdade, os escore F[®] são até hoje uma extensão

dos valores contínuos de HTC, surgindo como forma de otimizar o diagnóstico dos animais anêmicos e possivelmente acometidos por parasitos hematófagos. Mas, *será que podemos é possível generalizar os intervalos de HTC para diferentes espécies ou raças? O que se vê na cartela do método F° retrata exatamente o padrão de HTC da categoria, determinado por VAN WYK e BATH, (2002)?* O fato é que as decisões tomadas a partir de diagnósticos inconsistentes oferecem riscos, principalmente quando se trata de uma população ovina com base genética diminuída, como é o caso da raça Morada Nova (NUNES et al., 2020).

Apesar de consideravelmente antigo, os estudos multivariados foram muitas vezes deixados para trás, por serem considerados de difícil realização e entendimento. No entanto, atualmente é umas das maneiras mais coerentes de associação entre variáveis de diferentes características (contínuas e discretas). Até o momento, pouco se estudou dentro dessa temática utilizando uma abordagem multivariada, podendo citar os trabalhos de JOHNSTONE et al. (1998) que interpreta de maneira comparativa a carga de parasitos em animais usando aleatorização e variáveis canônicas e STOREY et al. (2017), que valida o método F° para camelídeos no sul dos EUA. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a relação entre os escores do sistema F° e os pontos de corte do HTC em ovelhas localmente adaptadas, utilizando uma abordagem multivariada de componentes principais (APC) e discriminante canônica (ADC).

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos utilizados neste estudo estiveram em conformidade com Comitê de Ética em Uso Animal da UFERSA, Mossoró, RN (Protocolo 23091003895/nº 2014-71).

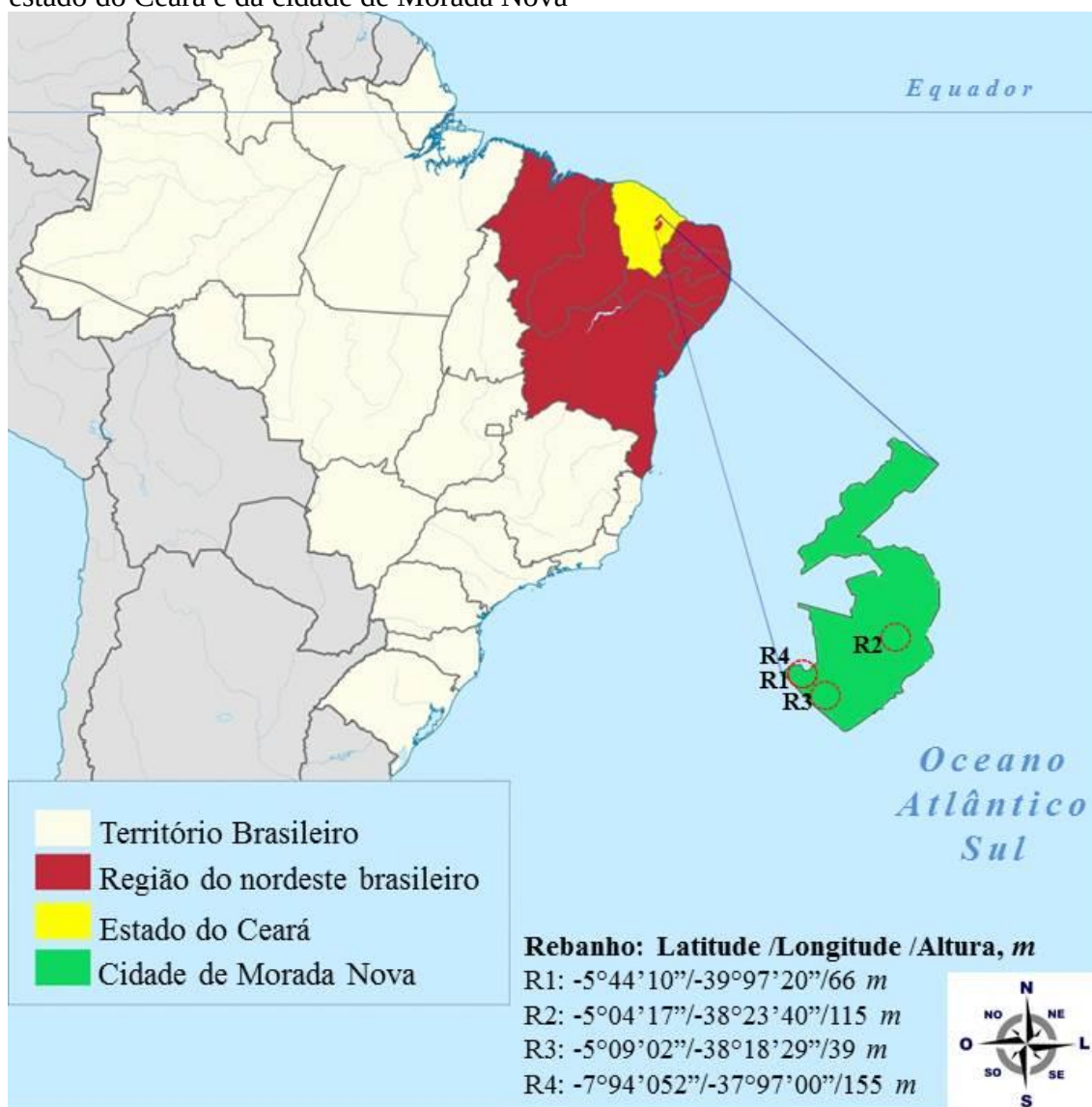
Foram utilizadas 138 ovelhas adultas da raça Morada Nova, de quatro rebanhos (Figura 1) localizados na cidade de Morada e inseridos no núcleo de conservação de raça no estado do Ceará, Brasil (Figura 2). Um total de 562 observações foram realizadas. A posição geográfica e o número de informações de cada rebanho estão expressos na tabela 1.

Figura 1. Rebanhos ovinos da raça Morada Nova utilizados no estudo



Fonte: Arquivo pessoal do autor (J. Ferreira)

Figura 2. Localização geográfica do Brasil, da região nordeste brasileira, seguidas do estado do Ceará e da cidade de Morada Nova



Fonte: Arquivo pessoal do autor (J. Ferreira)

Tabela 1. Posição geográfica (latitude, longitude e altitude), número de animais e número de informações de cada rebanho avaliado no município de Morada Nova - CE

Rebanho	Latitude	Longitude	Altitude (m)	nº de animais	nº de dados
1	-5°44'10"	-39°97'20"	66	32	3384
2	-05°04'17"	-38°23'40"	115	40	3720
3	-5°09'02"	-38°18'29"	39	40	4008
4	-7°94'052"	-37°97'00"	155	26	2376

As avaliações foram realizadas durante os meses de março, junho, setembro e dezembro. A escolha dos meses utilizados foi devido aos eventos de solstício e equinócio

que marcam o início das estações do ano. Apesar da localização experimental apresentar medidas de latitude baixa, que teoricamente não apresentam diferença pronunciada de fotoperíodo, variáveis meteorológicas como, temperatura, umidade relativa, precipitação pluviométrica, além de variáveis relacionadas à vegetação e relevo, podem se modificar com menor intensidade. As variáveis meteorológicas estão expressas na tabela 2, notando-se que houve uma variação considerável entre os meses estudados.

Tabela 2. Variáveis meteorológicas do município de Morada Nova – CE

Meses do ano	Variáveis meteorológicas		
	Tar, °C	UR, %	Pp, mm
Março	35,5	40,5	56,0
Junho	33,7	51,1	153,0
Setembro	36,4	38,0	0,0
Dezembro	37,1	40,15	19,5

Tar = Temperatura do ar; UR = umidade relativa; Pp = precipitação pluviométrica

Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia (2015)

As fêmeas utilizadas no estudo estavam em idade reprodutiva (1 – 5 anos) e saudáveis, mediante os testes clínicos e laboratoriais e haviam recebido seu último tratamento anti-helmíntico pelo menos seis semanas antes do início do estudo. Em todas as épocas do ano, os animais passaram o dia alimentando-se na vegetação do bioma Caatinga – que possui predominantemente uma vegetação arbustiva-herbácea e em áreas mais abertas, os animais se alimentam de cactos e bromélias durante os períodos de seca – e, à noite, foram alojadas em um curral coletivo, onde receberam sal mineral e água *ad libitum*. As médias anuais de temperatura do ar, umidade relativa e precipitação pluviométrica foram de 35,6 ° C, 42,4% e 76,1 mm, respectivamente.

Todos os animais foram avaliados quanto às seguintes características:

- Desempenho: peso corporal (PC) e ECC (MACHADO et al., 2008);
- Exames parasitológicos: contagem de ovos nas fezes (OPG) (GORDON e WHITLOCK, 1939)
- Anemia: sistema F[©] (VAN WYK e BATH, 2002) – realizado por apenas um avaliador;
- Hematologia: concentração de hemoglobina (CH), HTC, volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e leucócitos

(LE) – Mediante a coleta de sangue utilizando sistema a vácuo por venopunção da jugular, extraindo-se uma amostra de sangue total em tubo de 5 mL contendo como anticoagulante (EDTA), e logo após realizou-se o exame utilizando o analisador automático Labtest Diagnostica SA - Lagoa Santa, MG, Brasil;

- Painel bioquímico sérico: glicose (GLI), colesterol (COL), triglicerídeos (TRI), ureia (URE), creatinina (CRE), proteína total (PT), albumina (ALB), globulina (GLO), aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) - Mediante a coleta de sangue utilizando sistema a vácuo por venopunção da jugular, extraindo-se uma amostra de sangue total em tubo de 5 ml contendo gel separador, para a obtenção do soro.

Para as análises estatísticas e a correta aplicação das técnicas multivariadas, verificaram-se os seguintes pressupostos: 1º ausência de outliers multivariados, 2º normalidade das variáveis independentes, 3º linearidade das relações, 4º ausência de multicolinearidade entre variáveis independentes e matrizes de dispersão. As duas funções discriminantes estavam no nível de significância estatística parcial R^2 e F.

As análises estatísticas foram divididas em dois tipos de testes: 1 – Utilizando análises de componentes principais (ACP); 2 – Utilizando análises discriminantes canônicas (ADC).

Teste 1

No primeiro teste os animais foram classificados em três categorias de acordo com os resultados da classificação do sistema F° e do HTC, como segue: Grupo A (F° entre 1 e 2 e $HTC \geq 30\%$); Grupo B (F° 3 e HTC entre 21 e 29%); e Grupo C (F° entre 4 e 5 e $HTC \leq 20\%$). Estes intervalos foram feitos propositalmente de maneira mais distinta para não eliminar observações que não se agrupassem em um dos três grupos, como segue a categorização proposta por VAN WYK e BATH (2002) descrita na tabela 3.

Tabela 3. Correspondências entre a categoria classificação do sistema F[©] e a porcentagem de HTC em ovinos

F [©]	Limites de HTC (%)
1	> 28
2	23 – 27
3	18 – 22
4	13 – 17
5	< 12

Fonte: VAN WYK e BATH (2002)

A ACP foi usada como ferramenta estatística para observar a distribuição dos animais e das variáveis, ambas avaliadas pelos autovalores e autovetores (variâncias) de acordo com os grupos estabelecidos. A análise discriminante foi realizada com apoio dos procedimentos STEPDISC para determinar quais variáveis tinham maior poder discriminante. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando PRIMER 6 e PERMANOVA + (PRIMER-E Ltd., Plymouth, Reino Unido).

Um modelo linear geral de análise de variância também foi utilizado para as variáveis contínuas afim de verificar alguma diferença entre grupos. As variáveis OPG e LE foram transformadas utilizando logaritmo ($\log 10x + 1$) por se tratarem de variáveis com elevado coeficiente de variação.

Teste 2

Para o segundo teste foi realizado um estudo canônico para as classificações do sistema F[©]. Um total de 16.047 informações, organizadas em duas planilhas do Microsoft Excel[©] (2017), considerando todas as informações, porém, utilizando um critério de eliminação de informações para uma delas: a correspondência entre os resultados classificados como verdadeiros positivos para anemia entre o método F[©] e os valores de HTC, descritos pelo estudo de VAN WYK e BATH (2002) e citados na tabela 3.

As variáveis das duas bases de dados foram submetidas a análises descritivas (Média $\pm$ desvio padrão; Mínimo; Máximo; Coeficiente de variação) para identificar as particularidades de cada um deles em sua respectiva base de dados, exceto escores F[©] e ECC que não devem ser tratados como dados contínuos segunda recomendação de MAHIEU (2017), portanto são descritos utilizando histogramas de frequência. Assim

como na análise anterior o OPG e o LE foram transformados usando logaritmo para normalizar a distribuição dos dados.

A ADC foi realizada para classificar animais de acordo com os grupos de variáveis ([1] OPG; [2] PC e ECC; [3] Exames hematológicos; [4] Exames bioquímicos séricos; [5] Todas as variáveis) de acordo com a correspondência do sistema F[®] ou sem associado a confiabilidade do HTC e para verificar a capacidade discriminatória das variáveis originais. Todas as análises estatísticas foram realizadas no Statistical Package for the Social Sciences - SPSS, versão 20, 2010 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA).

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Teste 1

A tabela 4 mostra os valores médios do PC, OPG, hematologia e bioquímica sérica de ovelhas da raça Morada Nova, de acordo com os diferentes grupos formados a partir das faixas de HTC e classificações do escore F[©]. A média de PC não mudou entre os três grupos. Foi verificado um aumento sequencial para as médias de OPG^{Log 10[×]+} (A < B < C), acompanhado de uma diminuição nas médias de CH e HE. Para os índices hematimétricos foi observado o oposto, sendo as médias de MCV, MCH e MCHC maiores no grupo A e menores no grupo C.

Tabela 4. Médias $\pm$ desvio padrão ($\mu \pm dp$) para o PC, OPG, hematologia e bioquímica sérica em diferentes grupos de HTC e escore F[©] em ovelhas da raça Morada Nova

Variável	Unidade	Grupos		
		A (n = 166) F [©] 1-2 / HTC $\geq$ 30%	B (n = 269) F [©] 3 / HTC 21 – 29%	C (n = 127) F [©] 4-5 / HTC $\geq$ 20%
PC	kg	30,04 $\pm$ 0,36	30,53 $\pm$ 0,45	30,73 $\pm$ 0,52
OPG ^{Log 10[×]+}	ovos/g	101,23 $\pm$ 24,28 ^a	117,14 $\pm$ 19,07 ^{ab}	212,96 $\pm$ 27,76 ^b
CH	$\times 10^6/\mu\text{l}$	9,32 $\pm$ 0,16 ^a	8,60 $\pm$ 0,12 ^b	7,47 $\pm$ 0,18 ^c
HE	g/dL	10,18 $\pm$ 0,13 ^b	9,86 $\pm$ 0,10 ^b	9,00 $\pm$ 0,14 ^a
MCV	fl	29,45 $\pm$ 0,34 ^a	31,26 $\pm$ 0,27 ^b	31,39 $\pm$ 0,39 ^b
MCH	pg	11,19 $\pm$ 0,19 ^a	11,90 $\pm$ 0,15 ^b	12,47 $\pm$ 0,21 ^b
MCHC	g/dL	36,86 $\pm$ 0,69 ^a	37,45 $\pm$ 0,30 ^a	39,73 $\pm$ 0,44 ^b
LE ^{Log 10[×]+}	$\times 10^3/\text{mL}$	7031,92 $\pm$ 262,45	6363,12 $\pm$ 206,17	7254,01 $\pm$ 300,06
GLI	mg/dL	53,54 $\pm$ 0,31 ^b	51,58 $\pm$ 1,03 ^{ab}	47,89 $\pm$ 1,50 ^a
COL	mg/dL	76,86 $\pm$ 1,64	74,28 $\pm$ 1,29	74,14 $\pm$ 1,87
TRI	mg/dL	21,30 $\pm$ 0,54	20,91 $\pm$ 0,42	21,50 $\pm$ 0,61
URE	mg/dL	47,02 $\pm$ 0,94 ^b	47,92 $\pm$ 0,74 ^b	43,88 $\pm$ 1,08 ^a
CRE	g/dL	1,09 $\pm$ 0,02	1,07 $\pm$ 0,02	1,07 $\pm$ 0,02
PT	g/dL	7,82 $\pm$ 0,12	7,63 $\pm$ 0,10	7,56 $\pm$ 0,14
ALB	g/dL	4,32 $\pm$ 0,04	4,33 $\pm$ 0,03	4,33 $\pm$ 0,05
GLO	g/dL	1,89 $\pm$ 0,04	1,96 $\pm$ 0,04	2,02 $\pm$ 0,05
AST	U/L	136,64 $\pm$ 2,86	134,35 $\pm$ 2,22	134,72 $\pm$ 3,23
ALT	U/L	28,48 $\pm$ 0,89 ^b	26,32 $\pm$ 0,70 ^{ab}	23,81 $\pm$ 1,02 ^a

OPG: contagem de ovos; PC: peso corporal; CE: concentração de hemoglobina; HE: hemácias; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; LE: leucócitos; GLI: glicose; COL: colesterol; TRI: triglicerídeos; URE: ureia; CRE: creatinina; PT: proteína total; ALB: albumina; GLO: globulina; AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase

Letras diferentes entre colunas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (5% de probabilidade)

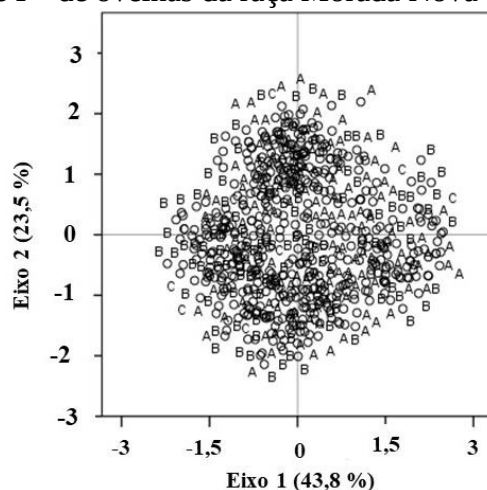
Teoricamente, por serem o grupo de maior atenção quanto às medidas de controle das endoparasitoses gastrintestinais, é interessante notar que apenas 4 (3,14%) das ovelhas que compõe o grupo C, de acordo com as recomendações de VAN WYK e BATH (2002) e levando em consideração um teste positivo para anemia ($HTC < 12\%$), associado a uma classificação do sistema F° mais alto ($F^{\circ} 5$), precisariam urgentemente ser tratadas com anti-helmíntico. De acordo essas mesmas recomendações, 109 (85,82%) das ovelhas deste mesmo grupo, receberiam desnecessariamente tratamento anti-helmíntico, por serem classificadas com escore $F^{\circ} 4$, no entanto, apresentando valores de HTC acima de 18%. O limiar de avaliação entre as classificações do sistema F° e assim, o diagnóstico positivo para anemia em ovinos, trata-se de um fator decisivo para o tratamento seletivo dos animais e que influencia na longevidade do uso de um mesmo princípio ativo de anti-helmíntico usado para combater helmintoses. Os erros frequentes nestas avaliações possibilitam o aumento da resistência dos parasitos frente aos anti-helmínticos, tornando a população de parasitos susceptíveis menor e trazendo riscos para as ovelhas da raça Morada Nova.

Entre as variáveis do painel bioquímico sérico, GLU, URE e ALT apresentaram médias menores no grupo C e maiores no grupo A. Todas as outras variáveis não diferiram entre os grupos. Verificou-se que estas variáveis não se alteraram ou se alteram pouco na raça estudada, resultado que corrobora como o estudo de FERREIRA et al. (2019), que estratificou os animais, usando efeitos como idade e ECC. O fato destes animais enfrentarem privações de água e de alimentos durante alguns meses do ano nas regiões semiáridas brasileiras poderia justificar as mudanças pontuais para essas variáveis.

As análises multivariadas são as ferramentas estatísticas mais adequadas para estimar associações (CABARET e HOSTE, 1998). Na figura 3 (todos os grupos juntos em uma biplotagem) e na figura 4 (grupos separados em cada biplotagem), os grupos

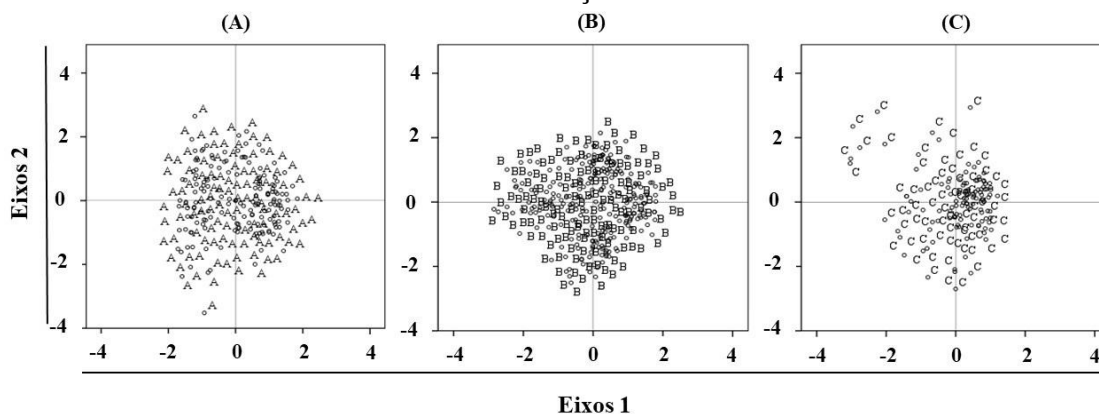
diferem pouco, os pontos pertencentes aos três grupos estão espalhados uniformemente, indicando que há pouca variação entre eles.

Figura 3. Plotagem bidimensional da ACP para os diferentes grupos de classificação usando o HTC e o escore $F^{\odot}$ de ovelhas da raça Morada Nova



(A) Grupo A ($F^{\odot}$ entre 1 e 2 e $HTC \geq 30\%$); (B) Grupo B ($F^{\odot} \geq 3$ e HTC entre 21 e 29%); (C) Grupo C ($F^{\odot}$ entre 4 e 5 e $HTC \leq 20\%$)

Figura 4. Plotagem bidimensional da ACP para os diferentes grupos de classificação usando o HTC e o escore $F^{\odot}$ de ovelhas da raça Morada Nova

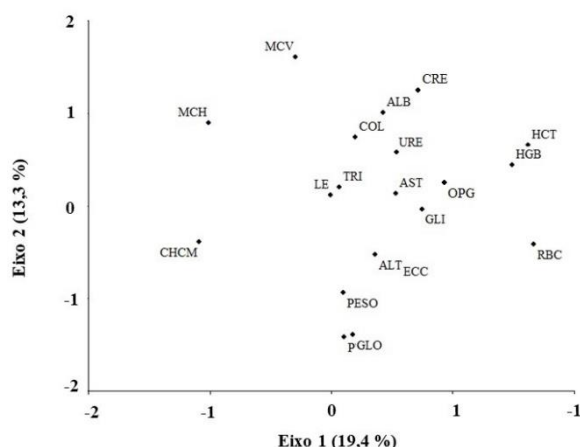


(A) Grupo A ($F^{\odot}$ entre 1 e 2 e $HTC \geq 30\%$); (B) Grupo B ($F^{\odot} \geq 3$ e HTC entre 21 e 29%); (C) Grupo C ($F^{\odot}$ entre 4 e 5 e $HTC \leq 20\%$)

A figura 5 mostra a distribuição das variáveis de toda a população de ovelhas do estudo e os dois autovetores explicaram 35,4% da variação dos dados. As variáveis mais discriminatórias na população de ovelhas da raça Morada Nova foram, em ordem de importância, HC, HE, CHCM, HCM, GLI, CRE, ECC, URE, AST, $OPG_{\log 10 \times +1}$, ALT, MCV, LE, COL, GLO, ALB, PT, PC e TRI. A figura 6 mostra a distribuição das variáveis em uma plotagem bidimensional de ACP para cada grupo estudado. Os dois autovetores

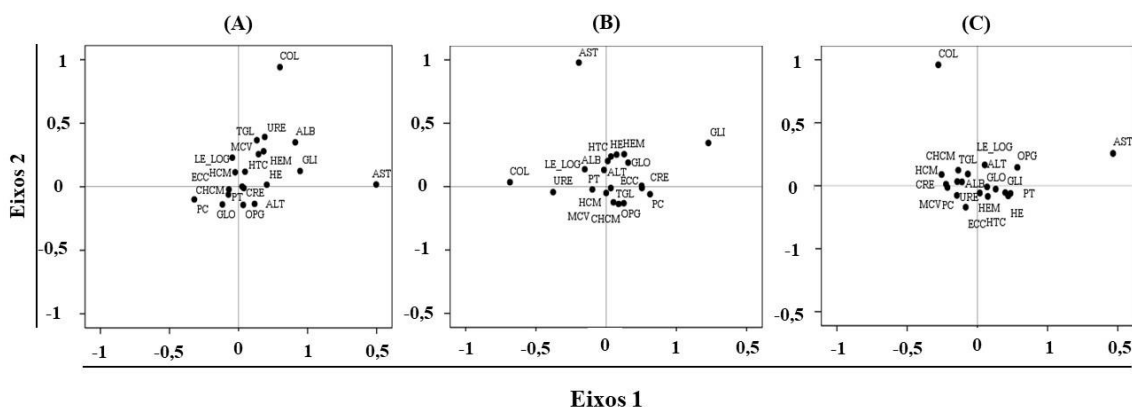
explicaram 75,6%, 68,1% e 79,2% das variações totais entre as características examinadas para os grupos A, B e C, respectivamente.

Figura 5. Plotagem bidimensional da ACP para todas as variáveis do estudo, nos diferentes grupos de classificação usando o HTC e o escore F^{C} em ovelhas da raça Morada Nova



PC: peso corporal; OPG: contagem de ovos; HE: concentração de hemoglobina; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; LE: leucócitos; GLI: glicose; COL: colesterol; TRI: triglicerídeos; URE: ureia; CRE: creatinina; PT: proteína total; ALB: albumina; GLO: globulina; AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase

Figura 6. Plotagem bidimensional da ACP para todas as variáveis do estudo, nos diferentes grupos de classificação usando o HTC e o escore F^{C} em ovelhas da raça Morada Nova



(A) Grupo A ($F^{\oplus}$ entre 1 e 2 e $HTC \geq 30\%$); (B) Grupo B ($F^{\oplus}$ 3 e HTC entre 21 e 29%); (C) Grupo C ($F^{\oplus}$ entre 4 e 5 e $HTC \leq 20\%$)

PC: peso corporal; OPG: contagem de ovos; HE: concentração de hemoglobina; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; LE: leucócitos; GLI: glicose; COL: colesterol; TRI: triglicerídeos; URE: ureia; CRE: creatinina; PT: proteína total; ALB: albumina; GLO: globulina; AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase

Os escores de classificação do sistema F[©] e os valores de HTC mostraram-se critérios efetivos para diferenciar grupos com diferentes diagnósticos, uma vez que a maioria dos animais do estudo apresentaram alterações entre os grupos, principalmente para os parâmetros hematológicos. Para usar o sistema F[©] como ferramenta de diagnóstico de anemia, causada por parasitos hematófagos em ovinos, sob a orientação de VAN WYK e BATH (2002) é de segura importância manter registros adequados, principalmente das classificações do sistema F[©].

Teste 2

Os valores descritivos de cada variável para as duas bases de dados, a primeira sem o uso da concordância entre o sistema F[©] e os valores de HTC (D1) e a segunda usando a concordância entre o sistema F[©] e os valores de HTC (D2) são apresentadas nas tabelas 5 e 6, respectivamente. A variação média de cada uma das variáveis é pequena para os dois bancos de dados, assim como nas frequências para os escores F[©] (Figura 7) e ECC (Figura 8).

Tabela 5. Médias $\pm$ desvio padrão ($\mu \pm dp$), mínimos (Min.), máximos (Max.) e coeficientes de variação (CV) para o PC, OPG, hematologia e bioquímica sérica, sem utilizar a correspondência entre o HTC e escore F[©] em ovelhas da raça Morada Nova

Variável	Unidade	Média $\pm$ dp	Min.	Max.	CV (%)
PC	kg	30,48 $\pm$ 6,17	3,00	45,00	20,23
OPG ^{Log 10$\times$+1}	ovos/g	1,33 $\pm$ 1,06	0	3,52	79,44
RBC	$\times 10^6/\mu\text{l}$	7,91 $\pm$ 1,96	4,03	12,27	24,72
HE	g/dL	9,00 $\pm$ 1,27	5,50	12,20	14,06
MCV	fl	29,71 $\pm$ 4,08	22,00	37,00	13,75
MCH	pg	11,95 $\pm$ 2,62	8,50	26,00	21,92
MCHC	g/dL	39,81 $\pm$ 4,43	32,50	55,50	11,13
LE ^{Log 10$\times$+1}	$\times 10^3/\text{mL}$	3,75 $\pm$ 0,51	0	6,96	13,53
GLI	mg/dL	51,68 $\pm$ 15,99	13,00	112,00	30,93
COL	mg/dL	74,44 $\pm$ 28,73	34,00	314,00	38,60
TRI	mg/dL	21,02 $\pm$ 6,29	10,00	43,00	29,93
URE	mg/dL	44,64 $\pm$ 10,82	23,00	80,00	24,23

CRE	g/dL	1,07 ± 0,26	0,20	1,80	24,30
PT	g/dL	7,68 ± 1,79	2,50	13,00	23,29
ALB	g/dL	4,24 ± 0,56	3,20	5,80	13,27
GLO	g/dL	1,93 ± 0,52	0,47	4,30	26,75
AST	U/L	132,73 ± 38,01	1,00	324,00	28,64
ALT	U/L	27,65 ± 11,14	11,00	85,00	40,29

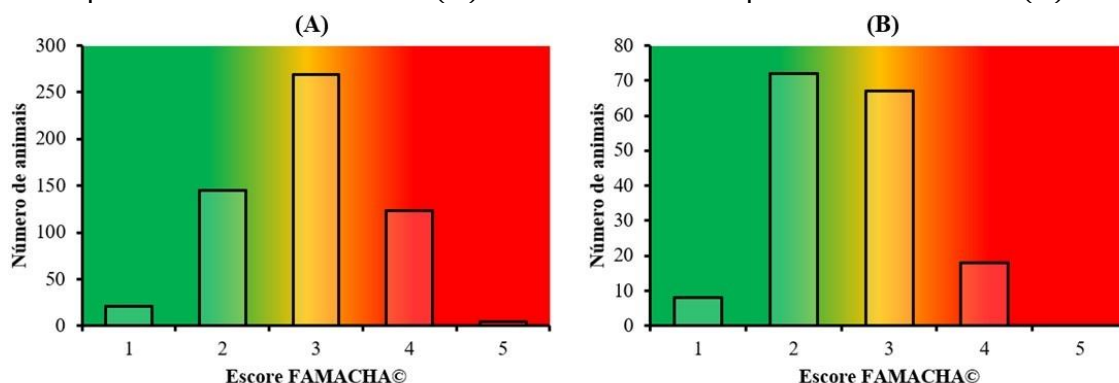
OPG: contagem de ovos; PC: peso corporal; HE: concentração de hemoglobina; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; LE: leucócitos; GLI: glicose; COL: colesterol; TRI: triglicerídeos; URE: ureia; CRE: creatinina; PT: proteína total; ALB: albumina; GLO: globulina; AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase

Tabela 6. Médias ± desvio padrão ($\mu \pm dp$), mínimos (Min.), máximos (Max.) e coeficientes de variação (CV) para PC, OPG, hematologia e bioquímica sérica, utilizando a correspondência entre o HTC e escore F[©] em ovelhas da raça Morada Nova

Variável	Unidade	Média ± dp	Min.	Max.	CV (%)
PC	kg	30,33 ± 5,72	14,92	46,10	18,87
OPG ^{Log 10×+1}	ovos/g	1,29 ± 1,02	0	3,52	78,99
RBC	×10 ⁶ /μL	8,56 ± 2,11	2,81	16,20	24,63
HE	g/dL	9,76 ± 1,67	2,70	15,48	17,14
MCV	fl	30,75 ± 4,48	22,00	50,00	14,58
MCH	pg	11,82 ± 2,45	8,29	34,00	20,71
MCHC	g/dL	38,28 ± 5,04	13,60	69,30	13,17
LE ^{Log 10×+1}	×10 ³ /mL	3,74 ± 0,50	0	6,96	13,35
GLI	mg/dL	51,33 ± 16,95	9,00	147,00	33,02
COL	mg/dL	75,01 ± 21,12	23,00	314,00	28,15
TRI	mg/dL	21,16 ± 6,91	8,00	61,00	32,67
URE	mg/dL	46,74 ± 12,25	10,00	97,00	26,20
CRE	g/dL	1,08 ± 0,26	0,20	1,80	24,08
PT	g/dL	7,67 ± 1,61	2,30	13,00	20,95
ALB	g/dL	4,33 ± 0,52	2,20	6,50	11,95
GLO	g/dL	1,95 ± 0,58	0,43	9,45	29,52
AST	U/L	135,11 ± 36,32	1,00	324,00	26,88
ALT	U/L	26,39 ± 11,63	2,00	158,00	44,06

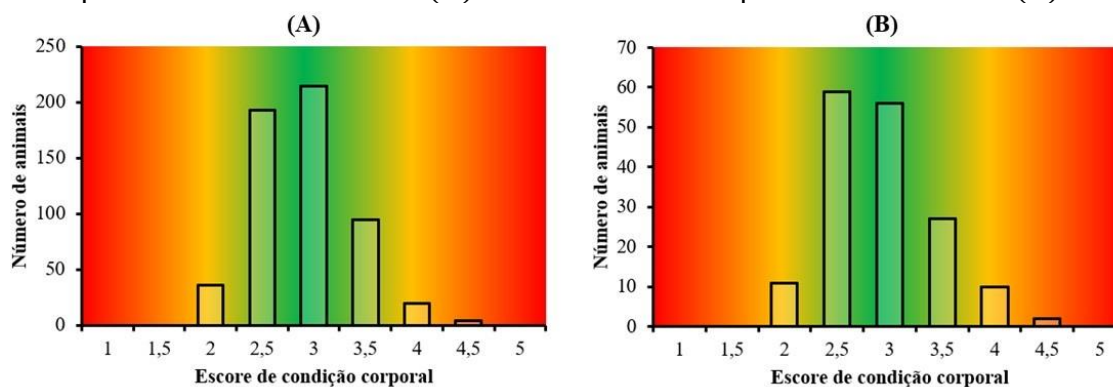
OPG: contagem de ovos; PC: peso corporal; HE: concentração de hemoglobina; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; LE: leucócitos; GLI: glicose; COL: colesterol; TRI: triglicerídeos; URE: ureia; CRE: creatinina; PT: proteína total; ALB: albumina; GLO: globulina; AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase

Figura 7. Frequências de classificações do escore $F^{\odot}$ nas bases de dados sem utilizar a correspondência entre HTC e $F^{\odot}$ (A) e utilizando a correspondência HTC e $F^{\odot}$ (B)



Nota: O gradiente de cores representa os resultados do escore $F^{\odot}$, onde verde significa negativo para anemia, vermelho positivo para anemia e tons amarelados/alaranjados níveis intermediários de anemia

Figura 8. Frequência de classificações do ECC nas bases de dados sem utilizar a correspondência entre HTC e $F^{\odot}$ (A) e utilizando a correspondência HTC e $F^{\odot}$ (B)



Nota: O gradiente de cores representa os resultados do ECC, onde verde significa um ótimo de vermelho significa um péssimo ECC e tons amarelados/alaranjados significam ECC intermediário

As classificações para CDA são mostradas nas tabelas 7 e 8. Quando o OPG (1) foi utilizado para a classificação dos animais no escore $F^{\odot}$, as ovelhas foram concentradas entre os escores 3 e 4 para D1 e, para D2, as ovelhas foram classificadas e distribuídos nas categorias 2, 3 e 4. Quando outros grupos de variáveis foram utilizados, neste caso, o PC e o ECC (2), os parâmetros sanguíneos (3) e o painel bioquímico sérico (4), a classificação foi distribuída entre todas as categorias de escores $F^{\odot}$.

Tabela 7. Número e porcentagem de animais classificados em cada grupo de acordo com a classificação do sistema F[©], sem utilizar a correspondência entre HTC e F[©]

	Categoria F [©]				
	F [©] 1	F [©] 2	F [©] 3	F [©] 4	F [©] 5
(1) OPG					
F [©] 1	0 (0%)	0 (0%)	20 (95,2%)	1 (4,8%)	0 (0%)
F [©] 2	0 (0%)	0 (0%)	143 (98,6%)	2 (1,4%)	0 (0%)
F [©] 3	0 (0%)	0 (0%)	265 (98,5%)	4 (1,5%)	0 (0%)
F [©] 4	0 (0%)	0 (0%)	117 (95,5%)	6 (5%)	0 (0%)
F [©] 5	0 (0%)	0 (0%)	4 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
(2) PC e ECC					
F [©] 1	0 (0%)	0 (0%)	20 (95,2%)	1 (4,8%)	0 (0%)
F [©] 2	0 (0%)	7 (4,8%)	135 (93,1%)	3 (2,1%)	0 (0%)
F [©] 3	0 (0%)	7 (2,6%)	260 (96,7%)	2 (0,7%)	0 (0%)
F [©] 4	0 (0%)	2 (1,6%)	121 (98,4%)	0 (0%)	0 (0%)
F [©] 5	0 (0%)	0 (0%)	4 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
(3) Parâmetros hematológicos					
F [©] 1	0 (0%)	1 (4,8%)	20 (95,2%)	0 (0%)	0 (0%)
F [©] 2	0 (0%)	13 (9%)	128 (88,2%)	4 (2,8%)	0 (0%)
F [©] 3	0 (0%)	11 (4,1%)	240 (89,2%)	18 (6,7%)	0 (0%)
F [©] 4	0 (0%)	3 (2,4%)	99 (80,5%)	21 (17,1%)	0 (0%)
F [©] 5	0 (0%)	0 (0%)	4 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
(4) Pannel bioquímico sérico					
F [©] 1	1 (4,8%)	1 (4,8%)	19 (90,4%)	0 (0%)	0 (0%)
F [©] 2	0 (0%)	15 (10,3%)	128 (88,3%)	2 (1,4%)	0 (0%)
F [©] 3	0 (0%)	10 (3,7%)	247 (91,8%)	12 (4,5%)	0 (0%)
F [©] 4	0 (0%)	6 (4,9%)	109 (88,6%)	8 (6,5%)	0 (0%)
F [©] 5	0 (0%)	0 (0%)	4 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
(5) Todas as variáveis					
F [©] 1	2 (9,5%)	3 (14,3%)	15 (71,4%)	1 (4,8%)	0 (0%)
F [©] 2	1 (0,7%)	43 (29,7%)	97 (66,8%)	4 (2,8%)	0 (0%)
F [©] 3	0 (0%)	24 (8,9%)	220 (81,8%)	25 (9,3%)	0 (0%)
F [©] 4	0 (0%)	3 (2,4%)	87 (70,7%)	33 (26,8)	0 (0%)
F [©] 5	0 (0%)	0 (0%)	4 (100%)	0 (0%)	0 (0%)

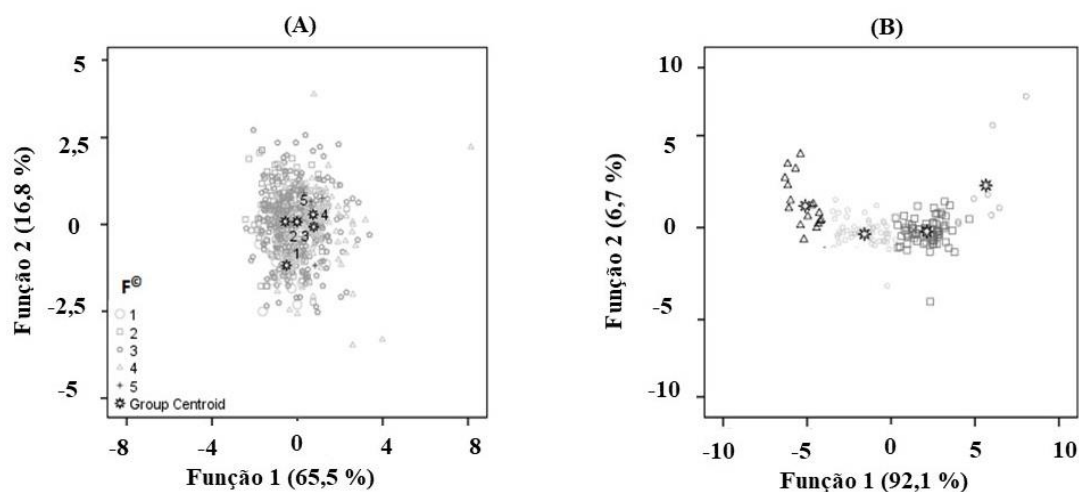
Tabela 8. Número e porcentagem de animais classificados em cada grupo de acordo com a classificação do sistema F[©], utilizando a correspondência entre HTC e F[©]

	Categoria F [©]				
	F [©] 1	F [©] 2	F [©] 3	F [©] 4	F [©] 5
(1) OPG					
F [©] 1	0 (0%)	7 (87,5%)	0 (0%)	1 (12,5%)	0 (0%)
F [©] 2	0 (0%)	70 (97,2%)	0 (0%)	2 (2,8%)	0 (0%)
F [©] 3	0 (0%)	56 (83,6%)	10 (14,9%)	1 (1,5%)	0 (0%)
F [©] 4	0 (0%)	13 (72,2%)	2 (11,1%)	3 (16,7)	0 (0%)
F [©] 5	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
(2) PC e ECC					
F [©] 1	0 (0%)	5 (62,5%)	3 (37,5%)	0 (0%)	0 (0%)
F [©] 2	0 (0%)	46 (63,9%)	26 (36,1%)	0 (0%)	0 (0%)
F [©] 3	1 (1,5%)	30 (44,8%)	36 (53,7%)	0 (0%)	0 (0%)
F [©] 4	0 (0%)	6 (33,3%)	12 (66,7%)	0 (0%)	0 (0%)
F [©] 5	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
(3) Parâmetros hematológicos					
F [©] 1	5 (62,5%)	3 (37,5%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
F [©] 2	0 (0%)	71 (98,6%)	1 (1,4%)	0 (0%)	0 (0%)
F [©] 3	0 (0%)	1 (1,5%)	65 (97%)	1 (1,5%)	0 (0%)
F [©] 4	0 (0%)	0 (0%)	1 (5,6%)	17 (94,4%)	0 (0%)
F [©] 5	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
(4) PAINEL bioquímicos sérico					
F [©] 1	1 (12,5%)	6 (75%)	1 (12,5%)	0 (0%)	0 (0%)
F [©] 2	1 (1,4%)	52 (72,2%)	19 (26,4%)	0 (0%)	0 (0%)
F [©] 3	0 (0%)	23 (34,3%)	42 (64,7%)	2 (3%)	0 (0%)
F [©] 4	0 (0%)	5 (27,8%)	10 (55,6%)	3 (16,7%)	0 (0%)
F [©] 5	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
(5) Todas as variáveis					
F [©] 1	6 (75%)	2 (25%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
F [©] 2	0 (0%)	70 (97,2%)	2 (2,8%)	0 (0%)	0 (0%)
F [©] 3	0 (0%)	1 (1,5%)	66 (98,5%)	0 (0%)	0 (0%)
F [©] 4	0 (0%)	0 (0%)	1 (5,5%)	17 (98,5%)	0 (0%)
F [©] 5	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

As duas funções canônicas discriminantes dos dois bancos de dados (D1 e D2) são apresentadas na figura 9. As variáveis mais importantes para a classificação individual do animal em cada classificação do sistema F[©] para D1 foram HE, HTC, MCV, ECC e PC

(62,5%) e para D2, HTC, HE e CE (92,1%). A difícil identificação dos cinco grupos na figura 9-A deve-se à pouca relação entre as variáveis do D1, sendo classificados de maneira muito semelhante; no entanto, para D2) as variáveis apresentaram um perfil mais definido e os grupos da classificação mais visíveis (Figura 9-B).

Figura 9. Plotagem bidimensional para a ADC nas bases de dados sem utilizar a correspondência entre HTC e $F^{\odot}$ (A) e utilizando a correspondência entre HTC e $F^{\odot}$ (B)



As investigações quanto ao uso do sistema $F^{\odot}$ em ovinos tornaram-se frequentes a fim de testar a eficiência do método em diferentes raças. Esse estudo é uma abordagem atualizada para a avaliação do sistema $F^{\odot}$ em ovelhas da raça Morada Nova, utilizando uma abordagem estatística multivariada. Os resultados demonstram que a correspondência entre as classificações do escore $F^{\odot}$ e o HTC tem relevância para o tratamento seletivo de ovelhas da raça Morada Nova, com algumas ressalvas. Estudos clássicos como o de VAN WYK e BATH (2002) impulsionaram o uso desse método, que é até hoje considerado uma medida sustentável de tratamento seletivo de ovelhas acometidas por endoparasitos hematófagos do gênero *H. contortus*. No entanto, os estudos utilizam ferramentas de análise que consideram, na maioria das vezes, apenas o HTC como “padrão ouro” na identificação correta do grau de anemia dos animais e acabam não considerando outras características morfofisiológicas que podem ocorrer no organismo e que são identificadas por outras variáveis. Em nosso estudo, assim como FERREIRA et al. (2018) e ZARAGOZA-VERA et al. (2019), há uma busca em entender

a funcionalidade e a relação que as outras variáveis apresentam com o grau de anemia e, assim com os escores F° , percentuais de HTC, OPG, ECC, parâmetros hematológicos e painel bioquímico sérico de ovelhas.

Em comparação com um tratamento que leva em consideração uma estimativa pontual, ou seja, valores únicos e imóveis de categorização dos escores F° e HTC para tratamento de animais, a consulta em estudos com valores de referência criados para uma raça ou espécie apresentam grande aplicabilidade e permitem maior confiabilidade. O tratamento convencional contra endoparasitos gastrintestinais estimulou fortemente o uso massivo de anti-helmínticos na produção de pequenos ruminantes. Já, o uso do sistema F° como tratamento seletivo, baseia-se na investigação preliminar e categorização individual do animal nos escores do sistema F° 3 a 5, e posterior confirmação da anemia pelos valores de HTC (VAN WYK e BATH, 2002).

A eficiência do método F° em ovelhas tropicais brasileiras, especificamente da raça Morada Nova, foi verificada por FERREIRA et al. (2019), avaliando-se pontos de corte nos escores 3, 4 e 5 em diferentes valores de HTC (15, 18 e 19%) como testes positivos para anemia. ZARAGOZA-VERA et al. (2019) também identificaram o uso consistente do HTC para diagnosticar o impacto dos nematóides na saúde de ovelhas das raças Blackbelly, Pelibuey e Katahdin no México. Em regiões semiáridas, a infecção por endoparasitos gastrintestinais apresenta padrões particulares e sazonais, variando de acordo com o clima, principalmente. No entanto, as ovelhas inseridas em ambientes áridos ou semiáridos, com elevadas faixas de temperaturas e baixa umidade, convivem com uma elevada carga de parasitos gastrintestinais ao longo do ano, principalmente no período chuvoso (FERREIRA et al., 2017; EKE et al., 2019).

O ECC é uma medida prática que indica as reservas energéticas de um animal (IDIKA et al., 2012; SOTO BARRIENTOS et al., 2018), no entanto, foi usada anteriormente como um indicador da intensidade da infecção por endoparasitos gastrintestinais, sendo verificada a relação com a contagem de OPG (CORNELIUS e BESIER, 2014; TORRES-ACOSTA et al., 2014). Por se tratar de uma medida corporal, o ECC pode retratar a influência simultânea de vários fatores, inclusive parasitológicos (TORRES-ACOSTA et al., 2014). No entanto, a qualidade e/ou a quantidade de alimentos para atenderem as exigências produtivas e reprodutivas devem ser o ponto fundamental quando se trata dessa variável (SOTO BARRIENTOS et al., 2018). Houve uma variação

de 2,0 à 4,5 para o ECC, independentemente da correspondência entre HTC e escore F° , como mostrado na figura 8. No que diz respeito ao uso da classificação de ECC como efeito foram relatados resultados divergentes (ALHAMADA et al., 2017; FERREIRA et al., 2019) e o seu uso foi sugerido para identificar animais resistentes aos nematoides (COUTINHO et al., 2015). Um animal anêmico avaliado sob uma abordagem clássica, com $HTC \leq 17\%$ e classificação do escore F° entre 4 e 5 segundo VAN WYK e BATH (2002), em hipótese, teria um ECC baixo. Nas bases de dados foram encontrados 6,2% de animais anêmicos com um bom ECC.

A influência dos parasitos gastrintestinais, nas mudanças dos parâmetros hematológicos e painel bioquímico sérico em pequenos ruminantes é uma maneira confiável de avaliar o estado de saúde dos animais (OHAERI e ELUWA, 2011). Inteirando que, o objetivo deste estudo não foi recomendar o uso de variáveis específicas para investigar as mudanças nos escores F° em populações ovinas e sim, encorajar a investigação acerca de outras variáveis que possam influenciar e explicar essas modificações. Assim, os resultados da aplicação dos métodos descritos neste estudo provavelmente variarão para diferentes populações de animais e ambientes. Nesse estudo, os parâmetros hematológicos como HE, HC, HTC, VCM, HCM, CHCM e LE modificaram-se pouco de acordo com os grupos com e sem a correspondência entre categoria de classificação do escore F° e HTC. No entanto, em relação a normalidade de acordo com valores de referência, o grupo que levou em consideração a correspondência entre HTC e a categoria F° apresentou um melhor padrão clínico segundo os valores determinados por JAIN (1993) e o mesmo acontece para o painel bioquímico sérico de acordo com KANEKO et al. (2008).

A maioria das ovelhas não apresentou sinais de leucocitose quando observamos os animais verdadeiramente positivos para anemia em ambos os bancos de dados. Usando como ponto de corte um $HTC \leq 19\%$ e escores F° 3 e 4, como nos trabalhos de SOTOMAIOR et al. (2012) e FERREIRA et al. (2019b), e em hipótese, uma elevada carga de parasitos hematófagos, obtivemos médias corrigidas de LE de $3,69$ e $3,84 \times 10^3 \text{ mL}^{-1}$, com e sem a correspondência do escore F° e HTC, respectivamente.

Uma das nossas hipóteses para o presente resultado encontrado nesse estudo, está em torno do quantitativo de observações em cada banco de dados. Para variáveis como a OPG, a variação da estimativa da contagem de ovos para uma amostra diminui à medida

que o número de contagens aumenta (VIDYASHANKAR et al., 2012), ou seja, existe um padrão de resposta de uma população mais bem definido. Acreditamos que para as outras variáveis também possa ocorrer o mesmo, onde um número maior de amostragens ou informações permitem um padrão mais bem definido de resposta. As duas funções discriminantes canônicas permitiram essa classificação individual muito presente. O agrupamento de animais mais bem definido em cada plotagem bidimensional é um indício de características iguais ou próximas de cada grupo de classificação de escore $F^{\odot}$ e HTC, traçando em cada grupo perfis bem definidos das outras variáveis em questão (OPG, parâmetros sanguíneos e painel bioquímico sérico). De maneira geral, a uso de outras variáveis para a avaliação da condição de anemia de ovelhas brasileiras, podem ser melhor avaliadas, pois os padrões de HTC e $F^{\odot}$ descritos por VAN WYK e BATH (2002), quando avaliados corretamente, permite sucesso no tratamento seletivo do rebanho.

6.4 CONCLUSÕES

Os resultados mostraram que houve uma semelhança na relação entre método F° e o HTC, embora os animais tenham padrões de indicadores fisiopatológicos particulares. Este estudo introduz novos tipos de análises estatísticas e permite o diagnóstico por meio de correlações entre variáveis relacionadas à saúde animal; no entanto, possibilitará estudos futuros mais aprofundados. A ACP e a ADC foram eficientes em determinar a ordem de importância das variáveis do estudo e classificar os diagnósticos animais, respectivamente, utilizando variáveis de desempenho, parasitologia, parâmetros sanguíneos e painel bioquímico sérico em ovelhas da raça Morada Nova.

REFERÊNCIAS

- ALHAMADA M. et al. Sexual behaviour in sheep is driven by body condition and the related nutritional and metabolic status. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 191, p. 24-30, 2017.
- ANDRONICOS, N. M. et al. A one shot blood phenotype can identify sheep that resist *Haemonchus contortus* challenge. **Veterinary Parasitology**, v. 205, p. 595-605, 2014.
- CABARET, J.; HOSTE, H. Comparative analysis of two methods used to show interspecific associations in naturally acquired parasite nematode communities from the abomasum of ewes. **Veterinary Parasitology**, v. 76, p. 275-285, 1998.
- CORNELIUS e BESIÉR. Body condition score as a selection tool for targeted selective treatment-based nematode control strategies in Merino ewes. **Veterinary Parasitology**, v. 206, p. 173-181, 2014.
- COUTINHO, R. M. A. et al. Phenotypic markers to characterize F2 crossbreed goats infected by gastrointestinal nematodes. **Small Ruminant Research**, v. 123, p. 173-178, 2015.
- EKE, S. S. et al. Prevalence of gastrointestinal parasites of sheep and goats slaughtered in Minna Modern Abattoir, Niger State, Nigeria. **Journal of Animal Science and Veterinary Medicine**, v. 4, p. 65-70, 2019.
- FERREIRA, J. B. et al. Body condition score and age do not affect the physiological responses, thyroid hormones, hematological or serum biochemical parameters for tropical ewes. **Biological Rhythm Research**, 2019, <https://doi.org/10.1080/09291016.2019.1628393>
- FERREIRA, J. B. et al. A multivariate approach to the diagnosis of gastrointestinal infection in ewes. **Veterinary Parasitology**, v. 252, p. 95-97, 2018.

- FERREIRA, J. B. et al. Performance, endoparasitary control and blood values of ewes locally adapted in semiarid region. **Comparative Immunology Microbiology and Infection Diseases**, v. 52, p. 23-29, 2017.
- FITZPATRICK, J. L. Global food security: the impact of veterinary para-sites and parasitologists. **Veterinary Parasitology**, v. 195, p. 233-248, 2013.
- GORDON, H. M.; WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Council for Scientific and Industrial Research**, v. 12, p. 50-62, 1939.
- IDIKA, I. K. et al. Changes in the body condition scores of Nigerian West African Dwarf sheep experimentally infected with mixed infections of *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis*. **Veterinary Parasitology**, v. 188, n. 1-2, p. 99-103, 2012.
- JAIN, N. C. **Schalm's Veterinary Haematology**. 4^{ed}, Lea & Febiger, Filadélfia, 1986.
- JOHNSTONE, P. D. et al. Interpreting comparative experiments on parasites burdens in animals using randomization and canonical variates. **Veterinary Parasitology**, v. 75, p. 199-208, 1998.
- KANEKO, J. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6^{ed}, Elsevier, 2008.
- MACHADO, R et al. **Circular técnico 57: escore de condição corporal e sua aplicação no manejo reprodutivo de ruminantes**. In: Machado, R., 1^aed. EMBRAPA, São Carlos, pp. 16.
- MAHIEU, M. et al. Evaluation of targeted drenching using Famacha method in Creole goat: reduction of anthelmintic use, and effects on kid production and pasture contamination. **Veterinary Parasitology**, v. 146, p. 135–147, 2007.
- MOLENTO, M. B. et al. Método Famacha como parâmetro clínico individual de infecção por *Haemonchus contortus* em pequenos ruminantes. **Ciência. Rural**, v. 34, p. 1139-1145, 2004.

- MOORS, E. e GAULY, M. Is the FAMACHA chart suitable for every breed? Correlations between FAMACHA scores and different traits of mucosa colour in naturally parasite infected sheep breeds. **Veterinary Parasitology**, v. 166, p. 108-111, 2009.
- OHAERI, C. C. e ELUWA, M. C. Abnormal biochemical and haematological indices in trypanosomiasis as a threat to herd production. **Veterinary Parasitology**, v. 177, p. 199-202, 2011.
- REYNECKE, D. P. et al. Validation of the FAMACHA[®] eye colour chart using sensitivity/specificity analysis on two South African sheep farms. **Veterinary Parasitology**, v. 177, p. 203-211, 2011.
- SOTO BARRIENTOS et al. Comparing body condition score and FAMACHA[®] to identify hair-sheep ewes with high faecal egg counts of gastrointestinal nematodes in farms under hot tropical conditions. **Small Ruminant Research**, v. 167, p. 92-99, 2018.
- SOTOMAIOR, C. S. et al. Senitivity and specificity of the Famacha[®] system in Sufflk sheep and crossbred Boer goats. **Veterinary Parasitology**, v. 190, p. 114-119, 2012.
- STOREY, B. E. et al. Validation of the FAMACHA[®] system in South American camelids. **Veterinary Parasitology**, v. 243, p. 85-91, 2017.
- TORRES-ACOSTA, J. F. J. et al. Building a combined targeted selective treatment scheme against gastrointestinal nematodes in tropical goats. **Small Ruminant Research**, v. 121, p. 27-35, 2014.
- VAN WYK, J. A., BATH, G. F. The FAMACHA system for managing the haemonchosis in sheep by clinically identifying individual animals for treatment. **Veterinary Research**, v. 33, p. 509-529, 2002.
- VIDYASHANKAR, A. N. et al. Statistical and Biological Considerations in Evaluating Drug Efficacy in Equine Strongyle Parasites Using Fecal Egg Count Data. **Veterinary Research**, v. 185, p. 45-56, 2012.

ZARAGOZA-VERA, C. V. et al. Variation in Phenotypic Resistance to Gastrointestinal Nematodes in Hair Sheep in the Humid Tropics of Mexico. **Parasitology Research**, v. 118, p. 567-573, 2019.

7 CONCLUSÕES FINAIS

O sistema F[©] pode ser usado como uma alternativa confiável, destacando a importância de se tratar os animais com escore de F[©] 3 para conseguir alta sensibilidade do método e auxiliar na redução da pressão de seleção de anti-helmínticos em relação ao tratamento seletivo de rotina, para o controle de parasitos hematófagos nas ovelhas da raça Morada Nova.

A relação entre as categorias do sistema F[©] e as faixas de HTC são semelhantes a realidade de utilização proposta por VAN WYK e BATH (2002), embora tenham padrões de indicadores fisiopatológicos particulares. A avaliação das variáveis de desempenho, parasitologia, parâmetros sanguíneos de hematologia e painel bioquímico sérico podem auxiliar no diagnóstico e controle das endoparasitoses gastrintestinais; portanto, possibilitará estudos futuros mais aprofundados acerca da interferência dessas variáveis nas mudanças dos escores de anemia diagnosticados pelo método F[©].

8 LIMITAÇÕES E DIFICULDADES

- i. Assim como a maioria das pesquisas realizadas em campo, mais especificamente em fazendas comerciais, há uma dificuldade no controle geral dos efeitos a serem estudados, como por exemplo, as variações climáticas, a gestão do manejo geral dos rebanhos, a localização territorial dos rebanhos na fazenda (perto de aguadas ou currais de recolhimento). Esses fatores podem ter efeito sobre o nível de infestação por parasitas em geral e alterar a saúde dos rebanhos, assim como os resultados do estudo. Reiterando que, apesar dessa preocupação no controle desses efeitos, nos pareceu muito interessante avaliar experimentalmente a realidade nua e crua das fazendas, tornando o trabalho com uma característica particular frente a outros estudos encontrados na literatura.
- ii. A limitação no que se refere a eficiência do avaliador em identificar corretamente o escore F° , também não foi considerada neste estudo.
- iii. O processamento das fezes para determinação da contagem de OPG e da coprocultura eram um dos últimos exames a serem realizados entre a coleta e a entrega no laboratório, no entanto, as fezes eram armazenadas em recipiente térmico até o recebimento no laboratório em que foram realizadas as análises. Esse fato pode ter efeito sobre a contagem de ovos e de larvas.
- iv. Pelo efetivo de animais e de rebanhos da raça diminuído, elevados custos de materiais de coleta e análises, dificuldade com transporte oriundo da universidade, além de problemas orçamentários, fizera com que os bancos de material genético (amostras de sangue total), que seriam utilizados posteriormente para as análises de associação genômica ampla, não atingiram a quantidade suficiente para continuação do projeto experimental.
- v. O desenho experimental do estudo é “incomum” aos da maioria das pesquisas realizadas na atualidade e isso se torna um “problema” quando se pensa em publicar os resultados. No entanto, as novas abordagens de avaliação e o “re-desenhamento” do projeto inicial para elaboração dos manuscritos, facilitando a publicação.

REFERÊNCIAS

- ANDRONICOS, N. M. A one shot blood phenotype can identify sheep that resist *Haemonchus contortus* challenge. **Veterinary Parasitology**, v. 205, p. 595-605, 2014.
- BENAVIDES, M. V. et al. Identification of novel loci associated with gastrointestinal parasite resistance in a Red Maasai Dorper backcross population. **Plos One**, v. 10, 2015.
- FERREIRA, J. B. et al. Performance, endoparasitary control and blood values of ewes locally adapted in semiarid region. **Comparative Immunology Microbiology and Infection Diseases**, v. 52, p. 23-29, 2017.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Página de acesso: <https://censos.ibge.gov.br/agro/2019/>. Data do acesso: 03 de agosto de 2019.
- MMA, Ministério do Meio Ambiente. Página de acesso: <https://www.mma.gov.br/>. Data de acesso: 19 de junho de 2000.
- MOLENTO, M. B. Avanços no diagnóstico e controle das helmintoses em caprinos. I Simpósio Paulista de Caprinocultura. In: I Simpósio Paulista de Caprinocultura (SIMPAC). **Anais...** Multipress, Jaboticabal, p.101-110, 2005.
- SHIOTSUKI, L. et al. The impact of racial pattern on the genetic improvement of Morada Nova sheep. **Animal Genetic Resources, Food and Agricultural Organization of the United Nations**, p. 1-10, 2016.
- VAN WYK, J. A. Refugia – overlooked as perhaps the most important factor concerning the development of anthelmintic resistance, **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 68, p. 55-67, 2001.

ANEXOS

ANEXO A - Sensitivity and specificity of the Famacha® system in tropical hair sheep

Tropical Animal Health and Production
<https://doi.org/10.1007/s11250-019-01861-x>

SHORT COMMUNICATIONS



Sensitivity and specificity of the FAMACHA® system in tropical hair sheep

Josiel Borges Ferreira^{1,2} · Cristina Santos Sotomaior³ · Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra⁴ · Wilma Emanuela da Silva^{1,2} · Jacinara Hody Gurgel Morais Leite¹ · José Ernandes Rufino de Sousa⁵ · Jesséa de Fátima França Biz⁶ · Débora Andréa Evangelista Façanha¹

Received: 2 November 2018 / Accepted: 28 February 2019
 © Springer Nature B.V. 2019

Abstract

The aim of this research was to evaluate the sensitivity and specificity of the FAMACHA® (F[®]) system in Morada Nova ewes. The conjunctivae of 562 ewes were evaluated using the F[®] system. Packed cell volume (PCV) served as the gold standard for clinical F[®] evaluation. To calculate the sensitivity and specificity of the F[®] system, different criteria were adopted: animals classified as (I) F[®] 4 and 5 or (II) 3, 4, and 5 were considered to be anemic and animals classified as (I) F[®] 1, 2, and 3, or (II) 1 and 2 were considered to be non-anemic. Three standard values of PCV, namely, $\leq 19\%$, $\leq 18\%$, or $\leq 15\%$, were used to confirm anemia. The percentage of correct treatments was always high when the F[®] values 4 and 5 were used as criteria for positive tests. For all the PCV cut-off values, more animals were classified as false positives when evaluated using F[®] 3, 4, and 5 as criteria for a positive test and more true negative animals when evaluated using only F[®] 4 and 5 as criteria for a positive test. For both sets of criteria for the positive tests, few animals were classified as false negatives and true positives. Eliminating the classification of F[®] 3 as anemic decreased the sensitivity and increased the specificity for all the PCV cut-off values for the ewes. The F[®] system can be used as a reliable alternative to reduce selection pressure for anthelmintics in relation to routine non-selective blanket treatment for worm control in the Morada Nova ewes.

Keywords *Haemonchus* · Ewes · Resistance · Selective treatment · Worms · Semiarid region

✉ Josiel Borges Ferreira
 jjosielborges@hotmail.com

¹ Laboratory of Adaptive Physiology and Genetic Resources, Department of Animal Science, Federal University of Semiarid (UFERSA), Rodovia BR 110, Km 47, Mossoró, Rio Grande do Norte 59625-900, Brazil

² Animal Science Program (PPGCA), UFERSA, Mossoró, Rio Grande do Norte 59625-900, Brazil

³ Graduate Program in Animal Science (PPGCA), School of Life Sciences, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Curitiba, Paraná 80215-901, Brazil

⁴ Laboratory of Molecular Parasitology, Department of Animal Science, UFERSA, Mossoró, Rio Grande do Norte 59625-900, Brazil

⁵ Laboratory of Genetics and Animal Breeding, Department of Animal Science, UFERSA, Mossoró, Rio Grande do Norte 59625-900, Brazil

⁶ Animal Science Program (PPGCA), School of Life Sciences, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Curitiba, Paraná 80215-901, Brazil

Gastrointestinal nematodes are the main cause of production losses in small ruminant production systems and are particularly important in all regions across the tropical and sub-tropical countries (Martínez-Valladares et al. 2013; Mphahlele et al. 2018). The northeastern Brazilian region is traditionally known for its family agricultural model, in which cattle, sheep, and goats, usually from locally adapted breeds, are grouped into productive units. In this region, centers for genetic improvement were formed with the participation of farmers from the region (Arandas et al. 2017), as what has happened for the Morada Nova breed.

With respect to endoparasite control, the farmers do not follow a pattern for control and treatment. Normally, no prophylactic measures are adopted in the pastures or into the facilities, and selective treatment is not used in flocks, increasing the prevalence of diseases, especially gastrointestinal endoparasites (Ferreira et al. 2017). Although the farmers are aware of the existence of parasite resistance to drugs, they are not fully convinced of the need to use a selective treatment method on their farms. When an entire flock is treated, there can be great selection pressure for

resistance in nematode populations, depending on the levels of refugia at the time (Sotomaior et al. 2012). The sustainable management of endoparasites in animal production systems allows for the maintenance of the maximum number of animals without contact with the drug (Van Wyk 2001).

The FAMACHA[®] (F[®]) system is a clinical evaluation tool for anemia, used primarily for selective anthelmintic treatment of only those individual animals who cannot manage unaided under field conditions of severe *Haemonchus contortus* challenge (Van Wyk and Bath 2002; Arece-García et al. 2016). In this method, some variations can occur in the results, allowing for different diagnoses. Variations among breeds (Moors and Gaulty 2009), animal categories and ages (Cintra, Ollhoff and Sotomaior 2018), evaluators and assessments (Ferreira et al. 2018), and management systems (Ferreira et al. 2017) may have an effect on the results. Although anemia can have other causes (Grace et al. 2007; Olah et al. 2015), the FAMACHA[®] system is one of the most successful diagnostic indicators to date for use in selective treatment strategies for *H. contortus* control in small ruminants (Martínez-Valladares et al. 2013).

The Morada Nova breed is endowed with adaptive characteristics for the Brazilian semiarid. Nevertheless, over the last 10 years, the effective population significantly decreased such that the breed is considered at risk of extinction, according to the Morada Nova Breeders Association. Selective treatment and the correct diagnosis of diseases, such as anemia caused by gastrointestinal endoparasites, may be one of the measures to mitigate this problem; in other words, it is fundamental to increase the effective population of individuals of the Morada Nova breed. Considering the high risk of anthelmintic resistance and the challenge of parasitic diagnosis, the present research was conducted to evaluate the sensitivity (S_E) and specificity (S_P) of the F[®] system to anemia diagnosis and selective treatment of endoparasitosis in the Morada Nova ewes.

The research was performed by the Research Group of Adaptive Physiology and Conservation of Genetic Resources, located at the Federal University of Semiarid, Mossoró, in the northeastern region of Brazil. The research was conducted on commercial farms located in Morada Nova city (latitude $-5^{\circ} 44' 10''$; longitude $-39^{\circ} 97' 20''$; altitude 66 m). The management system used for all properties was extensive during all times of the year, in which the animals spent the day feeding on the native pasture of the Caatinga

biome. During the night, they were gathered into a collective facility, where they received mineral salt and water, as described by Ferreira et al. (2017). The vegetation is predominantly shrub-herbaceous and, in more open areas, cacti and bromeliads are used as animal feed during dry periods. The annual averages of air temperature, relative humidity, and precipitation are 35.6 °C, 42.4%, and 76.1 mm, respectively.

Five hundred and sixty-two 1–5-year-old Morada Nova ewes were evaluated using the F[®] system. The S_E and S_P of the F[®] system were calculated using two criteria to consider an animal as anemic or a positive test: animals classified as F[®] 4 and 5 or animals classified as F[®] 3, 4, and 5. In the first case, animals F[®] 1, 2, and 3 were considered non-anemic, or a negative test. In the second case, the negative test, or non-anemic, would be animals classified as F[®] 1 and 2. The PCV values served as the gold standard to confirm anemia and were used based on three cut-off points: $\leq 19\%$, $\leq 18\%$, and ≤ 15 , as proposed by Sotomaior et al. (2012). The PCV value of $\leq 19\%$ was chosen because the normal range for PCV in small ruminants is 19–38 (Jain 1986); the PCV value of $\leq 18\%$ was chosen because it is the limiting value between categories 3 and 4 of the FAMACHA[®] system (Van Wyk and Bath 2002); and the PCV value $\leq 15\%$ in sheep is considered to be life-threatening (Kaplan et al. 2004).

To be considered a true positive (T_P), animals were anemic ($PCV \leq 15\%$, $\leq 18\%$, or $\leq 19\%$) with pale eye scores (F[®] 4 and 5 or F[®] 3, 4, and 5) and to be considered a false positive (F_P), animals were not anemic ($PCV > 15\%$, $> 18\%$, or $> 19\%$) with pale eye scores. The animals that were anemic with red or pink eye scores (F[®] 1 and 2 or F[®] 1, 2, and 3) were named false negative (F_N), and the animals that were not anemic with pink or red eye scores were the true negative (T_N). For parasitological analysis, feces were collected from each animal for measurement of the egg per gram (EPG) of feces count (Gordon and Whitlock 1939), which is sensitive for 20 EPG upwards.

The S_E and S_P (with the 95% confidence intervals) were calculated (Vatta et al. 2001; Thrusfield 2005) as follows:

$$S_E = \frac{T_P \times 100}{T_P + F_N} \quad (1)$$

In the case of the F[®] system, S_E is the proportion of anemic animals correctly identified as anemic by the F[®] classification (T_P) among all real anemic animals.

Table 1 The distribution (number and percentage) of ewes, mean $\pm$ standard deviation (SD), median, and the minimum and maximum values of egg per gram (EPG) of feces, according to the FAMACHA[®] category

FAMACHA [®]	F [®] 1	F [®] 2	F [®] 3	F [®] 4	F [®] 5
<i>N</i>	21	145	269	123	04
%	3.74	25.80	47.86	21.89	0.71
Mean $\pm$ SD	239.6 $\pm$ 673.4	81.2 $\pm$ 167.6	117.1 $\pm$ 228.6	216.3 $\pm$ 470.7	122.9 $\pm$ 264.0
Median	24.0	24.0	36.0	72.0	90.0
Minimum	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Maximum	3112.0	1176.0	1124.0	3300.0	264.0

Table 2 The number and percentage of false negative (F_N), false positive (F_P), true negative (T_N), true positive (T_P), and correct classification (CC) results of the FAMACHA[®] ($F^{\oplus}$) system, according to different evaluation criteria between the packed cell volume (PCV) and the $F^{\oplus}$ system for ewes

	F_N	F_P	T_N	T_P	CC
Positive test ($F^{\oplus}$ 3, $F^{\oplus}$ 4, $F^{\oplus}$ 5)					
PCV $\leq$ 15%	1 (0.18%)	384 (68.33%)	165 (29.36%)	12 (2.14%)	177 (31.50%)
PCV $\leq$ 18%	2 (0.36%)	361 (64.23%)	164 (29.18%)	35 (6.23%)	199 (35.59%)
PCV $\leq$ 19%	5 (0.89%)	344 (61.21%)	161 (28.65%)	52 (9.25%)	213 (37.90%)
Positive test ($F^{\oplus}$ 4, $F^{\oplus}$ 5)					
PCV $\leq$ 15%	9 (1.60%)	123 (21.89%)	426 (75.80%)	4 (0.71%)	430 (76.51%)
PCV $\leq$ 18%	19 (3.38%)	109 (19.40%)	416 (74.02%)	18 (3.20%)	434 (77.22%)
PCV $\leq$ 19%	32 (5.69%)	102 (18.15%)	403 (71.71%)	25 (4.45%)	428 (76.16%)

$$S_P = \frac{T_N \times 100}{T_N + F_P} \quad (2)$$

S_P is the proportion of non-anemic animals that are correctly classified as such (T_N), among all real non-anemic sheep.

Finally, we calculate the negative predictive value (NPV) and positive predictive value (PPV); the following formulas were used:

$$NPV = \frac{T_N \times 100}{T_N + F_N} \quad (3)$$

$$PPV = \frac{T_P \times 100}{T_P + F_P} \quad (4)$$

The predictive values are the probability that an animal is not anemic when the $F^{\oplus}$ score is negative for anemia (NPV), or anemic, when the $F^{\oplus}$ score is positive for anemia (PPV). The kappa (κ) value was calculated using the association between the $F^{\oplus}$ scores and PCV (Thrusfield 2005). The values of κ were ranked according to Sotomaior et al. (2012), in the following manner: > 0.80 = very good agreement, 0.61 – 0.80 = good agreement, 0.41 – 0.60 = moderate agreement, 0.21 – 0.40 = fair agreement, and < 0.2 = poor agreement.

The Morada Nova breed is widely used in extensive farming and is considered resistant to local diseases. Because it is a locally adapted breed and contributes to the sustainability of the Brazilian northeast production system, many research studies are being developed to better understand these animals. The distribution of

animals into the five $F^{\oplus}$ categories, and their respective EPG values, is listed in Table 1. More than 45% of the animals were classified as $F^{\oplus}$ 3, and about 20% were recorded as $F^{\oplus}$ 2 (25.80%) and $F^{\oplus}$ 4 (21.88%). Few animals were classified as $F^{\oplus}$ 1 (3.73%) and $F^{\oplus}$ 5 (0.88%). The EPG values ranged from zero to 3300. The Morada Nova ewes in this study suffer a very strong environmental influence, due to exposure to high environmental temperatures and water shortages during a long period of the year, in addition to diseases that may be present in the flocks (caseous lymphadenitis, mastitis, ectoparasitosis, and endoparasitosis) when kept in an extensive rearing regime, as has been highlighted in the work of Ferreira et al. (2017).

The percentage of correct classification ($T_N + T_P$) was always higher when the $F^{\oplus}$ values of 4 and 5 were considered to be positive tests (Table 2). For all the PCV values, more animals were classified as F_P when evaluated with $F^{\oplus}$ 3, 4, and 5 as criteria for a positive test and more animals were classified as T_N when evaluated using only $F^{\oplus}$ 4 and 5 as criteria for a positive test. For both positive tests, few animals were classified as F_N and T_P .

The κ index was lower for the evaluation criteria of $F^{\oplus}$ values 3, 4, and 5 as positive tests (Table 3). The κ index ranged between 0.01 and 0.15, indicating poor agreement in both tests. The percentage of anemic animals (PAA; estimated by PCV values) and the PPV and NPV values are listed in Table 3. For the Morada Nova ewes, PPV was higher when

Table 3 The percentage of anemic animals (PAA) and the positive (PPV) and negative (NPV) predictive values of the FAMACHA[®] ($F^{\oplus}$) system (with 95% confidence intervals) and the kappa (κ) value between the packed cell volume (PCV) and the $F^{\oplus}$ system

	PAA (%)	PPV (%)	NPV (%)	κ
Positive test ($F^{\oplus}$ 3, $F^{\oplus}$ 4, $F^{\oplus}$ 5)				
PCV $\leq$ 15%	2.31 (1.24–3.92)	3.03 (2.58–3.56)	99.40 (96.15–99.91)	0.01
PCV $\leq$ 18%	6.58 (4.68–8.96)	8.84 (8.09–9.46)	98.80 (95.49–99.69)	0.04
PCV $\leq$ 19%	10.14 (7.77–12.94)	13.13 (12.03–14.32)	96.99 (93.25–98.69)	0.06
Positive test ($F^{\oplus}$ 4, $F^{\oplus}$ 5)				
PCV $\leq$ 15%	2.31 (1.24–3.92)	3.15 (1.40–6.94)	97.93 (97.05–98.55)	0.01
PCV $\leq$ 18%	6.58 (4.68–8.96)	14.17 (10.23–19.31)	95.63 (94.10–96.78)	0.13
PCV $\leq$ 19%	10.14 (7.77–12.94)	19.69 (14.84–25.63)	92.64 (90.88–94.09)	0.15

Table 4 The sensitivity (S_E) and specificity (S_P) of the FAMACHA® ($F^{\oplus}$) system (with 95% confidence intervals), according to different evaluation criteria between the packed cell volume (PCV) and the $F^{\oplus}$ system for ewes

	S_E (%)	S_P (%)
Positive test ($F^{\oplus}$ 3, $F^{\oplus}$ 4, $F^{\oplus}$ 5)		
PCV $\leq$ 15%	92.31 (63.97–99.81)	30.05 (26.24–34.08)
PCV $\leq$ 18%	94.59 (81.81–99.34)	31.24 (27.29–35.40)
PCV $\leq$ 19%	91.23 (80.70–97.09)	31.88 (27.83–36.14)
Positive test ($F^{\oplus}$ 4, $F^{\oplus}$ 5)		
PCV $\leq$ 15%	30.77 (9.09–61.43)	77.60 (73.87–81.02)
PCV $\leq$ 18%	48.65 (31.92–65.60)	79.24 (75.51–82.63)
PCV $\leq$ 19%	43.86 (30.74–57.64)	79.80 (76.03–83.22)

PCV $\leq$ 19 in the two positive tests (i.e., there is a greater probability of an animal being anemic when the $F^{\oplus}$ score is positive for anemia). In the NPV values of the two tests, the higher values were found for PCV $\leq$ 15, indicating a higher probability that an animal would not be anemic when the $F^{\oplus}$ score is negative for anemia. Despite all these justifications for the changes in PCV levels, Ferreira et al. (2017) and Ferreira et al. (2018), who used these same animals, verified that these sheep presented a high load of worms throughout the year (up to 3300 EPG) and the presence of *H. contortus* was found, however, with few changes in performance variables, such as the body weight and body condition score. Better targeting for more effective selective treatment, as in the research of Sotomaior et al. (2012), Thomas and Syamala (2017), and Cintra, Ollhoff, and Sotomaior (2018), reduces the pressure of selection by anthelmintic on parasites and thus prolongs the effective life of drugs.

According to Sotomaior et al. (2012), the different values for S_E and S_P are found, depending on the criteria employed and the management system. For the Morada Nova breed, these values were unknown. S_E ranged from 30.77 to 94.59% and S_P from 31.88 to 79.80% (Table 4). Eliminating $F^{\oplus}$ 3 as criteria for anemic decreased the S_E and increased the S_P for all the PCV cut-off values for the ewes.

This study concluded that the $F^{\oplus}$ system can be used as a reliable alternative, reducing the selection pressure for anthelmintic in relation to routine non-selective blanket treatment for worm control in the Morada Nova ewes.

Acknowledgments The authors acknowledge the students from the Research Group of Adaptive Physiology and Conservation of Genetic Resources of Federal University of Semiárid and the partnership with the Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR).

Funding information This study was financed by the EMBRAPA Sheep and Goats (Brazilian Agricultural Research Corporation) and in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES)-Finance Code 001.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

References

- Arandas, J.H.G., Alves, A.C.G., Facó, O., Belchior, E.B., Shiotsuki, L., Leite, P.M.B.A. and Ribeiro, N.M., 2017. Do traditional sheep breeders perform conscious selection? An example from a participatory breeding program of Morada Nova sheep, *Tropical Animal Health and Production*, 49, 1–9
- Arece-García, J., López-Leyva, Y., González-Garduño, R., Torres-Hernández, G., Rojo-Rubio, R. and Marie-Magdeleine, C., 2016. Effect of selective anthelmintic treatments on health and production parameters in Pelibuey ewes during lactation, *Tropical Animal Health and Production*, 48, 283–287
- Cintra, M.C.R., Ollhoff, R.D. and Sotomaior, C.S., 2018. Sensitivity and specificity of the FAMACHA® system in growing lambs, *Veterinary Parasitology*, 251, 106–111
- Ferreira, J.B., Bezerra, A.C.D.S., Guilhermino, M.M., Leite, J.H.G.M., Silva, W.E., Paiva, R. D.M., Barbosa, T.N., Sousa, E.R. and Façanha, D.A.E., 2017. Performance, endoparasitary control and blood values of ewes locally adapted in semiarid region, *Comparative Immunology, Microbiology & Infection Diseases*, 52, 23–29
- Ferreira, J.B., Paiva, R.D.M., Bezerra, A.C.D.S., Sousa, E.R. and Façanha, D.A.E., 2018. A multivariate approach to the diagnosis of gastrointestinal infection in ewes, *Veterinary Parasitology*, 252, 95–97
- Gordon, H.M. and Whitlock, H.V., 1939. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces, *Journal of the Council for Scientific and Industrial Research*, 12, 50–62
- Grace, D., Himstedt, H., Sidibi, I., Randolph, T. and Clausen, P.-H., 2007. Comparing FAMACHA® eye color chart and hemoglobin color scale tests for detecting anemia and improving treatment of bovine trypanosomosis in West Africa. *Veterinary Parasitology*, 147, 26–39
- Jain, N.C., 1986. *Schalm's Veterinary Haematology* (4 ed. Lea & Febiger, Filadélfia)
- Kaplan, R.M., Burke, J.M., Terrell, T.H., Miller, J.E., Getz, W.R., Mobini, S., Valencia, E., Williams, M.J., Williamson, L.H., Larsen, M. and Vatta, A.F., 2004. Validation of the FAMACHA® eye color chart for detecting clinical anemia in sheep and goats on farms in the southern United States. *Veterinary Parasitology*, 123, 105–120
- Martínez-Valladares, M., Martínez-Pérez, J.M., Robles-Pérez, D., Cordero-Pérez, C. and Famularo, M.R., 2013. The present status of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematode infections of sheep in the northwest of Spain by in vivo and in vitro techniques. *Veterinary Parasitology*, 191, 177–181
- Moors, E. and Gauly, M., 2009. Is the FAMACHA chart suitable for every breed? Correlations between FAMACHA® scores and different traits of mucosa colour in naturally parasite infected sheep breeds, *Veterinary Parasitology*, 166, 108–111
- Mphahlele, M., Tsotetsi-Khambule, A.M., Moerane, R., Mashiloane, M.L. and Thekisoe, O.M.M., 2018. Risk factors associated with occurrence of anthelmintic resistance in sheep of resource-poor farmers in Limpopo province, South Africa. *Tropical Animal Health and Production*, 51, 1–9

- Olah, S., Van Wyk, J.A., Wall, R. and Morgan, E.R., 2015. FAMACHA®: A potential tool for targeted selective treatment of chronic fasciolosis in sheep. *Veterinary Parasitology*, 212, 188–192
- Sotomaior, C.S., Rosalinski-Morais, F., Costa, A.R.B., Maia, D., Monteiro, A.L.G. and Van Wyk, J.A., 2012. Sensitivity and specificity of the FAMACHA® system in Suffolk sheep and crossbred Boer goats. *Veterinary Parasitology*, 190, 111–119
- Thomas, M. and Syamala, K., 2017. Sensitivity and specificity of the FAMACHA® system in attapady black goats of kerala. *Indian Journal of Small Ruminant*, 23, 20–207
- Thrusfield, M.V., 2005. *Veterinary Epidemiology*, (3rd ed. Blackwell, Cambridge)
- Van Wyk, J.A., 2001. Refugia – overlooked as perhaps the most important factor concerning the development of anthelmintic resistance. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 68, 55–67
- Van Wyk, J.A. and Bath, G.F., 2002. The FAMACHA® system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. *Veterinary Research*, 33, 509–529
- Vatta, A.F., Letty, B.A., Van der Linde, M.J., Van Wijk, E.F., Hansen, J.W. and Krecsek, R.C., 2001. Testing for clinical anaemia caused by *Haemonchus* spp. in goats farmed under resource-poor conditions in South Africa using an eye colour chart developed for sheep. *Veterinary Parasitology*, 99, 1–14

ANEXO B – A multivariate approach to the diagnosis of gastrointestinal infection in ewes

Veterinary Parasitology 252 (2018) 95–97



Contents lists available at ScienceDirect

Veterinary Parasitology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vetpar



Short communication

A multivariate approach to the diagnosis of gastrointestinal infection in ewes



Josiel Borges Ferreira^{a,b,*}, Renato Diógenes Macedo Paiva^{a,b},
Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra^a, José Ernandes Rufino de Sousa^a,
Débora Andréa Evangelista Façanha^a

^a Department of Animal Science, Universidade Federal Rural do Semárido, Mossoró, RN, Brazil

^b Post Graduate in Animal Science, Universidade Federal Rural do Semárido, Mossoró, RN, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Adaptation
FAMACHA[®] system
Pathophysiological indicators
Principal components analysis
Native sheep

ABSTRACT

Diagnosing the effects of helminth infections is an efficient way to manage the problem in ruminant production systems. Selection of animals in a flock that are infected with *Haemonchus* has traditionally involved differential packed cell volume measurements (PCV), and in recent years, the FAMACHA[®] system has been used. However, few small analytical changes have been made. The objective of this study was to examine the influence of different diagnoses linked to packed cell volume (PCV) and FAMACHA[®] system scores in native ewes, using a multivariate approach. Ewes were classified into three categories according to their score in the FAMACHA[®] system (FS) and their packed cell volumes (PCV) as follows: Group AG (FS between 1 and 2 and PCV $\geq$ 30%); Group BG (FS score of 3 and PCV between 21 and 29%); Group CG (FS between 4 and 5 and PCV $\leq$ 20%). The animals were evaluated using performance characteristics, parasitological examinations, blood values and serum biochemistry. The data show that the use of a multivariate approach for different diagnoses using the FAMACHA[®] system and PCV measurements gives similar results, although they have particular pathophysiological indicator patterns.

1. Introduction

Infection by helminths endoparasites is a major problem affecting sheep, which causes significant economic losses, especially when associated with poor nutrition, bad management and inappropriate anthelmintic treatments. As helminths are blood-sucking parasites, clinical signs may be evident, such as decreased body weight and body condition score, anemia, hypoproteinemia, signs of apathy, submandibular edema, and increased water intake, probably to compensate for the loss of body weight (Fitzpatrick, 2013; Coutinho et al., 2015).

Diagnosing the effects of helminth infections is an efficient way to produce information and manage this problem in ruminant production systems. The diagnosis of animals infected with *Haemonchus* initially involved differential packed cell volume measurements (PCV), and in recent years, the FAMACHA[®] system. However, few small analytical changes have been made. In small ruminants, the FAMACHA[®] system (Van Wyk and Bath, 2002) can be used to identify sheep suffering from anemia and has been used in a wide variety of conditions.

According to Andronicos et al. (2014), effective control over

gastrointestinal parasites of livestock in the future will require an armory of available options, rather than a reliance on one or two strategies. To determine the real limitations of this method, different species, variations among breeds (Moors and Gauly, 2009), environments (Ferreira et al., 2017), animal categories and ages (Mahieu et al., 2007) and gestation systems (Reynecke et al., 2011) must be investigated. The objective of this study was to examine the influence of different diagnoses linked to packed cell volume (PCV) measurements and the FAMACHA[®] system in native ewes using a multivariate approach.

2. Material and methods

Five hundred and sixty two (562) female ewes of the Morada Nova breed were used, aged 3–4 years, from a herd in the region of Morada Nova (Latitude –54°10'; Longitude –39°7'20"; Altitude 66 meters), Ceará, Brazil. They were satisfactorily healthy and had received their last anthelmintic treatment at least six weeks before the beginning of the study. At all times of the year, the animals spent the day feeding on native Caatinga, and at night were gathered into a collective corral,

* Corresponding author.
E-mail address: jjosielborges@hotmail.com (J.B. Ferreira).

<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.02.015>

Received 16 November 2017; Received in revised form 14 January 2018; Accepted 2 February 2018
0304-4017/ © 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

where they received mineral salt and water, as described in the study by Ferreira et al. (2017). The vegetation is predominantly shrub-herbaceous and in more open areas, the animals feed on cacti and bromeliads during dry periods. The annual averages of air temperature, relative humidity and precipitation were 35.6 °C, 42.4% and 76.1 mm, respectively.

All animals were evaluated for the following characteristics — Performance: body weight (BW) and body condition score (BCS) (Machado et al., 2008); Parasitological examinations: fecal egg counts (FEC) in eggs per gram of feces (epg) (Gordon and Whitlock, 1939) and FAMACHA® system (Molento et al., 2004); Blood values: hemoglobin concentration (HE), packed cell volume (PCV), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and leukocytes (WBC); Serum biochemistry: glucose (GLU), cholesterol (CHO), triglycerides (TRI), urea (URE), creatinine (CRE), total protein (TP), albumin (ALB), globulin (GLO), aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT).

The animals were classified into three categories according to the results of the FAMACHA® system (FS) and PCV as follows: Group AG (FS between 1 and 2 and PCV $\geq$ 30%); Group BG (FS of 3 and PCV between 21 and 29%); and Group CG (FS between 4 and 5 and PCV $\leq$ 20%).

A general linear model of analysis of variance was used when categorical and quantitative variables were studied. The FEC and leukocyte values were log transformed [$\log_{10}(x + 1)$] for statistical analysis. The data presented in Table 1 are the untransformed arithmetic means. The statistical tests performed included multivariate analyses. To detect differences between the experimental groups and identify variables with greater discriminatory power, principal component analysis (PCA) was used. Relative importance was assessed by *eigenvalues* (variances). Discriminant analysis was performed with support from STEPDISC procedures to determine which variables had greater power to discriminate. All statistical analyses were conducted using PRIMER 6 and PERMANOVA + (PRIMER-E Ltd., Plymouth, UK).

3. Results and discussion

Table 1 shows the average results from the performance indicators,

parasitological examinations, blood values and serum biochemistry evaluations of the ewes in each of the groups, based on the FAMACHA® system (FS) and the packed cell volume (PCV) results. There was an increase in FEC ($p > .05$) in the CG group compared with the AG group. Among the blood variables, RBC and HE were lower ($p > .05$) in the CG group, and progressively increased in the BG and AG groups. For the hematimetric indices the opposite trend was observed, and the means of MCV, MCH and MCHC were highest ($p > .05$) in the AG group and lowest in the CG group.

Throughout the experiment only 3.14% of animals in the CG group needed to be treated, as their PCV was $\pm$ 14.37% and the score in the FAMACHA® system was at level 4 or 5.

Among the serum biochemistry variables, GLU, URE and ALT were lowest ($p > .05$) in the CG group, and highest in the AG group. The other variables did not differ significantly between the groups. It was verified that the serum biochemical variables of did not change in the studied breed (reference values for ewes), yet these animals facing deprivations of water and food during some months of the year in the Brazilian semiarid regions (Ferreira et al., 2017).

Multivariate analyses provide a more suitable tool for estimating associations (Cabaret and Hoste, 1998). In Fig. 1a, the groups differ little in the plot, some points belonging to the CG and BG groups are located away from the center of the group, indicating that there is little variation between the groups. Fig. 1b shows the principal component analysis (PCA) for the traits studied: performance, parasitological examinations, blood values and serum biochemistry for each animal in their respective diagnostic group. Animals with FEC had higher Famacha system scores, and higher values for WBC, MCV and MCH, accompanied by lower values for GLU and TP. These two autovectors explained 68.3% of the total variation among the traits examined. The most discriminatory variables in the ewes population were (in order of importance: RBC, PCV, HE, MCHC, MCH, GLU, FS, CRE, BCS, URE, AST, FEC, ALT, MCV, WBC, CHO, GLO, ALB, TP, BW and TRI).

In this study, FAMACHA® system scores and PCV proved to be effective criteria for differentiating groups with different diagnoses, as the majority of animals in the study showed real changes, especially in the blood panel. However, in order to use the FAMACHA® system as a diagnosis tool in livestock (Van Wyk and Bath, 2002), it is necessary to

Table 1
Mean and standard error of performance, parasitological examinations, blood values and serum biochemistry in different groups to packed cell volume (PCV) and FAMACHA® system related diagnoses.

Variable	Unit	Groups		
		AG (n = 166)	BG (n = 269)	CG (n = 127)
BW	kg	FS 1–2 / PCV $\geq$ 30%	FS 3 / PCV 21–29%	FS 4–5/PCV $\leq$ 20%
FEC	epg	30.04 $\pm$ 0.36	30.53 $\pm$ 0.45	30.73 $\pm$ 0.52
RBC	$\times 10^{12}/L$	101.23 $\pm$ 24.28 ^a	117.14 $\pm$ 19.07 ^{ab}	212.96 $\pm$ 27.76 ^b
HE	g/dl	9.32 $\pm$ 0.16 ^a	8.60 $\pm$ 0.12 ^b	7.47 $\pm$ 0.18 ^c
MCV	fl	10.18 $\pm$ 0.13 ^b	9.86 $\pm$ 0.10 ^b	9.00 $\pm$ 0.14 ^b
MCH	pg	29.45 $\pm$ 0.34 ^a	31.26 $\pm$ 0.27 ^b	31.39 $\pm$ 0.39 ^b
MCHC	g/dl	11.19 $\pm$ 0.19 ^a	11.90 $\pm$ 0.15 ^b	12.47 $\pm$ 0.21 ^b
WBC	$\times 10^9/ml$	36.86 $\pm$ 0.69 ^a	37.45 $\pm$ 0.30 ^a	39.73 $\pm$ 0.44 ^b
GLU	mg/dl	7031.92 $\pm$ 262.45	6363.12 $\pm$ 206.17	7254.01 $\pm$ 300.06
CHO	mg/dl	53.54 $\pm$ 0.31 ^b	51.58 $\pm$ 1.03 ^{ab}	47.89 $\pm$ 1.50 ^a
TRI	mg/dl	76.86 $\pm$ 1.64	74.28 $\pm$ 1.29	74.14 $\pm$ 1.87
URE	mg/dl	21.30 $\pm$ 0.54	20.91 $\pm$ 0.42	21.50 $\pm$ 0.61
CRE	mg/dl	47.02 $\pm$ 0.94 ^b	47.92 $\pm$ 0.74 ^b	43.88 $\pm$ 1.08 ^a
TP	g/dl	1.09 $\pm$ 0.02	1.07 $\pm$ 0.02	1.07 $\pm$ 0.02
ALB	g/dl	7.82 $\pm$ 0.12	7.63 $\pm$ 0.10	7.56 $\pm$ 0.14
GLO	g/dl	4.32 $\pm$ 0.04	4.33 $\pm$ 0.03	4.33 $\pm$ 0.05
AST	U/l	1.89 $\pm$ 0.04	1.96 $\pm$ 0.04	2.02 $\pm$ 0.05
ALT	U/l	136.64 $\pm$ 2.86	134.35 $\pm$ 2.22	134.72 $\pm$ 3.23
		28.48 $\pm$ 0.89 ^a	26.32 $\pm$ 0.70 ^{ab}	23.81 $\pm$ 1.02 ^a

Note: BW: body weight; FEC: fecal egg counts; HE: hemoglobin concentration; MCV: mean corpuscular volume; MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration; WBC: leukocytes; GLU: glucose; CHO: cholesterol; TRI: triglycerides; URE: urea; CRE: creatinine; TP: total protein; ALB: albumin; GLO: globulin; AST: aspartate aminotransferase; ALT: alanine aminotransferase. Different letters between columns indicate significantly different values by Tukey's test (5% significance level). FEC and WBC values were transformed by $\log_{10}(x + 1)$ prior the statistical analysis. Data shown are untransformed arithmetic means.

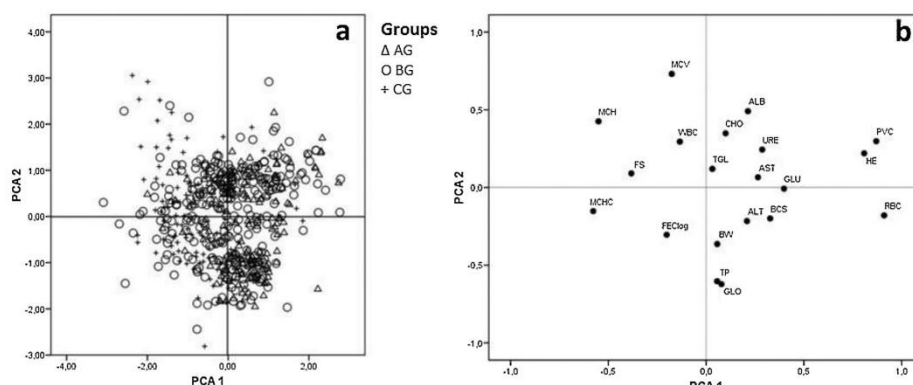


Fig. 1. PCA plot based on performance, parasitological examinations, blood values and serum biochemistry of ewes. (a) Bi-dimensional plot to groups (A, B and C). (b) Scores of each variable included in PCA analysis.

Total explained variance is 68.3% (axis I and axis II explained variance are 43.8% and 24.5%, respectively).

FEC, fecal egg counts; FS: FAMACHA[®] score; BW, body weight; BCS: body condition score; HE: hemoglobin concentration; PVC: packet cell volume; MCV: mean corpuscular volume; MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration; WBC: leukocytes; GLU: glucose; CHO: cholesterol; TRI: triglycerides; URE: urea; CRE: creatinine; TP: total protein; ALB: albumin; GLO: globulin; AST: aspartate aminotransferase; ALT: alanine aminotransferase. Total explained variance is 68.3% (axis I and axis II explained variance are 43.8% and 24.5%, respectively).

maintain proper records.

The data in the present study show that the use of a multivariate approach for different diagnoses using the FAMACHA[®] system and PCV measurements gives similar results, although they have particular pathophysiological indicator patterns. This study introduces new types of analyses and allows diagnosis using correlations among variables related to animal health; therefore, it will enable future studies.

Van Wyk and Reynecke (2011)

References

- Andronicos, N.M., Hensahll, J.M., Le Jambre, L.F., Hunt, P.W., Ingham, A.B., 2014. A one shot blood phenotype can identify sheep that resist *Haemonchus contortus* challenge. *Vet. Parasitol.* 205, 595–605.
- Cabaret, J., Hoste, H., 1998. Comparative analysis of two methods used to show inter-specific associations in naturally acquired parasite nematode communities from the abomasum of ewes. *Vet. Parasitol.* 76, 275–285.
- Coutinho, R.M.A., Benvenut, C.L., Júnior, A.L.F.A., Silva, F.C., Neves, R.M.R., Navarro, A.M.C., Vieira, L.S., Zaros, L.G., 2015. Phenotypic markers to characterize F2 cross-breed goats infected by gastrointestinal nematodes. *Small Rumin. Res.* 123, 173–178.
- Ferreira, J.B., Bezerra, A.C.D.S., Guilhermino, M.M., Leite, J.H.G.M., Silva, W.E., Paiva, R.D.M., Barbosa, T.N., Sousa, E.R., Façanha, D.A.E., 2017. Performance, endoparasitary control and blood values of ewes locally adapted in semiarid region. *C.I.M.L.D.* 52, 23–29.
- Fitzpatrick, J.L., 2013. Global food security: the impact of veterinary para-sites and parasitologists. *Vet. Parasitol.* 195, 233–248.
- Gordon, H.M., Whitlock, H.V., 1939. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *J.S.I.R.* 12, 50–62.
- Machado, R., Corrêa, R.F., Barbosa, R.T., Bergamaschi, M.A.C.M., et al., 2008. In: Machado, R. (Ed.), *Circular técnico 57: escore de condição corporal e sua aplicação no manejo reprodutivo de ruminantes, 1ª edição*. EMBRAPA, São Carlos, pp. 16.
- Mahieu, M., Arquet, R., Kandassamy, T., Mandonnet, N., Hoste, H., 2007. Evaluation of targeted drenching using Famacha method in Creole goat: reduction of anthelmintic use, and effects on kid production and pasture contamination. *Vet. Parasitol.* 146, 135–147.
- Molento, M.B., Tasca, C., Gallo, A., Ferreira, M., Bononi, R., Stecca, E., 2004. Método Famacha como parâmetro clínico individual de infecção por *Haemonchus contortus* em pequenos ruminantes. *Ciência Rural* 34, 1139–1145.
- Moors, E., Gauly, M., 2009. Is the FAMACHA chart suitable for every breed? correlations between FAMACHA scores and different traits of mucosa colour in naturally parasite infected sheep breeds. *Vet. Parasitol.* 166, 108–111.
- Reynecke, D.P., Van Wyk, J.A., Gummow, B., Dorny, P., Boomker, J., 2011. Validation of the FAMACHA[®] eye colour chart using sensitivity/specificity analysis on two South African sheep farms. *Vet. Parasitol.* 177, 203–211.
- Van Wyk, J.A., Bath, G.F., 2002. The FAMACHA system for managing the haemonchosis in sheep by clinically identifying individual animals for treatment. *Vet. Res.* 33, 509–529.

ANEXO C – *Parasitological, performance, hematological and serum biochemical parameters of tropical ewes: a canonical study based on the relationship between FAMACHA[®] scores and packed cell volume*

[Click here to access/download;Manuscript;Manuscript.docx](#) ±

[Click here to view linked References](#)

1 **Parasitological, performance, hematological and serum biochemical parameters of tropical**
 2 **ewes: a canonical study based on the relationship between Famacha[®] scores and packed cell**
 3 **volume**

4

5 Josiel Ferreira^{a*}, Robson Mateus Freitas Silveira^b, Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra^a, Cristina
 6 Santos Sotomaior^c, Débora Andréa Evangelista Façanha^a

7

8 ^a Department of Animal Science, Federal Rural University of the Semi-arid Region (*UFERSA*),
 9 Mossoró, Rio Grande do Norte, 59625-900, Brazil

10 ^b Department of Animal Science, State University of Valley Acaraú (*UVA*), Sobral, Ceará, 62040-370,
 11 Brazil

12 ^c Graduate Program in Animal Science (*PPGCA*), School of Life Sciences – *Pontifícia Universidade*
 13 *Católica do Paraná (PUCPR)*, Curitiba, Paraná, 80215-901, Brazil

14

15 **ORCID numbers:**

16 J. Ferreira (0000-0002-5927-0545); R. M. F. Silveira (0000-0003-2285-9695); A.C.D.S. Bezerra
 17 (0000-0002-1039-5187); C.S. Sotomaior (0000-0001-9281-3743); D. Façanha (0000-0003-0917-
 18 1546)

19

20 **Corresponding author:**

21 J. Ferreira: E-mail: jjosielborges@hotmail.com

Abstract This study aimed to evaluate the parasitological, performance, hematological and serum biochemical parameters of tropical ewes infected with gastrointestinal parasites in their natural environment, according to agreement of the Famacha® (F[®]) score and packed cell volume (PCV) using a canonical discriminant approach. The *Morada Nova* ewes were individually monitored by assessing parasitological parameters (eggs per gram of feces, EPG; F[®] score), performance (body weight, BW; body condition score, BCS), hematological parameters (red blood cells, RBC; hemoglobin concentration, H_E; PCV; mean corpuscular volume, MCV; mean corpuscular hemoglobin, MCH; mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC; white blood cells, WBC) and serum biochemical panel (glucose, GLU; cholesterol, CHO; triglycerides, TRI; urea, URE; creatinine, CRE; total protein, TP; albumin, ALB; globulin, GLO; Aspartate aminotransferase, AST; alanine aminotransferase, ALT). The original spreadsheet (D₁) which contained all the data was duplicated and only the values considered 'true' (D₂) were maintained based on the relationship between F[®] system and the PCV values as proposed by literature. The variables of both databases were subjected to descriptive analyzes and the effect of F[®] classification was verified for continuous variables. A canonical discriminant analysis was carried out afterwards to verify the discriminatory capacity of the variables of the two databases. A significant reduction in H_E and PCV in both treatments (D₁ and D₂) was observed as the F[®] score increased up to F[®]4. The animals were more distributed among almost all the F[®] score categories in canonical classifications when blood parameters were used, mainly from D₂, in which the most important variables were MCV, MCHC, RBC and WBC. The two discriminant canonical functions using all D₁ and D₂ variables were significantly different ($P < 0.001$). The most important variables for individual animal classification in each of the F[®] scores in D₁ are RBC, PCV, MCV, BCS and BW (62.5 %), while PCV, RBC and H_E for D₂ are important for the individual animal classification in four F[®] scores (92.1 %). This study showed that tropical ewes changed their parasitological, performance, hematological and serum biochemical parameters according to correspondence between the F[®] system and the PCV.

46

Keywords: anemia, *H. contortus*, *Morada Nova* breed, multivariate analysis, natural infection, targeted selective treatment.

49

50 **1. Introduction**

51 Locally-adapted small ruminant flocks on farms in the Brazilian Northeast is very common.
 52 *Crioula*, *Santa Inês*, *Morada Nova*, *Somalis Brasileira* and *Barriga Negra* breeds, as well as other
 53 tropical breeds are commonly found in the region and are often successfully raised in animal
 54 production systems (Albuquerque and Ianella, 2016). Due to the great exposure of these animals to
 55 natural environment agents (e.g., climate, vegetation, ectoparasites and endoparasites), and the
 56 particular characteristics of these flocks, especially regarding the decreasing number of animals
 57 (Nunes et al., 2020), there is concern regarding mitigation actions to increase individuals of these
 58 breeds regarding conservation of the local genetic heritage (Ministry of the Environment's
 59 recommendations, 2000)

60 Infection with gastrointestinal parasites (GIN) is undoubtedly one of the most serious
 61 problems in the sheep industry around the world. This is a problem which affects the development of
 62 the *Morada Nova* breed, presenting GIN almost throughout the year, with the main worms being of the
 63 following genera: *Haemonchus* spp., *Strongyloides* spp., *Oesophagostomum* spp., and
 64 *Trichostrongylus* spp. (Ferreira et al., 2017). Diagnosing the effects of helminth infections is an
 65 efficient way to produce information and manage this problem in ruminant production systems
 66 (Ferreira et al., 2018) and many available options to evaluate diseases will be required in the near
 67 future (Andronicos et al., 2014). Therefore, multivariate analysis is one of the options for these types
 68 of studies (Bell et al., 2019).

69 Clinical disease development or diseases causing death or sickness in animals are affected
 70 through parasite feeding activities or the physical presence, migration and associated host immune
 71 response (Asmare et al., 2016). The conjunctivae color of sheep during the course of fatal
 72 haemonchosis changes from deep red in healthy sheep through shades of pink to practically white,
 73 followed by modifications of the packed cell volume (P_{CV}) (Van Wyk and Bath, 2002). Pioneer studies
 74 assembled an association between conjunctival colors and P_{CV} values in sheep to create the
 75 FAMACHA® (F®) system, which is currently widely used (Bath et al., 1996; Van Wyk and Bath,

2002). The $F^{\oplus}$ system can be used as a reliable alternative to reduce selection pressure for anthelmintics in relation to routine non-selective blanket treatment for worm control in tropical ewes (Ferreira et al., 2019a), following the recommendations when *H. contortus* is the predominant parasite (Moors and Gaulty, 2009).

Two justifications are evidenced for implementing the $F^{\oplus}$ system in sheep: the first is a way to control *H. contortus* infection (Malan et al., 2001; Van Wyk and Bath, 2002; Mahieu et al., 2007; Molento et al., 2009) and the second is to reduce using anthelmintic drugs (Bath, 2011; Hoste et al., 2011). Both justifications support sustainability in animal production systems. There is great adequacy and easy application of the $F^{\oplus}$ system in Brazilian farms. For sustainable implementation in farms, methods for identifying those animals in danger of being severely affected by worms have to be practical and inexpensive enough to use on large flocks of animals repeatedly at the peak of the worm season, as occurs in the Brazilian semi-arid region. Thus, the following question arises: *Do the fixed classifications of $F^{\oplus}$ score and P_{CV} values depict variations in the parasitological, performance, hematological and serum biochemical parameters of tropical ewes?*

Thus, this study aimed to evaluate the parasitological, performance, hematological and serum biochemical parameters of tropical ewes infected with gastrointestinal parasites in their natural environment according to the agreement of the $F^{\oplus}$ score and P_{CV} using a canonical discriminant approach.

2. Material and methods

All procedures used in this study are in accordance with the ethical standards and have been approved by the Ethics Committee on Animal Use the Federal Rural University of the Semi-arid Region – UFERSA/Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil (Protocol No. 23091003895/2014-71).

2.1. Study location, animals and characterization of farms

This study was carried out in four commercial farms in the city of Morada Nova, Ceará, Brazil (5°06'S; 38°22'W; 66 m a.s.l) under equatorial semi-arid conditions. The annual averages of air

103 temperature, relative humidity and annual precipitation are 35.6 °C, 42.4 % and 350 mm, respectively
 104 (INMET, 2016). Variations naturally occur between the months of the year, with January to June
 105 being classified as rainy months and July to December classified as dry months.

106 A total of 35 adult ewes of the *Morada Nova* breed aged three to four years were evaluated on
 107 each farm. The ewes spent the day feeding on native *Caatinga* at all times of the year, and they were
 108 gathered into a collective facility in the evening where they received mineral salt and water *ad libitum*
 109 (Ferreira et al., 2017). The vegetation is predominantly shrub-herbaceous and the animals feed on cacti
 110 and bromeliads in more open areas during the dry period.

111

112 2.2. Collected data

113 The data were collected from four flocks with a mean of 35 animals in each flock during
 114 different months of the year: March, June, September and December. Data collection of each animal
 115 was repeated at four months; however, the data history of each animal was not evaluated.

116

117 2.2.1. Parasitological parameters

118 The color of the conjunctiva was evaluated following the recommendations of the
 119 FAMACHA® system (Van Wyk and Bath, 2002) by a trained evaluator (D. Façanha). Fecal samples
 120 were simultaneously taken directly from the rectum, stored in plastic tubes and transferred to the
 121 laboratory for counting the eggs (F_{EC}) per gram in the feces (E_{PG}) (Gordon and Whitlock, 1939).

122

123 2.2.2. Performance

124 Body weight (B_w) was measured using a digital scale with two decimal places and an
 125 accuracy of ± 100 g, and body condition score (B_{CS}) with a visual scale, varying from 1 to 5 (Machado
 126 et al., 2008).

127

128 2.2.3. Hematological parameters

The blood collection was performed using a collection system in vacuum tubes of 10 mL with anticoagulant ethylenediaminetetraacetic acid. The red blood cell (R_{BC} , $\times 10^6$ mL), hemoglobin concentration (H_E , g dL⁻¹), packed cell volume (P_{CV} , %), mean corpuscular volume (M_{CV} , fL), mean corpuscular hemoglobin (M_{CH} , pg), mean corpuscular hemoglobin concentration (M_{CHC} , g dL⁻¹) and white blood cell (W_{BC} , $\times 10^3$ mL⁻¹) values were measured using an automatic analyzer (*Labtest Diagnostica SA – Lagoa Santa, Minas Gerais, Brazil*)

135

2.2.4. Serum biochemical parameters

The serum collection was performed using a system in vacuum tubes of 10 mL with plasma separating gel (*VIDA Biotecnologia, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil*). The glucose (G_{LU} , mg dL⁻¹), cholesterol (C_{HO} , mg dL⁻¹), triglycerides (T_{RI} , mg dL⁻¹), urea (U_{RE} , mg dL⁻¹), creatinine (C_{RE} , g dL⁻¹), total protein (T_P , g dL⁻¹), albumin (A_{LB} , g dL⁻¹), globulin (G_{LO} , g dL⁻¹), aspartate aminotransferase (A_{ST} , U L⁻¹) and alanine aminotransferase (A_{LT} , U L⁻¹) values were measured in an automatic biochemical analyzer (HumaStar 80, Weibaden, Germany).

143

2.3. Databases and statistical analyses

A total of 520 data statistics for 21 variables (Database 1; D_1) were organized into one Microsoft Excel® 2017 spreadsheet. The spreadsheet was subsequently duplicated and only the values considered 'true' were maintained based on the relationship between the F° system and the P_{CV} values (Database 2; D_2) as proposed by literature (Van Wyk and Bath, 2002). The F° score is given by an observer by comparing the color of the mucous membrane of the lower eyelid with a color chart printed on a plastic cardboard with five color levels as described in Table 1. The eyelid color may vary continuously with P_{CV} .

The variables of both databases were subjected to descriptive analyzes (mean $\pm$ standard deviations, interquartile range, minimum and maximum) to identify the particularities of each of them in their respective database (Tables 2 and 3), except for F° scores and B_{CS} which should not be handled as numerical data (Mahieu, 2017). The F° score was used as an independent variable, while

the B_{CS} , which is a discrete variable, was represented using charts and frequency histograms, respectively, to identify the quantity of animals in each score.

A variance analysis (ANOVA) was performed followed by the Tukey test ($P < 0.05$) to monitor changes in variables under study in D_1 and D_2 . The $F^{\oplus}$ system scores were considered to be a fixed effect. Finally, a canonical discriminant analysis (CDA) was carried out to allocate animals into groups [(1) Parasitology; (2) Performance; (3) Hematology; (4) Serum biochemical panel] according to the correspondence of the $F^{\oplus}$ score with (D_2) or without (D_1), the reliability of the P_{CV} and to verify the discriminatory capacity of the original variables. The data were standardized in Z score to perform the CDA based on the diversity of scale units of the variables under study. The discriminant power of the variables was evaluated by eigenvalue, % of explained variance, canonical correlation (r_c), Wilks' Lambda statistic, P -value, and standardized canonical function coefficients of traits when choosing the most representative group variables of the two discriminant functions, both plotted on a two-dimensional graph showing the centroid of the three clusters and the relation between them (Fig. 3). The CDA was performed by simultaneous procedure. All statistical analyzes were performed in the Statistical Package for the Social Sciences - SPSS, version 20, 2010 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

171

172 3. Results

The descriptive values of each variable in the two databases, the first (D_1) without using the agreement between the $F^{\oplus}$ system and P_{CV} , and the second using the agreement between the $F^{\oplus}$ system and the P_{CV} (D_2), can be seen in Tables 2 and 3, respectively; in addition, the comparison between the mean values of each variable according to the $F^{\oplus}$ system categories. It is interesting to note that the number of animals is proportional according to the B_{CS} classification in D_1 (Fig. 1A) and D_2 (Fig. 1B), but only $F^{\oplus}3$ has a similar animal classification between the two databases for $F^{\oplus}$ scores (Fig. 2). Only the E_{PG} and the W_{BC} had higher amplitude measurements in the two databases, which naturally occur with this type of variable. The number of animals in each B_{CS} and $F^{\oplus}$ category were proportionally similar between D_1 and D_2 . There was a reduction ($P < 0.05$) in H_E , P_{CV} in both treatments (D_1 and D_2) as the $F^{\oplus}$ score increased up to $F^{\oplus}4$. There were changes ($P < 0.05$) to the hematological variables in

183 D₂, except for W_{BC}, according to the F[®] system category and following towards a more evidenced
 184 condition of *H. contortus* infection. Non-significant differences ($P > 0.05$) were observed for the
 185 means of the biochemical serum panel, except for C_{HO} and G_{LO} for D₁ and U_{RE} and T_P for D₂.

186 The canonical classifications and main variables are shown in Table 4. The ewes were
 187 concentrated between scores 3 and 4 for D₁ when E_{PG} was used for classifying the ewes in the F[®]
 188 score, while the ewes were classified and distributed in the F[®] score 2 and 3 for D₂ when E_{PG} and B_W
 189 and B_{CS} were used. However, the classification was more distributed among almost all the F[®] score
 190 categories when blood parameters were used, mainly from D₂ in which the most important variables
 191 were M_{CV}, M_{CHC}, M_{CV} and H_E for hematological variables and T_P, A_{LB} and G_{LO} for the serum
 192 biochemical panel.

193 The two discriminant canonical functions using all variables of both databases (D₁ and D₂)
 194 were significantly different ($P < 0.001$) and are presented in Fig. 3. The most important variables for
 195 individual animal classification in each of the F[®] scores in D₁ are R_{BC}, P_{CV}, M_{CV}, B_{CS} and B_W (62.5%),
 196 while P_{CV}, R_{BC} and H_E for D₂ are important for the individual animal classification in four F[®] scores
 197 (92.1%). The difficult identification of the five groups in Fig. 3-A is due to the little relation between
 198 the D₁ variables, and animals are classified very similarly; however, the variables in D₂ (Fig. 3-B)
 199 presented a more defined profile and the classification groups are more visible. The values presented
 200 for the first function in both figures reinforce the results, with a high difference between D₁ and D₂.

201

202 4. Discussion

203 Investigations into the use of the F[®] system in sheep have become frequent in order to test the
 204 method's efficiency in different breeds. This study is an updated approach to evaluate the F[®] system in
 205 Brazilian tropical sheep using a multivariate approach. Our results demonstrate that the
 206 correspondence between the P_{CV} and the F[®] system is relevant for the selective treatment of *Morada*
 207 *Nova* ewes, with some caveats. Classic studies by Bath et al. (1996) and Van Wyk and Bath (2002)
 208 have promoted the use of this method, which is still considered a sustainable measure of selectively
 209 treating ewes affected by hematophagous endoparasites of the *H. contortus* genus. However, the vast

majority of studies use analysis tools which in most cases only consider P_{CV} as the “gold standard” in correctly identifying the anemia degree of the animals and do not consider other morphophysiological characteristics which may occur in the body. In our study, as well others (Ferreira et al., 2017; Zaragoza-Vera et al., 2019; Bell et al., 2019) there is a search to understand the functionality and relationship that other variables present with the degree of anemia.

Compared to a treatment which takes into account a point estimate, i.e. single and immovable values for categorizing the F° and P_{CV} scores for animal treatment, consulting studies with reference values created for a breed or species has great applicability and enables greater reliability. Conventional treatment against GIN strongly stimulated the massive use of anthelmintics in small ruminant production systems. On the other hand, the use of the F° system as a selective treatment is based on preliminary investigation and individually categorizing the animal by the F° system scores 3 to 5, and subsequent confirmation of anemia by the P_{CV} values (Van Wyk and Bath, 2002).

The efficiency of the F° method in Brazilian tropical ewes, specifically of the *Morada Nova* breed, was verified by Brazilian researchers (Ferreira et al., 2019a) by evaluating cut-off points in scores 3, 4 and 5 in different P_{CVs} (15, 18 and 19%) as positive tests for anemia. Moreover, the resistance in the *Morada Nova* ewes indicates a low need for deworming (Toscano et al., 2019). Zaragoza-Vera et al. (2019) identified the consistent use of P_{CV} to diagnose the impact of nematodes on the health of Blackbelly, Pelibuey and Katahdin sheep. Infection by gastrointestinal endoparasites presents particular and seasonal patterns in semi-arid regions, mainly varying according to climate. However, sheep inserted in arid or semi-arid zones with high air temperatures and low humidity live with a high load of gastrointestinal parasites throughout the year, especially in the rainy periods (Idika et al., 2012; Ferreira et al., 2017).

In this study, eliminating a large amount of information observed for the second database (D_2) forces a result which enables a better view of the relationship between the studied variables. However, changes in the sheep's performance, serum biochemical panel, hematological, and parasitological parameters were generally very proportional, despite the fact that many agreement errors between the F° system and the P_{CV} are evidenced in D_1 . It is very difficult to visually differentiate between the

different class, especially since the observation conditions are never standardized and vary according to the illumination (hour, shade, weather conditions, position of the animal and the observer in relation to the light source), as well as the pressure exerted to reveal the eyelid, or the integument color. In addition, the P_{CV} measurement itself is subject to uncertainty.

B_{CS} is a practical measure which indicates the energy reserves of an animal (Idika et al., 2012; Soto-Barrientos et al., 2018), however it was previously used as a GIN intensity indicator, and its relationship with E_{PG} count has been verified (Cornelius et al., 2014). As it is a body measurement, B_{CS} may portray the simultaneous influence of various factors, including parasitological factors (Torres-Acosta et al., 2014). However, the quality and/or quantity of feed to meet productive and reproductive requirements should be the cornerstone when it comes to B_{CS} (Soto-Barrientos et al., 2018). There was a variation from 2.0 to 4.5 for B_{CS} in our animals, regardless of the correspondence between P_{CV} and $F^{\oplus}$ system, as shown in Fig. 1. The canonical study did not allow to observe great relations between the body indicators (B_{CS} and B_W) and the groups formed according to the $F^{\oplus}$ system and the P_{CV} , for which there would be a high overlapping error within animals which would receive anthelmintic treatment without need according to the results of this relationship. Divergent results have been reported regarding the use of B_{CS} classification as an effect (Ferreira et al. 2019b), despite its use having been suggested to identify nematode-resistant animals (Coutinho et al., 2015). An anemic animal evaluated under a classical approach with $P_{CV} \leq 17\%$ and a $F^{\oplus}$ score between 4 and 5 according to the $F^{\oplus}$ classification (Van Wyk and Bath, 2002) would be predicted to have a low B_{CS} . However, 1.53% (8) and 11.69% (7) anemic animals were found for D1 and D2, respectively, with good B_{CS} found in our database.

The influence of gastrointestinal parasites on hematological and biochemical serum parameter changes in small ruminants is a reliable way to evaluate the health status of animals (Ohaeri and Ehuwa, 2011; Bordoloi et al., 2012; Bell et al. 2019) and thereby help to better understand the pathogenesis of anemia, especially in the absence of other possible factors which may influence these changes. It is important to emphasize that the aim of this study was not to recommend the use of specific variables to investigate changes in $F^{\oplus}$ scores in sheep populations, but rather to encourage

research into other variables which may influence and explain these changes. Thus, the results of applying the methods described herein will likely vary for different animal populations and environments. Hematological parameters such as R_{BC} , H_E , P_{CV} , M_{CV} , M_{CH} , M_{CHC} and W_{BC} changed in our study according to the groups with and without the correspondence between the $F^{\oplus}$ and P_{CV} category. However, the group which considered correspondence between P_{CV} and category $F^{\oplus}$ presented a better clinical pattern (Jain, 1993) regarding normality according to reference values, and the same happens for the biochemical serum panel (Kaneko et al., 2008). The correct classification rates of the CDA for hematology were the highest for both databases, mainly in D_2 , and the main variables for the success of the classification were M_{CHC} , M_{CH} , M_{CV} and H_E . This result shows the importance of this group of variables to assist in the diagnosis and treatment of GIN, as also evidenced by Bell et al. (2019). Most sheep showed no leukocytosis signs when we observed the animals truly positive for anemia in both databases using a cut-off point of $P_{CV} \leq 19\%$ and $F^{\oplus}$ 3 and 4 scores (Sotomaior et al., 2012; Ferreira et al., 2019a), with and without the correspondence between P_{CV} and the $F^{\oplus}$ category.

It is estimated that *H. contortus* can suck around 0.03 mL of blood/day, in addition to causing blood leakage from the attachment site (Bordoloi et al., 2012). According to Soulsby (1976), the bloodletting activities of *H. contortus*, in addition to reducing the H_E concentration, cause a decrease in R_{BC} and P_{CV} . The H_E and R_{BC} values of Brazilian tropical ewes reduced significantly between $F^{\oplus}$ 1 and 5 for the two databases, and these changes were accompanied by the increase in the W_{BC} . Infected animals lose large quantities of serum proteins into the gut (Bordoloi et al., 2012), and a decrease of T_P and U_{RE} in ewes of $F^{\oplus}$ 4 and 5 categories was reported in this study.

For variables such as F_{EC} , the egg count estimate variation decreases as the number of counts increases (Vidyasshankar et al., 2012), meaning there is a response pattern from a better-defined population. We believe that the same may also happen for the other variables, as a larger number of samples or more information enables a better defined response pattern. The two CDA functions enabled this individual classification herein, as observed in Fig. 3-B. The best-defined grouping of animals in each two-dimensional plot is an indication of the same or close characteristics of each $F^{\oplus}$

291 and P_{CV} classification group, showing well-defined profiles of the other variables in question in each
 292 group (E_{PG} , blood parameters and biochemical serum panel). The use of other variables to evaluate the
 293 anemia condition of Brazilian sheep such as parasitological characteristics, performance,
 294 hematological and biochemical parameters should be better evaluated, since the P_{CV} and F° patterns
 295 proposed by Van Wyk and Bath (2002) are enough for successful flock treatment when correctly
 296 evaluated.

297

298 **5. Conclusion**

299 The parasitological, performance, hematological and serum biochemical parameters of
 300 Brazilian tropical ewes changed according to correspondence between the F° system and the P_{CV} . The
 301 F° system can be used as a reliable alternative for worm control in *Morada Nova* ewes and other
 302 variables can reinforce this diagnosis, mainly in paying attention to the evaluation aspects associated
 303 with the evaluator of the method. We can additionally identify the great functionality of canonical
 304 statistical methods as a new approach in disease studies.

305

306 **Conflicts of interest**

307 None.

308

309 **Acknowledgments**

310 The authors acknowledge the students from the Research Group of Adaptive Physiology and
 311 Conservation of Genetic Resources and Laboratory of Molecular Parasitology of *UFERSA*.

312

313 **Funding information**

314 This study was financed by the *EMBRAPA* Sheep and Goats (Brazilian Agricultural Research
 315 Corporation) and in part by the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* -
 316 Brasil (*CAPES*) - Finance Code 001.

317

318 **Authorship statement**

319 The idea for this paper was conceived by J. Ferreira. The experiments were designed by J. Ferreira and
 320 R. Silveira. The experiments were conducted by J. Ferreira, D. Façanha and A.C.D.S. Bezerra. The
 321 data were analyzed by J. Ferreira and R. Silveira. The paper was written by J. Ferreira and generally
 322 revised by R. Silveira, A.C.D.S. Bezerra, C.S. Sotomaior and Christopher J. Quinn (ECB – English
 323 Consulting Brazil).

324

325 **References**

- 326 Albuquerque, M.S.M. and Ianella, P., 2016. Inventário de Recursos Genéticos Animais da Embrapa.
 327 Embrapa, Brasília/DF, pp. 108.
- 328 Andronicos, N.M., Hensahll, J.M., Le Jambre, L.F., Hunt, P.W., Ingham, A.B., 2014. A one shot
 329 blood phenotype can identify sheep that resist *Haemonchus contortus* challenge. *Vet. Parasitol.*
 330 205, 595–605.
- 331 Asmare, K.; Sheferaw D.; Aragaw, K.; Abera, M.; Sighat, B.; Haile, A.; Kiara, H.; Szonyi, B.;
 332 Skjerve, E.; Wieland, B., 2016. Gastrointestinal nematode infection in small ruminants in
 333 Ethiopia: A systematic review and meta-analysis. *Acta Tropica*. 160, 68–77.
- 334 Bath G.F., Malan F.S., Van Wyk J.A., 1996. The "FAMACHA[®]" Ovine Anaemia Guide to assist with
 335 the control of haemonchosis, in: Proceedings of the 7th Annual Congress of the Livestock
 336 Health and Production Group of the South African Veterinary Association, Port Elizabeth, 5–7
 337 June 1996, p. 5.
- 338 Bath, G.F., 2011. Non-pharmaceutical control of endoparasitic infections in sheep. *Vet. Clin. Food*
 339 *Anim.* 27, 157–162.
- 340 Bordoloi, G., Jas, A., Ghosh, J.D., 2012. Changes in the haemato-biochemical pattern due to
 341 experimentally induced haemonchosis in Sahabadi sheep. *J. Parasit. Dis.* 36, 101–105.
- 342 Cornelius, M.P., Jacobson, C., Besier, R.B., 2014. Body condition score as a selection tool for targeted
 343 selective treatment-based nematode control strategies in Merino ewes. *Vet. Parasitol.* 206, 173–
 344 181.

- 345 Coutinho, R.M.A., Benvenuti, C.L., Junior, A.L.F. de A., Silva, F.C., Neves, M.R.M., Navarro,
346 A.M.C., Vieira, L.S., Zaros, L.G., 2015. Phenotypic markers to characterize F2 crossbreed goats
347 infected by gastrointestinal nematodes. *Small Rumin. Res.* 123, 173–178.
- 348 Bell, A., McNally, J., Smith, D.V., Rahman, A., Hunt, P., Kotze, A.C., Dominik, S., Ingham, A., 2019.
349 Quantification of differences in resistance to gastrointestinal nematode infections in sheep using
350 a multivariate blood parameter. *Vet. Parasitol.* 270, 31–39.
- 351 Ferreira, J.B., Sotomaior, C.S., Bezerra, A.C.D.S., da Silva, W.E., Leite, J.H.G.M., Sousa, J.E., Biz,
352 J.F.F., Façanha, D.A.E., 2019a. Sensitivity and specificity of the FAMACHA® system in
353 tropical hair sheep. *Trop. Anim. Health Prod.* <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01861-x>.
- 354 Ferreira, J., Guilhermino, M., Morais Leite, J., Chaves, D., do Vale, A., Silveira, R., Costa, W., Facó,
355 O., Façanha, D., 2019b. Body condition score and age do not affect the physiological responses,
356 thyroid hormones, hematological or serum biochemical parameters for tropical ewes. *Biol.*
357 *Rhythm Res.* <https://doi.org/10.1080/09291016.2019.1628393>.
- 358 Ferreira, J.B., Paiva, R.D.M., Bezerra, A.C.D.S., Sousa, J.E., Façanha, D.A.E., 2018. A multivariate
359 approach to the diagnosis of gastrointestinal infection in ewes. *Vet. Parasitol.* 252, 95–97.
- 360 Ferreira, J.B., Bezerra, A.C.D.S., Guilhermino, M.M., Leite, J.H.G.M., Silva, W.E., Paiva, R.D.M.,
361 Barbosa, T.N., Sousa, E.R., Façanha, D.A.E., 2017. Performance, endoparasitary control and
362 blood values of ewes locally adapted in semiarid region. *C.I.M.I.D.* 52, 23–29.
- 363 Gordon, H.M., Whitlock, H.V., 1939. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces.
364 *J.S.I.R.* 12, 50–62.
- 365 IBGE, 2017. Pesquisa Pecuária Municipal, Available at:
366 <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/ppm/quadros/brasil/2016>. Assess in: June 17, 2018.
- 367 Hoste, H., Sotiraki, S., Torres-Acosta, J.F.J., 2011. Control of endoparasitic nematode infections in
368 goats. *Vet. Clin. Food Anim.* 27, 163–173.
- 369 Idika, I.K., Chiejina, S.N., Mhomga, L.I. Nnadi, P.A., Ngongeh, L.A., 2012. Changes in the body
370 condition scores of Nigerian West African Dwarf sheep experimentally infected with mixed

- infections of *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis*. Vet. Parasitol. 188, 99–103.
- INMET, 2016. Stations and data session. National Institute of Meteorology, Brazil. Available at: <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=estacoes/estacoesAutomaticas>; Access in: January 2019.
- Jain, N.C., 1993. Essentials of veterinary hematology. Philadelphia: Lea & Febiger.
- Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L. 2008. Clinical biochemistry of domestic animals. 6. ed. San Diego: Academic. pp. 916.
- Machado, R., Corrêa, R.F., Barbosa, R.T., Bergamaschi, M.A.C.M., et al., 2008. In: Machado, R. (Ed.), Circular técnico 57: escore de condição corporal e sua aplicação no manejo reprodutivo de ruminantes, 1ª edição. Embrapa, São Carlos, pp. 16.
- Mahieu, M., 2017. Famacha® scores should not be handled as numerical data. Vet. Parasitol. 247, 7–9.
- Mahieu, M., Arquet, R., Kandassamy, T., Mandonnet, N., Hoste, H., 2007. Evaluation of targeted drenching using Famacha method in Creole goat: reduction of anthelmintic use, and effects on kid production and pasture contamination. Vet. Parasitol. 146, 135–147.
- Malan, F.S., Van Wyk, J.A., Wessels, C.D., 2001. Clinical evaluation of anaemia in sheep: early trials. Onderstepoort J. Vet. Res. 68, 165–174.
- Ministry of the Environment – *Ministério do meio ambiente*, 2000. Patrimônio Genético e Conhecimentos Tradicionais Associados. Available at: <http://www.mma.gov.br/patrimonio-genetico>. Assess in: July 3, 2018.
- Molento, M.B., Gavião, A.A., Depner, R.A., Pires, C.C., 2009. Frequency of treatment and production performance using the FAMACHA method compared with preventive control in ewes. Vet. Parasitol. 162, 314–319.
- Moors and Gauly, 2009. Is the FAMACHA® chart suitable for every breed? Correlations between FAMACHA® scores and different traits of mucosa colour in naturally parasite infected sheep breeds. Vet. Parasitol. 166, 108–111.

- 397 Nunes, S. F., Ferreira, J., Silveira, R. M. F., Sales, D. C., de Sousa, J. E. R., Paiva, S. R., & Façanha,
398 D. A. E. (2020). Morphometric characterization and zoometric indices of white Morada Nova
399 breed: the first step for conservation. *Small Ruminant Research*, 106178.
400 <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106178>
- 401 Ohaeri, C.C., Eluwa, M.C., 2011. Abnormal biochemical and haematological indices in
402 trypanosomiasis as a threat to herd production. *Vet. Parasitol.* 177, 199–202.
- 403 Soto-Barrientos, N., Chan-Pérez, J.I., España-España, E., Novelo-Chib, L.K., Palma-Ávila, I.,
404 Ceballos-Mendoza, A.C., Sarabia-Hernández, J.A., Santos-Ricalde, R.H., Cámara-Sarmiento,
405 R., Torres-Acosta, J.F.J., 2018. Comparing body condition score and FAMACHA® to identify
406 hair-sheep ewes with high faecal egg counts of gastrointestinal nematodes in farms under hot
407 tropical conditions. *Small. Rumin. Res.* 167, 92–99.
- 408 Sotomaior, C.S., Rosalinski-Morais, F., Costa, A.R.B., Maia, D., Monteiro, A.L.G. and Van Wyk,
409 J.A., 2012. Sensitivity and specificity of the FAMACHA® system in Suffolk sheep and
410 crossbred Boer goats, *Vet. Parasitol.* 190, 111–119.
- 411 Soulsby, E.J.L., 1976. Pathophysiology of parasitic infection. Academic Press, New York.
- 412 Torres-Acosta, J.F.J., Pérez-Cruz, M., Canul-Ku, H.L., Soto-Barrientos, N., Cámara-Sarmiento, R.,
413 Aguilar-Caballero, A.J., Lozano-Argáez, I., Le-Bigot, C., Hoste, H., 2014. Building a combined
414 targeted selective treatment schemeb against gastrointestinal nematodes in tropical goats. *Small.*
415 *Rumin. Res.* 121, 27–35.
- 416 Toscano, J.H.B., dos Santos, I.B., von Haehling, M.B., Giralde, L.A., Lopes, L.G., da Silva, M.H.,
417 Figueiredo, A., Esteves, S.N., Chagas, A.C.S. 2019. Morada Nova sheep breed: Resistent or
418 resiliente to *Haemonchus contortus* infection?. *Vet. Parasitol.* X 2, 100019.
- 419 Van Wyk, J.A. and Bath, F.G., 2002. The FAMACHA® system for managing haemonchosis in sheep
420 and goats by clinically identifying individual animals for treatment. *Vet. Res.* 33, 509–529.
- 421 Vidyashankar, A.N, Hanlon, B.M., Kaplan, R.M., 2012. Statistical and biological considerations in
422 evaluating drug efficacy in equine strongyle parasites sing fecal egg count data. *Vet. Parasitol.*
423 185, 45–56.

- 424 Zaragoza-Vera, C.V., Aguilar-Caballero, A.J., González-Garduño, R., Arjona-Jiménez, G., Zaragoza-
425 Vera, M., Torres-Acosta, J.F.J., Medina-Raynés, J.U., Berrumen-Alatorre, A.C., 2019.
426 Variation in phenotypic resistance to gastrointestinal nematodes in hair sheep in the humid
427 tropics of Mexico, Parasitology Research. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-06201-w>.

428 Table 1. Correspondence between FAMACHA[®] (F[®]) category and the packed cell volume (P_{CV}, %)
 429 class according to Van Wyk and Bath (2002).

F [®]	P _{CV} range
1	> 28
2	23 – 27
3	18 – 22
4	13 – 17
5	< 12

430

Table 2. Descriptive values of parasitological, performance, hematological and serum biochemical panel parameters of Brazilian tropical ewes for Database 1: without using the agreement between the FAMACHA[®] system and the P_{CV} (Number of observations = 520).

Indicators	Variables	Units	FAMACHA [®] system					General mean	± SD	IQR	Range	
			F [®] 1 (n=20)	F [®] 2 (n=134)	F [®] 3 (n=247)	F [®] 4 (n=115)	F [®] 5 (n=4)				Min	Max
Parasitology	F _{EC}	E _{PG}	73.10	56.47	60.86	88.57	111.00	66.71	92.67	97.50	0.0	420.00
Performance	B _W	kg	30.32	30.28	30.18	30.67	31.82	30.33	5.80	7.32	14.92	43.10
Hematology	R _{BC}	×10 ⁶ mL ⁻¹	9.70	9.04	8.36	7.36	7.28	8.35	1.92	3.01	3.90	12.80
	H _E	g dL ⁻¹	10.14 ^a	9.96 ^a	9.60 ^{ab}	8.89 ^b	8.65 ^b	9.54	1.34	1.80	6.10	12.90
	P _{CV}	%	26.90 ^a	26.33 ^a	25.58 ^{ab}	22.61 ^b	24.45 ^{ab}	25.15	5.02	6.12	13.20	40.00
	M _{CV}	fL	27.70 ^c	29.35 ^{bc}	30.93 ^{ab}	30.90 ^{ab}	33.75 ^a	30.41	4.21	8.00	22.00	42.00
	M _{CH}	pg	10.75	11.08	11.71	12.08	11.93	11.59	1.91	1.90	8.29	18.00
	M _{CHC}	g/dL	37.67 ^{ab}	37.95 ^{ab}	38.06 ^{ab}	39.47 ^a	35.48 ^b	38.31	3.92	4.40	31.60	52.80
	W _{BC}	×10 ³ mL ⁻¹	7569.50 ^a	7033.28 ^a	6619.19 ^{ab}	7155.65 ^a	4417.50 ^b	6864.15	31.77.98	4372.50	300.00	15700.00
Serum biochemical panel	G _{LU}	mg dL ⁻¹	46.80	51.12	49.20	46.90	50.50	49.10	13.75	16.00	16.00	86.00
	C _{HO}	mg dL ⁻¹	65.15 ^{ab}	74.95 ^a	73.77 ^a	70.60 ^a	57.50 ^b	72.91	15.74	23.00	33.00	119.00
	T _{RI}	mg dL ⁻¹	19.60	20.29	20.01	19.58	22.50	20.39	4.72	6.0	8.00	32.00
	U _{RE}	mg dL ⁻¹	45.10	47.08	46.91	43.57	43.25	46.11	11.41	15.75	18.00	78.00
	C _{RE}	g dL ⁻¹	1.14	1.06	1.07	1.08	1.08	1.06	0.22	0.30	0.50	1.60
	T _P	g dL ⁻¹	8.53	7.79	7.80	7.92	8.61	7.85	1.37	2.10	3.70	11.60
	A _{LB}	g dL ⁻¹	4.29	4.31	4.30	4.31	3.98	4.30	0.49	0.70	3.20	5.70
	G _{LO}	g dL ⁻¹	1.98 ^b	1.87 ^b	1.96 ^b	2.03 ^{ab}	2.28 ^a	1.95	0.37	0.55	0.96	3.00
	A _{ST}	U L ⁻¹	129.15	132.98	132.96	132.99	122.00	132.74	27.00	38.50	73.00	205.00
	ALT	U L ⁻¹	24.50	25.56	24.85	23.69	25.25	24.76	6.37	8.00	9.00	41.00

SD, Standard deviation; Min, minimum; Max, maximum; IQR, interquartile range; F_{EC}, fecal eggs count; B_W, body weight; R_{BC}, red blood cells; H_E, hemoglobin concentration; P_{CV}, packed cell volume; M_{CV}, mean corpuscular volume; M_{CH}, mean corpuscular hemoglobin; M_{CHC}, mean corpuscular hemoglobin concentration; W_{BC}, white blood cells; G_{LU}, glucose; C_{HO}, cholesterol; T_{RI}, triglycerides; U_{RE}, urea; C_{RE}, creatinine; T_P, total protein; A_{LB}, albumin; G_{LO}, globulin; A_{ST}, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase

^{abc} Indicate significant difference by Tukey test (P < 0.05)

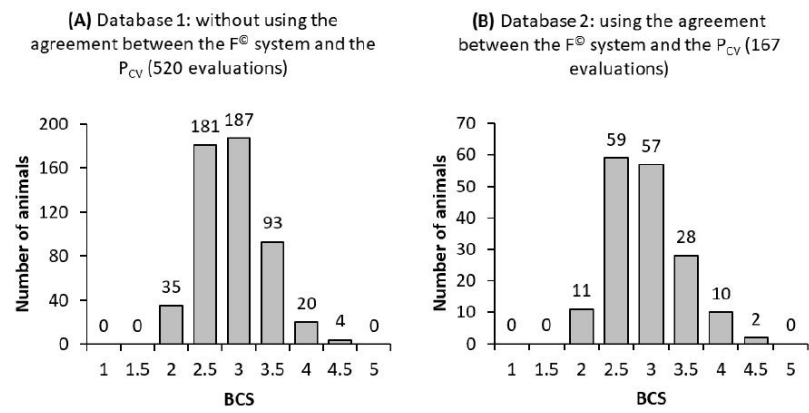
Table 3. Descriptive values of parasitological, performance, hematological and serum biochemical panel parameters of Brazilian tropical ewes for Database 2: using the agreement between the FAMACHA[®] system and the PCV (Number of observations = 167).

Indicators	Variables	Units	FAMACHA [®] system				General mean	± SD	IQR	Range	
			F [®] 1 (n=7)	F [®] 2 (n=77)	F [®] 3 (n=67)	F [®] 4 (n=16)				Min	Max
Parasitology	F _{EC}	Epg	32.57	56.65	67.61	67.13	55.99	83.58	108.00	0.00	408.00
Performance	B _W	kg	27.04	30.99	30.63	30.64	29.83	5.72	7.00	14.92	45.00
Hematology	R _{BC}	×10 ⁶ mL ⁻¹	10.48 ^a	8.97 ^b	6.88 ^c	5.09 ^d	7.86	1.96	3.42	4.03	12.27
	H _E	g dL ⁻¹	10.79 ^a	9.63 ^b	8.43 ^c	7.34 ^d	9.05	1.26	1.80	5.50	12.20
	P _{CV}	%	30.78 ^a	25.03 ^b	20.76 ^c	16.37 ^d	23.23	3.85	6.22	13.70	36.06
	M _{CV}	fL	28.14 ^b	28.27 ^{ab}	31.06 ^a	32.50 ^a	29.99	4.07	8.00	22.00	37.00
	M _{CH}	pg	10.34 ^b	10.78 ^b	12.51 ^a	13.79 ^a	11.86	2.21	2.70	8.50	17.40
	M _{CHC}	g dL ⁻¹	36.96 ^c	38.12 ^{bc}	40.43 ^{ab}	42.87 ^a	39.60	3.99	5.00	32.50	50.10
	W _{BC}	×10 ³ mL ⁻¹	6298.57	6765.84	7182.09	8398.75	7161.31	3302.97	4810.00	400.00	15700.00
	G _{LU}	mg dL ⁻¹	53.86	50.14	49.00	51.81	51.20	12.86	15.00	19.00	86.00
	C _{HO}	mg dL ⁻¹	69.29	73.26	68.88	64.00	68.86	17.11	25.00	34.00	119.00
	T _{RI}	mg dL ⁻¹	20.14	20.09	19.91	20.38	20.13	5.01	7.00	10.00	32.00
Serum biochemical panel	U _{RE}	mg dL ⁻¹	51.71 ^a	45.29 ^{ab}	41.37 ^b	41.75 ^b	45.03	10.55	14.00	23.00	76.00
	C _{RE}	g dL ⁻¹	1.10	1.12	1.06	1.04	1.08	0.21	0.20	0.50	1.60
	T _P	g dL ⁻¹	8.23 ^a	7.93 ^{ab}	7.89 ^{ab}	7.12 ^b	7.79	1.39	2.30	4.50	10.60
	A _{LB}	g dL ⁻¹	4.29	4.22	4.19	4.47	4.29	0.54	0.70	3.20	5.70
	G _{LO}	g dL ⁻¹	1.95	1.93	2.04	1.94	1.96	0.37	0.53	1.00	3.00
	A _{ST}	U L ⁻¹	148.29	131.56	129.93	132.50	135.57	27.01	42.00	75.00	205.00
	A _{LT}	U L ⁻¹	27.00	26.01	24.09	25.50	25.65	6.27	8.00	11.00	39.00
	SD. Standard deviation; Min. minimum; Max. maximum; IQR. interquartile range; F _{EC} . fecal eggs count; B _W . body weight; R _{BC} . red blood cells; H _E . hemoglobin concentration; P _{CV} . packed cell volume; M _{CV} . mean corpuscular volume; M _{CH} . mean corpuscular hemoglobin; M _{CHC} . mean corpuscular hemoglobin concentration; W _{BC} . white blood cells; G _{LU} . glucose; C _{HO} . cholesterol; T _{RI} . triglycerides; U _{RE} . urea; C _{RE} . creatinine; T _P . total protein; A _{LB} . albumin; G _{LO} . globulin; A _{ST} . aspartate aminotransferase; A _{LT} . alanine aminotransferase										
	^{abcd} Indicate significant difference by the Tukey test ($P < 0.05$).										

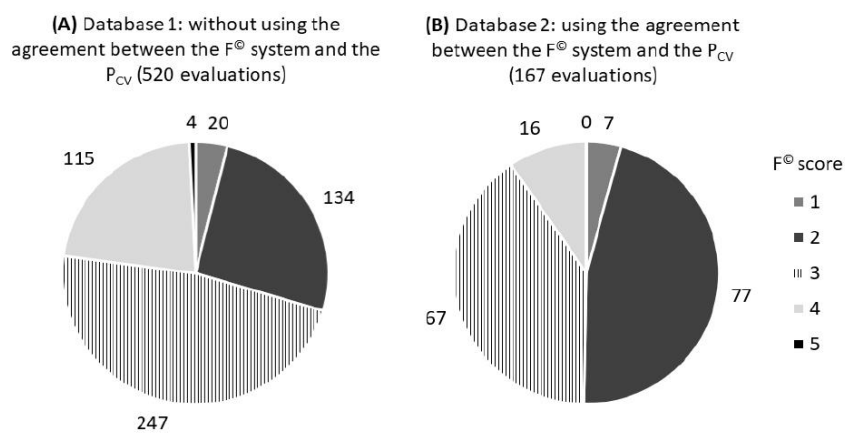
Table 4. Percentage (%) and number of animals (N) classified in each group according to the FAMACHA® (F[®]) category for two databases.

Indicators ¹	Classification (%; N) by F [®] category					CCC ¹ (%)	Variance explained (%)		Wilks' Lambda (P-value) ²		Main variables
	F [®] 1	F [®] 2	F [®] 3	F [®] 4	F [®] 5		F1	F2	F1	F2	
Database 1: without using the agreement between the F [®] system and the P _{CV} - Number of observations = 520											
Parasitology	0 (0)	0 (0)	96 (237)	7.8 (9)	0 (0)	47.3	100.0	-	= 0.039	-	F _{EC}
Performance	0 (0)	4.5 (6)	96.8 (239)	0 (0)	0 (0)	47.1	98.6	1.4	< 0.001	= 0.934	B _{CS} and B _W M _{CHC} , M _{CHC} , R _{BC} and W _{BC}
Hematology	10 (2)	17.9 (24)	84.6 (209)	22.6 (26)	0 (0)	50.2	73.8	20.5	< 0.001	= 0.02	G _{LO} , G _{LI} and A _{LB}
Serum biochemical panel	0 (0)	9 (12)	93.1 (230)	9.6 (11)	0 (0)	48.7	66.0	21.5	< 0.001	= 0.512	
Database 2: using the agreement between the F [®] system and the P _{CV} - Number of observations = 167											
Parasitology	0 (0)	87 (67)	14.9 (10)	0 (0)	-	46.1	100.0	-	= 0.681	-	F _{EC}
Performance	0 (0)	67.5 (52)	50.7 (34)	0 (0)	-	51.5	82.6	17.4	= 0.011	= 0.288	B _{CS} and B _W M _{CHC} , M _{CHC} , M _{CV} and H _E
Hematology	42.9 (3)	93.5 (72)	91 (61)	68.8 (11)	-	88.0	99.1	0.80	< 0.001	= 0.898	T _P , A _{LB} and G _{LO}
Serum biochemical panel	0 (0)	75.3 (58)	53.7 (36)	31.3 (5)	-	59.3	67.0	23.8	= 0.08	= 0.458	

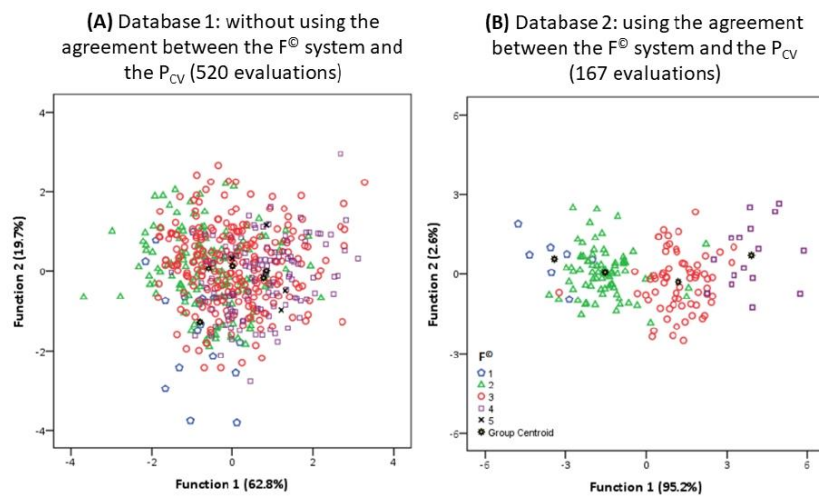
¹ Parasitology (F_{EC}: fecal egg count); Performance (B_W: body weight; B_{CS}: body condition score); Hematology (R_{SC}: red blood cells; H_E: hemoglobin concentration; M_{CV}: mean corpuscular volume; M_{CHC}: mean corpuscular hemoglobin; M_{CHC}: mean corpuscular hemoglobin concentration; W_{BC}: white blood cells) and Serum biochemical panel (G_{LU}: glucose; C_{HO}: cholesterol; T_{RI}: triglycerides; U_{RE}: urea; C_{RE}: creatinine; T_P: total protein; A_{LB}: albumin; G_{LO}: globulin; A_{ST}: aspartate aminotransferase; A_{LT}: alanine aminotransferase); ²CCC: correctly classified cases; ³Statistical test: Canonical functions (F1 and F2) with P < 0.05 of Wilks' Lambda were considered significant.



451 Figure 1. Number of animals according to body condition score (BCS) classification in two databases.



452 Figure 2. Number of animals according to the FAMACHA[®] (F[®]) score classification in two databases.



453 Figure 3. Bi-dimensional plot for discriminant canonical analysis for all variables in two databases.

454