

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

INFLUÊNCIA DO TIPO DE ALIMENTO SOBRE O
ESTABELECIMENTO DE *Haemonchus contortus*
EM CORDEIROS

NADINO CARVALHO

Botucatu – SP

2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

INFLUÊNCIA DO TIPO DE ALIMENTO SOBRE O
ESTABELECIMENTO DE *Haemonchus contortus*
EM CORDEIROS

Nadino Carvalho

Dissertação apresentada junto ao
Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária como pré-requisito
para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Alessandro Francisco Talamini do Amarante

Botucatu – SP

2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE - CRB 8/5651

Carvalho, Nadino.

Influência do tipo de alimento sobre o estabelecimento de *Haemonchus contortus* em cordeiros / Nadino Carvalho. - Botucatu, 2014

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Alessandro Francisco Talamini do Amarante

Capes: 50502042

1. Helminto. 2. *Haemonchus contortus*. 3. Ovino - Parasito. 4. Nutrição animal. 5. Resposta imune.

Palavras-chave: Controle de helminto; Imunidade; Nutrição; Ovinos.

Nome do Autor: Nadino Carvalho

Título: INFLUÊNCIA DO TIPO DE ALIMENTO SOBRE O ESTABELECIMENTO
DE *Haemonchus contortus* EM CORDEIROS

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Alessandro Francisco Talamini do Amarante
Presidente e Orientador
Departamento de Parasitologia
IBB – UNESP - Botucatu

Prof. Dr. Alexandre Secorun Borges
Membro
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof^a. Dr. Helder Louvandini
Membro
Laboratório de Nutrição Animal, Centro de Energia Nuclear na Agricultura
USP- Piracicaba

Data da Defesa: 21 de fevereiro de 2014.

Dedicatória

*A minha mãe, que não teve medo
do cabo da enxada para ver
seus dois filhos formados.*

Agradecimentos

Há muito tempo um urubu escreveu que eu estava a empenar-me para os voos da vida. Eis que hoje posso dizer que este pequeno pássaro, já se equilibra em pleno ar, graças aos ensinamentos e conselhos daqueles que me deram a vida. Minha mãe, minha rainha, Maria do Socorro Santos, com você aprendi o sentido mais pleno da palavra perseverança, aprendi a lutar sem me deixar abater, aprendi a ser uma pessoa humilde e grata por tudo o que tenho. Com meu pai, o Urubu escritor, aprendi grandes lições de vida e a buscar o conhecimento de forma incessante. Tive o privilégio de ter como irmão um cabeção dotado de inteligência ímpar, que me ensinou a ter mais paciência, pois muitas vezes precisei agir como uma espécie de segundo pai, Talles Carvalho com você aprendi a ensinar (esse sofreu na minha mão). Vocês juntamente com o restante de nossa família foram e são o meu norte, para onde eu sempre posso voltar.

Agradeço aos meus companheiros dos mais variados cursos que dividiram o teto da Casa da UFPA em Castanhal e que tornaram as minhas experiências de vida ainda mais plenas ao me deparar com diferentes forças e objetivos comuns, “comemos na mesma panela” e alcançamos juntos nossa tão almejada graduação. Nessa jornada Gabriela Souza teve participação especial, foi muito bom ter você ao meu lado, sempre estará em meu coração.

Agradeço a Turma de Veterinária de 2007, pelos cinco anos juntos de estudos, comemorações, alegrias, brigas e reconciliações, choros e sorrisos. Vocês são meu segundo diploma e aos meus padrinhos no ramo da pesquisa, Professora Alessandra Scofield e Professor Gustavo Góes-Cavalcante.

Agradeço aos bons amigos da República Radiotreparia de Botucatu onde a zoeira nunca pode parar. Vocês são como irmãos para mim.

Aos companheiros de laboratório de helmintologia, agradeço, pois muito mais que um local de trabalho encontrei aqui um lugar de aprendizado e bons amigos. A Alessandro Amarante, por sua muitas “sugestões” ao me orientar.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida durante o mestrado.

Por fim, espero sinceramente, que eu possa contar com vocês em voos futuros, pois diferente do que diz o poeta, para mim o céu não é o limite.

Nadino Carvalho.

Lista de Figuras

Figura 1: Rebanho efetivo de ovinos no Brasil ao longo dos anos.	10
Figura 2: <i>Haemonchus contortus</i> : A: extremidade anterior → papilas cervicais. B: extremidade posterior macho → bolsa copuladora e espículo. C: Apêndice vulvar no terço final da extremidade posterior da fêmea e → ovos no interior do útero.	11
Figura 3: Larva infectante de <i>Haemonchus</i> . A: Dupla cutícula B: início de desembainhamento. C: desembainhada.	12

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1. <i>HAEMONCHUS CONTORTUS</i>	11
1.2. IMUNIDADE E NUTRIÇÃO.....	13
2. ARTIGO CIENTÍFICO	16
EFEITO DA DIETA E RESPOSTA IMUNOLÓGICA SOBRE O ESTABELECIMENTO DE <i>HAEMONCHUS</i> <i>CONTORTUS</i> EM CORDEIROS	17
RESUMO.....	17
INTRODUÇÃO.....	18
MATERIAL E MÉTODOS	20
RESULTADOS	25
<i>Parasitologia</i>	25
<i>Desempenho e hematologia</i>	26
DISCUSSÃO.....	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46

Resumo

Objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da dieta e da imunidade sobre o estabelecimento de *Haemonchus contortus* em cordeiros. O experimento foi delineado em fatorial 2 x 2, duas dietas (feno ou feno+concentrado) e dois estados imunológicos (suprimido ou normal). Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos experimentais (n=7): feno suprimido, feno normal, feno+concentrado suprimido e feno+concentrado normal. O feno utilizado foi de *Cynodon dactylon* (CV coast cross) a vontade e a ração ofertada em quantidade equivalente a 3 % do peso, com reajustes semanais. A imunossupressão foi realizada 4 horas antes da infecção artificial e repetida semanalmente, foi utilizado Metilprednisolona na dose de 1.33 mg/kg de peso vivo (intramuscular). O período de adaptação a dieta foi de 22 dias. Cada cordeiro recebeu 4000 larvas infectantes de *H. contortus*. Foram avaliados os padrões hematológicos, desempenho, resposta imunológica semanalmente e realizado contagens de ovos por grama de fezes (OPG) no 21º, 24º e 27º dias após infecção. Aos 28 dias pós infecção os animais foram eutanasiados e os parasitas quantificados e mensurado seu comprimento e quantidade de ovos em seu interior. As médias foram comparadas por análise de variância a 5% de significância. A carga parasitária foi semelhante em ambos os grupos, no entanto o OPG foi inferior em todas as coletas nos animais que recebiam feno+concentrado ($P < 0,05$). O imunossupressor foi eficiente em reduzir a contagem de IgG plasmático e mastócitos e eosinófilos na mucosa do abomaso, no entanto houve pouco favorecimento ao parasita frente a imunossupressão, que favoreceu apenas no tamanho dos parasitas machos ($P < 0,05$). Maior ganho em peso diário ocorreu nos animais que recebiam concentrado, no entanto os do grupo feno+concentrado normal apresentaram maiores ganhos que o feno+concentrado suprimido ($P < 0,05$). A alimentação com concentrado não exerce efeito direto sobre o estabelecimento de *H. contortus*. A suplementação alimentar favorece maior ganho em peso, ameniza os efeitos patogênicos do parasita e conduz a padrões hematológicos normais, com menor eliminação de ovos nas fezes.

Palavras-chave: controle de helminto; ovinos; nutrição; imunidade.

Abstract

The aim of this study was evaluate the effect of diet and immunity on the establishment of *Haemonchus contortus* in lambs. The trial was in a 2 x 2 factorial design, using two diets (hay or hay+concentrate) and two immune states (normal or suppressed). The animals were randomly in four experimental groups (n = 7): hay suppressed, hay normal, hay+concentrate suppressed and hay+concentrate normal. The hay was of *Cynodon dactylon* (CV Coast cross) and will concentrate offered equivalent to 3% by weight, with weekly adjustments amount. Immunosuppression was performed four hours before artificial infection and repeated weekly, Methylprednisolone was used at a dose 1.33 mg/kg bodyweight (intramuscular) The adaptation period to the diet was 22 days. Each lamb received 4,000 infective larvae (L3) of *H. contortus*. Haematological, performance, immune response weekly and fecal egg count (FEC) at 21, 24 and 27 days after infection were evaluate. The animals were slaughter 28 days after infection, and the parasites recovered were quantified and measured the length and number of eggs in females were counts. Means were compare by analysis of variance at 5 % significance (Tukey's test). The worm burden was similar in both groups, however the FEC was lower in all samples on animals that received hay+concentrate ($P < 0.05$). The immunosuppressive was effective on reduce the IgG plasma levels and number of abomasal mucosal mast cell and eosinophils, however there was little favouritism to parasite against immunosuppression, which favoured only in the size of male parasites ($P < 0.05$). The greater daily weight gain was observed in animals receiving concentrate, however the group hay+concentrate normal showed higher weight gains than hay+concentrate suppressed group ($P < 0.05$). The supply of concentrate does not exercise direct effect on establishment of *H. contortus*. Supplementation favours weight gain, lessens the pathogenic effects of the parasite and leads to normal haematological patterns, with lower elimination of eggs in the faeces.

Key words: helminthic control; sheep; nutrition; immunity.

1. INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva de carne passa por um momento importante para seu fortalecimento, no cenário mundial houve redução do rebanho dos principais exportadores e elevação de preços. Mesmo com baixo consumo de carne ovina pelos brasileiros, 500 gramas per capita, o Brasil ainda importa parte da carne consumida (FAO, 2008; ANUALPEC, 2011).

A ovinocultura brasileira apresentou importante crescimento nos últimos anos FIGURA 1 (IBGE, 2013). E os hábitos e preferências de consumo dos Brasileiros vêm passando por mudanças gradativas tornando os consumidores a cada dia mais seletivos, que buscam produtos com características específicas, o que abre caminho para alimentos derivados da ovinocultura (Barroso et al., 2007; Sorio, 2009)

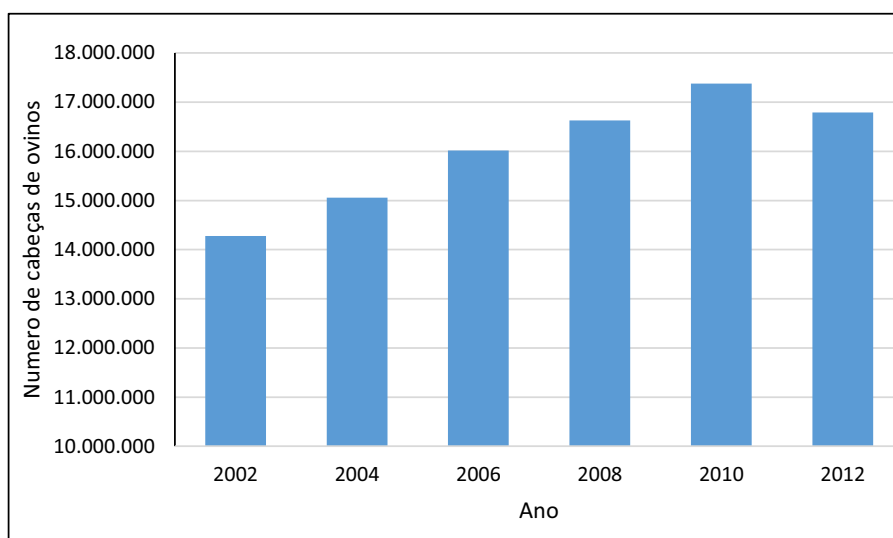


FIGURA 1: Rebanho efetivo de ovinos no Brasil ao longo dos anos.

Frente a demanda, a cadeia produtiva ovina passa por diversos percalços nos diferentes setores produtivos. Deficiente integração entre os elos da cadeia onde o produtor é pressionado por altos preços de insumos e baixos preços nos frigoríficos. Há ainda carência de incentivos governamentais e problemas sanitários. Essas são características que requerem maior atenção na ovinocultura brasileira (SORIO, 2009).

Os problemas sanitários mais comuns nas propriedades rurais são de ordem infecciosa e parasitária. As helmintoses representam um dos principais entraves da ovinocultura, levando a grandes perdas econômicas em decorrência de elevadas taxas de mortalidade, redução da produtividade e elevação do custo de produção em decorrência de tratamentos.

1.1. *Haemonchus contortus*

Haemonchus contortus é a principal espécie de helminto parasita gastrointestinal de pequenos ruminantes no Brasil. Este parasito está amplamente distribuído por todo o mundo, é a espécie que apresenta maior resistência aos princípios anti-helmínticos, necessitando de medidas complementares e específicas que venham a favorecer seu controle (Melo and Bevilaqua, 2005; Pereira et al., 2008). É um parasita hematófago da superfamília Trichostrongiloidea, os indivíduos adultos são facilmente identificados por sua localização específica no abomaso. É considerado o grande helminto da família Trichostrongylidae, que agrupa helmintos filiformes, que medem entre dois e três centímetros de comprimento. Na extremidade anterior observa-se uma lanceta bucal desenvolvida para auxiliar na espoliação sanguínea e papilas cervicais que são projeções laterais da cutícula. No terço posterior das fêmeas tem-se o apêndice vulvar, já os machos apresentam bolsa copuladora localizada no final do corpo, com a presença de gubernáculo e dois espículos (FIGURA 2) (ARAÚJO e RODRIGUES, 2002; MARTÍNEZ-ORTÍZ-DE-MONTELLANO et al., 2013).

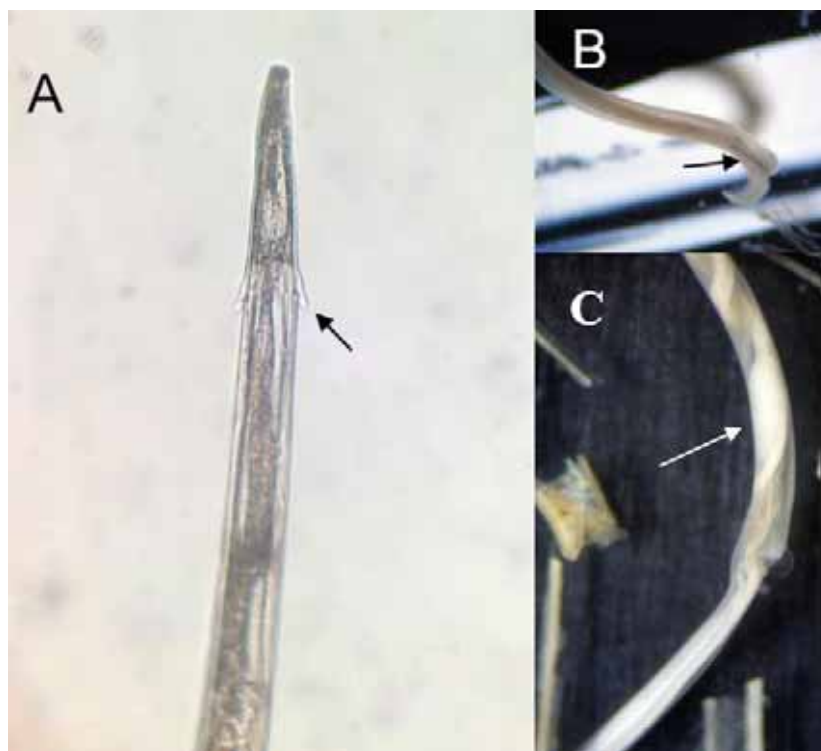


FIGURA 2: *Haemonchus contortus*: A: extremidade anterior → papilas cervicais. B: extremidade posterior macho → bolsa copuladora e espículo. C: Apêndice vulvar no terço final da extremidade posterior da fêmea e → ovos no interior do útero.

Os ovos desses parasitos são eliminados nas fezes de forma não larvada, e dão origem a larvas. A temperatura ótima para o desenvolvimento das larvas está na faixa de 18 °C a 26 °C, e a umidade relativa do ar ideal é superior a 75%. O desenvolvimento larval pode ser acelerado ou retardado em temperaturas inferiores e superiores a ideais (VEGLIA, 1915). Larvas infectantes (L3) podem sobreviver por longos períodos na pastagem ou bolo fecal, podendo migrar lateral e verticalmente no solo ou plantas forrageiras e são ingeridas junto com o alimento no momento do pastejo (AMARANTE et al., 1996; SILVA et al., 2008).

Depois de ingerida, a L3 perde sua cutícula extra, bainha de L2 (FIGURA 3), ao passar pelo rúmen. No abomaso penetra na mucosa gástrica e muda para o quarto estágio larval (L4), o que ocorre entre 24 a 96 horas após a ingestão. A muda para o quinto estágio (L5) ocorre na luz do abomaso entre 8 e 16 dias pós infecção (BALIC et al., 2000). Larvas em quarto estágio já são capazes de realizar hematofagia, helmintos adultos chegam a consumir 0,05mL de sangue por dia e cada fêmea adulta é capaz de produzir acima de cinco mil ovos por dia (COYNE et al., 1991; IBELLI et al., 2011).

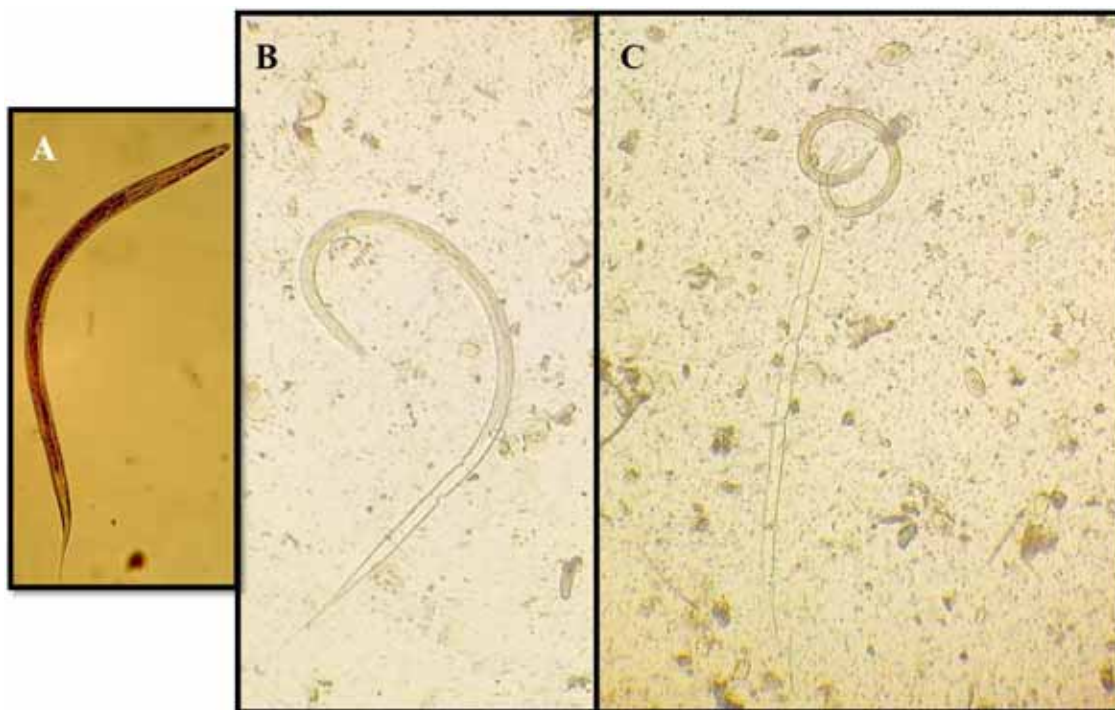


FIGURA 3: Larva infectante de *Haemonchus*. A: Dupla cutícula B: início de desembainhamento. C: desembainhada.

A afecção apresenta-se de duas maneiras, forma aguda ou crônica. A forma aguda acarreta em perdas significativas em decorrência de morte dos animais e queda na produção. Nos casos crônicos podem apresentar letargia,

fraqueza muscular, palidez das mucosas, edema sub-mandíbula e na região ventral do abdômen. Durante a necropsia é possível observar edema e grande quantidade de helmintos no interior do abomaso. A parede do abomaso pode apresentar-se hiperêmica com ulcerações e coágulos sanguíneos (AMARANTE et al., 1999; NISHI et al., 2002).

Atualmente, o controle da haemonchose baseia-se, principalmente, em tratamentos com anti-helmínticos. O problema desses tratamentos é o rápido aparecimento de cepas resistentes aos fármacos utilizados (ALMEIDA et al., 2010; RAMOS et al., 2002). A resistência a anti-helmíntico corresponde à capacidade de sobrevivência de uma parte da população de helmintos submetidos a um fármaco que é letal a uma população sensível da mesma espécie. A dificuldade de controle desses parasitas é um fator preocupante, pois há muitos produtores de ovinos no Brasil que poderão abrir mão da ovinocultura por não terem subsídios para um bom controle da verminose (Echevarria et al., 1996).

Ao longo dos anos, diversas formas de controle vêm sendo estudadas. Métodos de diagnósticos alternativos, como o FAMACHA® é falho no sentido de não preconizar tratamento a animais resilientes e induzir a tratamentos em animais resistentes a haemonchose que apresentem anemia por outro fator. Da mesma forma, calendários de vermifugação preconizam tratar animais que muitas vezes estão livres do parasito (CEZAR et al., 2008).

Pesquisas com a utilização de fitoterápicos, homeopatia e controle biológico têm mostrado resultados pouco expressivos ou necessitam de maiores pesquisa *in vivo* (CEZAR et al., 2008; ROCHA et al., 2006; SILVA et al., 2010).

No campo do melhoramento genético as pesquisas apontam para correlação negativa entre resistência a haemonchose e aspectos produtivos (BISHOP e STEAR, 2003).

1.2. Imunidade e nutrição

O sistema imune possui mecanismos efetores capaz de controlar uma gama de microrganismos. No geral a imunidade mediada por células são responsáveis por microrganismos dentro das células do hospedeiro e a imunidade humoral neutraliza e elimina microrganismos extracelulares. No entanto infecções helmínticas necessitam de mecanismos diferente para o

controle da infecção. Através da ativação de linfócitos T CD4⁺, é iniciada a resposta ao parasita, com produção de células TH2. Os principais componentes da resposta TH2 são Inter leucina (IL) 4, IL5, IL13, células dendríticas mastócitos e eosinófilos, responsáveis por estimular a produção de anticorpos e sintetizar e eliminar proteínas capazes de lesionar o tecido do parasita (MAIZELS et al., 2012; MARSHALL, 2004).

A busca pelo controle da infecção parasitária gera um custo ao animal, que pode comprometer em torno de 15% da produtividade pois os nutrientes são direcionados para o sistema imune e não para a produção. Somado ao custo imunológico, nas infecções por *Haemonchus* há ainda espoliação sanguínea que pode reduzir o apetite e causar alterações ruminais tornando a digestão menos eficiente (GREER, 2008).

Doyle; Kahn; McClure, (2011) evidenciaram que em infecções por *H. contortus* ocorre alteração da função ruminal, acarretando em elevação do pH, diminuição do nitrogênio amoniacal e ácidos graxos voláteis. Também demonstraram que, há menor fecundidade de fêmeas de *H. contortus* que parasitam animais resistentes.

São marcantes os benefícios decorrentes da suplementação alimentar em ruminantes. No rebanho ovino a suplementação conduz a melhores índices produtivos, permitindo a terminação de animais mais pesados e com maior rendimento de carcaça (ALVES et al., 2003; DANTAS et al., 2008).

A suplementação têm mostrado bons resultados em animais que receberam alimento concentrado. Bricarello et al. (2005) demonstraram que cordeiros alimentados com concentrado de elevado teor de proteína albergam menor carga parasitária, tem maior Volume Globular (VG) e maior concentração de Proteína Plasmática (PP) que cordeiros alimentados com baixos níveis de proteína, portanto, nutrição favorece animais resistentes ou resilientes a infecção por *H. contortus*. Os maiores benefícios da suplementação sobre a resistência do hospedeiro a nematódeos gastrintestinais são expressas quando ofertado alimentos ricos em proteínas, em vez de alimentos ricos em energia (HOUDIJK, 2012).

No rúmen, local do desembainhamento larval de *H. contortus*, ocorre uma gama de reações e processos fermentativos que favorecem a digestão. A manutenção da temperatura, pH e ausência de oxigênio são fundamentais para

a ocorrência de reações adequadas. Os mecanismos homeostáticos mantêm a temperatura ruminal relativamente constante a 39 °C, o meio é mantido em anaerobiose e melhor degradação dos alimentos, ocorre com pH de 5,5 a 7. Para a manutenção do pH em níveis adequados, os ovinos produzem grande quantidade de saliva (6 a 16 litros por dia), a saliva tem alta alcalinidade o que estabiliza o pH (BERCHIELLI et al., 2006).

Os Ácidos Graxos de Cadeia Curta (AGCC) são derivados do metabolismo microbiano no rúmen e são responsáveis por suprir de 60 a 70 % do requerimento energético diário. Os principais ácidos graxos são acetato, propionato e butirato. A concentração destes no rúmen é determinada de acordo com a relação volumoso concentrado da dieta (BERCHIELLI et al., 2006). Animais que consomem volumoso apresentam 71,4 %, 16 % e 19 % de concentração de acetato, propionato e butirato no rúmen, enquanto em dieta com relação de 20:80 de volumoso/concentrado as concentrações podem ser de 53,6, 30,6 e 10,7, respectivamente.

Os efeitos da nutrição, volumoso *versus* concentrado, sobre a fisiologia e bioquímica no sistema gastrointestinal podem causar grandes mudanças nos pré-estômagos. As concentrações dos produtos finais da fermentação, AGCC, são afetados pelo tipo de dieta, alterando também a microbiota predominante (BERGMAN, 1990). Alimentos concentrados determinam maior taxa de passagem, menor tempo de permanência dos alimentos no rúmen e menor volume de abomaso, devido a maior quantidade de carboidratos não fibrosos que são solúveis e de mais fácil digestão (ALVES et al., 2003; REGADAS-FILHO et al., 2011).

Menores cargas parasitárias em animais alimentados com concentrado nos levam a hipótese que menor estabelecimento de *H. contortus* ocorre por criar ambiente ruminal desfavorável, com efeito direto sobre as larvas diminuindo seu poder de infecção. Dessa maneira, o objetivo deste trabalho é avaliar o efeito da dieta e da imunidade sobre o estabelecimento parasitário de *H. contortus*.

2. Artigo científico

Nas páginas a seguir encontra-se o manuscrito a ser encaminhado a revista Veterinary Parasitology, no formato Original research papers (Regular Papers). Após as considerações da banca o artigo será corrigido e finalizado, quando então será traduzido para inglês e encaminhado a revista.

Resumo das normas da revista

- 1 . Os manuscritos devem ser escritos em Inglês.
- 2 . Ter as linhas numeradas, com margens amplas e espaçamento duplo por toda parte.
3. Manuscritos deve ser organizado na seguinte ordem: título, nome dos autores, endereço postal completo de filiações, telefone, e-mail, endereço, resumo, palavras-chave, introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusão, agradecimentos, referências, tabelas, figuras.
- 4 . Títulos e subtítulos não deve ser executado dentro do texto, devem ser digitados em uma linha separada, sem recuo. Em letras minúsculas.
5. Usar unidades do Sistema Internacional.

1 Efeito da dieta e resposta imunológica sobre o estabelecimento de *Haemonchus contortus*
2 em cordeiros

3 Palavras chaves: controle de helminto; ovinos; nutrição; imunidade.

4 **RESUMO**

5 Objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da dieta e da imunidade sobre o
6 estabelecimento de *Haemonchus contortus* em cordeiros. O experimento foi delineado
7 em fatorial 2 x 2, duas dietas (feno ou feno+concentrado) e dois estados imunológicos
8 (suprimido ou normal). Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos
9 experimentais (n=7): feno suprimido, feno normal, feno+concentrado suprimido e
10 feno+concentrado normal. O feno utilizado foi de *Cynodon dactylon* (CV coast cross) a
11 vontade e a ração ofertada em quantidade equivalente a 3 % do peso, com reajustes
12 semanais. A imunossupressão foi realizada 4 horas antes da infecção artificial e repetida
13 semanalmente, foi utilizado Metilprednisolona (Solu-medrol, Pfizer) na dose de 1.33
14 mg/kg de peso vivo (intramuscular) O período de adaptação a dieta foi de 22 dias. Cada
15 cordeiro recebeu 4000 larvas infectantes de *H. contortus*. Foram avaliados os padrões
16 hematológicos, desempenho, resposta imunológica semanalmente e realizado contagens
17 de ovos por grama de fezes (OPG) no 21º, 24º e 27º dias após infecção. Aos 28 dias pós
18 infecção os animais foram eutanasiados e os parasitas quantificados e mensurado seu
19 comprimento e quantidade de ovos em seu interior. As médias foram comparadas por
20 análise de variância a 5 % de significância. A carga parasitária foi semelhante em ambos
21 os grupos, no entanto o OPG foi inferior em todas as coletas nos animais que recebiam
22 feno+concentrado ($P < 0,05$). O imunossupressor foi eficiente em reduzir a contagem de
23 IgG plasmático e mastócitos e eosinófilos na mucosa do abomaso, no entanto houve
24 pouco favorecimento ao parasita frente a imunossupressão, que favoreceu apenas no
25 tamanho dos parasitas machos ($P < 0,05$). Maior ganho em peso diário ocorreu nos
26 animais que recebiam concentrado, no entanto os do grupo feno+concentrado normal

27 apresentaram maiores ganhos que o feno+concentrado suprimido ($P < 0,05$). A
28 alimentação com concentrado não exerce efeito direto sobre o estabelecimento de *H.*
29 *contortus*. A suplementação alimentar favorece maior ganho em peso, ameniza os efeitos
30 patogênicos do parasita e conduz a padrões hematológicos normais, com menor
31 eliminação de ovos nas fezes.

32 INTRODUÇÃO

33 O sistema de produção de ovinos apresenta grande importância social e
34 econômica. Os animais tem alta capacidade reprodutiva, além de adaptar-se facilmente a
35 diferentes condições climáticas e ambientais. Embora com amplo potencial de
36 crescimento, no Brasil a ovinocultura fica limitada por deficiente integração na cadeia
37 produtiva e enfermidades clínicas de difícil controle (Padilha et al., 2008; Sorio, 2009).

38 Em todo o mundo, *Haemonchus contortus* é o parasita que causa maiores perdas
39 na produção de ovinos, por ser hematófago e muitas vezes encontrado em grandes
40 quantidades (Achi et al., 2003). A alta prolificidade do parasita, grande variabilidade
41 genética e uso indiscriminado de anti-helmínticos levou a seleção de cepas resistentes aos
42 fármacos utilizados em diversas regiões do mundo, o que tem forçado o desenvolvimento
43 de métodos alternativos para o controle desse helminto (Hoste and Torres-Acosta, 2011;
44 Nagaraj et al., 2012).

45 Métodos alternativos que possam minimizar a utilização de fármacos estão
46 sendo estudados e poderão minimizar a utilização de anti-helmínticos, o que pode retardar
47 o surgimento da resistência e reduzir os resíduos destes em produtos de origem animal.
48 No entanto, há um longo caminho para utilização de tais métodos *in vivo* e a campo (Hoste
49 and Torres-Acosta, 2011; Moreno-Gonzalo et al., 2013).

50 Atualmente pesquisas com vacinas estão sendo desenvolvidas e testadas para
51 utilização em ovinos e bovinos, porém, os resultados ainda são pouco expressivos(
52 LeJambre et al., 2008; Bassetto et al., 2011).

53 Ovinos jovens e fêmeas em periparto apresentam resposta imune ineficiente e
54 são as categorias mais vulneráveis a verminose (Romero and Boero, 2001; Rocha et al.,
55 2004). No entanto, quando nutrição adequada é ofertada aos animais, há maior eficiência
56 da resposta imunológica e a vulnerabilidade é diminuída. Pesquisas demonstram que ao
57 se elevar os níveis de proteína na dieta, os ovinos passam a expressar maior resistência
58 ou resiliência a parasitas gastrintestinais, efeito este decorrente de resposta imunológica
59 mais adequada (Coop and Holmes, 1996; Khan et al., 2012).

60 Louvandini et al. (2006) ao fornecerem alimento concentrado com alto teor de
61 proteína bruta a cordeiros, constataram que estes albergavam carga parasitária duas vezes
62 menor que os animais que receberam baixos teores de proteína. Datta et al. (1998)
63 verificaram menores taxas de ovos por grama de fezes (OPG) em animais suplementados
64 com concentrado contendo 19 e 22 % de proteína bruta (PB) e OPG mais elevados em
65 animais com dietas com 10, 13 e 16 % de PB. Estes pesquisadores sugerem que haja um
66 efeito direto do tipo da dieta sobre as larvas ou sobre a produção de ovos em helmintos
67 adultos.

68 *H. contortus* possui ciclo de vida direto, a forma infectante é a larva em terceiro
69 estágio (L₃), que possui dupla cutícula (bainha). Após ser ingerida a L₃ inicia o
70 desembainhamento ao entrar em contato com o líquido ruminal, o que possibilita sua
71 penetração na mucosa do abomaso (Hertzberg et al., 2002). O tipo de dieta interfere no
72 desembainhamento, que ocorre mais rápido em animais alimentados apenas com capim
73 que em animais com dieta a base de grãos. É provável que o retardo no
74 desembainhamento dificulte ou impeça o estabelecimento do parasita no abomaso
75 (DeRosa et al., 2005).

76 Menores cargas parasitárias em animais alimentados com concentrado nos
77 levaram a formular a hipótese de que menor estabelecimento de *H. contortus* poderia

ocorrer se o ambiente ruminal estiver desfavorável, o que exerceria efeito deletério sobre as larvas, diminuindo seu potencial de infecção. Sabe-se que muitas alterações ocorrem no rúmen em função da proporção volumoso/concentrado ofertado na dieta: ocorre modificação do pH, alterações nas concentrações de ácidos graxos de cadeia curta produzidos, e mudanças na microbiota ruminal (Berchielli et al., 2006). Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da dieta e da imunidade sobre o estabelecimento parasitário de *H. contortus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido de acordo com os princípios éticos da experimentação animal e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) protocolo N°86/2012-CEUA/FMVZ.

Ovinos foram infectados artificialmente aos cinco meses de vida com *H. contortus*, para avaliar o efeito da dieta e da imunidade sobre o estabelecimento do parasita.

Cordeiros machos da raça Suffolk, recém desmamados (três meses de vida) e criados a pasto foram adquiridos em um criatório comercial da região de Botucatu-SP. Os animais foram conduzidos e alocados em baias coletivas, dois por baia, no Laboratório de Helminologia Veterinária do Instituto de Biociência de Botucatu, unidade da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), campus de Botucatu.

Foram necessários quatro protocolos de tratamentos anti-helmínticos para eliminar a infecção natural dos cordeiros, que após o primeiro protocolo continuaram albergando *Strogylodes* sp: Protocolo 1, Monepantel (Zolvix[®], Novartis) na dose de 2,5 mg/kg + Cloridato de Levamisol (Ripercol[®]L, Fort Dodge) na dose de 5 mg/kg; dez dias após foi realizado o protocolo 2, Moxidectina (Cydectin[®], Fort Dodge) na dose de 0,7 mg/kg + Albendazole (Valbazen 10, Pfizer) na dose de 5 mg/kg; protocolo 3, Albendazole (Valbazen 10, Pfizer) na dose de 5 mg/kg por três dias consecutivos e finalmente

protocolo 4, Albendazole (Valbazen 10, Pfizer) na dose de 10 mg/kg + Cloridato de Levamisol (Ripercol[®]L, Fort Dodge) na dose de 10 mg/kg. Ausência de foi confirmada através da técnica de willis e coprocultura (Ueno and Gonçalves, 1998).

Todos os animais foram vacinados contra clostridioses (Sintoxan[®] Polivalente, Merial) conforme recomendação do fabricante e passaram a receber coccidiostático (Deccox[®], Alpharma) na dose de 0,5 mg/kg por dia, além de suplemento mineral (Presencefos[®] ovinos, Presence) e água *ad libitum*.

O delineamento experimental foi conduzido em fatorial 2 x 2, duas dietas (feno ou feno+concentrado) e dois estados imunológicos (suprimido ou normal). Os animais foram distribuídos aleatoriamente, sete animais por grupo, em quatro grupos experimentais: feno suprimido, feno normal, feno+concentrado suprimido e feno+concentrado normal. O peso dos animais no início do período de adaptação e no momento da infecção está expresso na Tabela 1.

Todos os animais receberam feno *Cynodon dactylon* (CV coast cross) a vontade, adicionalmente os animais do grupo concentrado receberam ração comercial (Suplementa Ovinos Campo, Presence). A composição bromatológica dos alimentos ofertados estão descritos na Tabela 2. A ração foi ofertada em quantidade equivalente a 3 % do peso do animal e reajustada semanalmente. O período de adaptação a dieta foi de 22 dias.

A imunossupressão foi realizada 4 horas antes da infecção artificial e repetida semanalmente. Foi utilizado Metilprednisolona (Solu-medrol, Pfizer) na dose de 1.33 mg/kg de peso vivo, administrada por via intramuscular (Greer et al., 2007).

Uma cepa de *H. contortus* resistente a anti-helmínticos (Almeida et al., 2010) que estava criopreservada foi utilizada para infectar duas ovelhas jovens, estas serviram de doadoras para produção de L3, utilizadas na infecção dos animais do experimento.

128 Cada cordeiro recebeu por via oral, aproximadamente 4000 L₃ de *H. contortus*
129 suspensas em água destilada. O momento da infecção foi considerado como momento
130 zero e os dias anteriores a infecção são apresentados com sinal de menos ao lado.

131 Semanalmente foram avaliados os pesos dos animais e coletado sangue através
132 de flebocentese da jugular para determinação de volume globular (VG) e proteína
133 plasmática total (PPT). Após esse processo, o plasma das amostras foi mantido congelado
134 à -20 °C para posterior Ensaio de Imunoadsorção Enzimática (ELISA). Amostras de fezes
135 foram coletadas no 21º, 24º e 27º dia após infecção, para realização de contagem de ovos
136 por grama de fezes conforme descrito por Ueno and Gonçalves, (1998), com fator de
137 multiplicação de 100 para cada ovo visualizado.

138 Os animais foram eutanasiados 28 dias após a infecção. O abomaso foi aberto
139 ao longo da curvatura maior e os parasitas coletados da luz do abomaso, aferido o peso
140 do abomaso e então recuperado os parasitas imaturos (Ueno and Gonçalves, 1998). O
141 conteúdo do abomaso foi fixado em formol aldeído a 5 % e o número total de helmintos
142 estimado a partir de uma alíquota de 10 % do conteúdo do abomaso.

143 O conteúdo ruminal foi coletado em tubos de 50 mL, centrifugado a 1500 RPM
144 por 15 minutos e aferido o pH. Uma alíquota de 1200 µL do sobrenadante do líquido
145 ruminal foi adicionada a um tubo de micro ensaio contendo 300 µL de ácido
146 metafosfórico a 25 % e armazenado sob refrigeração, a -20°C até o processamento. Os
147 ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) foram quantificados através de cromatografia
148 gasosa, com algumas modificações na metodologia de Palmquist and Conrad (1971) e
149 Nocek et al. (1987) conforme descrito a seguir: a temperatura de 115°C foi mantida por
150 3,20 min, 123 °C mantida por 1,25 minutos e 126 °C mantida por 5,00 minutos. Após
151 centrifugação do fluido ruminal (11.000 rpm por 30 minutos a 4 °C), foram coletados 800
152 µL do sobrenadante e adicionado 100 µL de ácido 2-etil-butírico (padrão interno) e 200

153 μL de ácido fórmico PA. Da mesma maneira, foi preparada a solução de padrão externo
154 contendo concentrações conhecidas de cada AGCC (ácido acético, propiônico,
155 isobutírico, butírico, isovalérico e valérico) para calibração do integrador. Um microlitro
156 desta amostra foi injetada em cromatógrafo a gás Shimadzu 2014 acoplado a um detector
157 de Ionização de Chama (FID), com uma coluna GP 10 % SP-1200/1 H₃PO₄ 80/100
158 Chromosorb WAW.

159 O comprimento de dez parasitas machos e dez fêmeas de cada animal foram
160 colhidos aleatoriamente, a média dos parasitas de cada animal foi utilizada para análise
161 estatística. Cinco parasitas fêmeas de *H. contortus* de cada animal foram maceradas
162 quimicamente para quantificação dos ovos no útero. Com os parasitas no interior de um
163 microtubo de 1.5 mL foi adicionado 950 μL de hipoclorito de sódio a 0,25 % de cloro
164 ativo. O conteúdo foi agitado em vórtex a cada dois minutos até que não fosse possível
165 visualização de partes do parasita, adaptado de Kloosterman et al. (1978). Nesse momento
166 adicionou-se 50 μL tiosulfato de sódio a 1 % (anticloro) para evitar que os ovos
167 continuassem a ser degradados. Os ovos foram contados em dez alíquotas de dez
168 microlitros cada, e então estimado o número de ovos por fêmea.

169 Após a lavagem o abomaso foi pesado e amostras de tecidos foram retiradas de
170 duas regiões anatômicas (região fúndica e pilórica), fixadas em formol tamponado
171 comercial a 10 % durante 48 horas. As amostras foram desidratadas em álcool a 70 %,
172 acondicionadas em cassetes para cortes histológicos e embebidos em cera de parafina.
173 Seções de 4 μm de espessura foram corados com azul de toluidina a 1 % ou hematoxilina
174 e eosina.

175 Os mastócitos foram quantificados nos cortes corados em azul de toluidina e os
176 eosinófilos em hematoxilina e eosina e as células quantificadas através de visualização
177 em microscópio óptico. A área do campo de observação no microscópio foi calculada

178 através de lamina micrométrica e o número de células visualizadas transformado para
179 células por milímetro quadrado. As células foram quantificadas em 30 campos.

180 Placas de Poliestireno para micro-titulação (F96 Microplaca - Maxisorp[®] -
181 NUNC, EUA) foram sensibilizadas com 100 µL por poço, com antígenos totais do plasma
182 sanguíneo (5 µg / mL) diluído em tampão de bicarbonato-fosfato (pH 9,6). As placas
183 foram incubadas *overnight* a 4 °C e todas as incubações subsequentes foram de 1 hora a
184 37 °C, após adicionar 100 µL de reagente.

185 As lavagens foram realizadas seis vezes com água ultra-pura (II EASYpure UV,
186 Barnstead, EUA) contendo 0,05 % de Tween 20 (ProPure[®] - Amresco).

187 Após a sensibilização, foi efetuado o bloqueio com 0,1 % de gelatina (Amresco,
188 EUA) e 0,05 % de Tween 20 (ProPure[®] - Amresco) em PBS pH 7,2 (PBS-GT). As
189 amostras de soro foram diluídas em PBS-GT (1:500) e aplicados em duplicata. As placas
190 foram então incubadas com conjugado de peroxidase de coelho anti-IgG ovino diluído a
191 1:10.000 (A130-101P, Bethyl Laboratories, Inc., EUA).

192 A solução de substrato de OPD (dicloridrato de 1,2-fenilenodiamina, Dako,
193 Dinamarca), foi adicionada a cada poço e a reação enzimática prosseguiu à temperatura
194 ambiente no escuro durante 15 minutos, sendo interrompida com uma solução de ácido
195 sulfúrico a 5 %.

196 A leitura das placas ocorreu imediatamente após o bloqueio, utilizando um leitor
197 de ELISA automático (Biotrak II, Amersham-Biosciences, UK) a 492 nm.

198 O soro padrão positivo para *H. contortus* foi obtido de uma ovelha com várias
199 reinfecções por estes nematódeos e o controle negativo foi proveniente de animais jovens
200 sem exposição a helmintos, mantidos estabulados.

201 Os dados foram submetidos a testes de normalidade e similaridade de variância.
202 Dados referente à contagens de OPG, mastócitos e eosinófilos foram previamente

transformados ($\log_{10}(x+1)$). As médias dos grupos foram comparadas por análise de variância. Medidas repetidas foi utilizado para determina efeito do tempo na contagem de OPG, VG e PPT. Diferenças entre os grupos foram determinados pelo teste de Tukey a 5 % de significância.

RESULTADOS

Parasitologia

Na contagem de OPG não houve interação tempo x dieta x imunidade ($P > 0,05$) ou tempo x imunidade ($P > 0,05$). No entanto, houve interação tempo x dieta ($P < 0,05$); as contagens de OPG apresentaram níveis crescentes ao longo do tempo, porém o crescimento foi menos expressivo na dieta feno+concentrado (Figura 1). Os animais alimentados apenas com feno eliminaram em média 3,2 vezes mais ovos que os animais alimentados com feno+concentrado.

Não houve influência significativa da dieta ou imunidade sobre a carga parasitária ou interação dieta x imunidade ($P > 0,05$). As médias de carga parasitária, comprimento dos parasitas machos e fêmeas, bem como a quantidade de ovos recuperados por fêmea são mostrados na Tabela 3

Alterações no comprimento dos parasitas machos ocorreu em função da dieta ($P < 0,001$) e da imunidade ($P < 0,02$) mas não houve interação entre esses fatores. Os animais suprimidos e os que receberam apenas feno apresentaram machos de menor comprimento ($P < 0,05$). O comprimento das fêmeas ($P = 0,001$), bem como a quantidade de ovos por fêmea ($P < 0,05$), foi afetada apenas pela dieta: as fêmeas oriundas dos cordeiros alimentado apenas com feno eram maiores e apresentavam maior quantidade de ovos, ou seja, eram mais prolíficas.

Na Tabela 4 estão expressos os valores médios da densidade óptica para pesquisa de IgG sérica anti-*H. contortus* e de mastócitos e eosinófilos na mucosa do abomaso.

228 Efeito da dieta ($P < 0,02$) e da imunidade ($P < 0,03$) foram verificados sobre a produção
229 de anticorpos, com maiores valores na dieta feno+concentrado e no animais com
230 imunidade normal. Quanto as células da mucosa do abomaso, não houve interação dieta
231 x imunidade em nenhuma das contagens. Houve efeito da dieta ($P < 0,05$) sobre os
232 mastócitos na região fundica e pilórica do abomaso, com maior número de células no
233 grupo feno+concentrado e influência da imunidade ($P < 0,05$), com menores valores em
234 animais suprimidos. Os eosinófilos em ambas as regiões anatômicas do abomaso foram
235 influenciados pela imunidade ($P < 0,05$) e a dieta teve influência apenas na região pilórica.

236 Desempenho e hematologia

237 Ocorreu interação significativa dieta x imunidade para o ganho em peso diário
238 (GPD) ($P < 0,05$). Animais do grupo feno+concentrado normal tiveram maior ganho em
239 peso diário que o grupo feno+concentrado suprimido. Ambos os grupos que receberam
240 apenas feno tinham significativamente menor GPD que os grupos alimentados com
241 concentrado (Figura 2).

242 Não houve efeito da imunidade nos valores de VG em nenhuma ocasião ($P >$
243 $0,05$). Por outro lado, a dieta teve influência significativa ($P < 0,05$) da terceira coleta (14
244 dias pós infecção) até o final do experimento, quando os animais que receberam apenas
245 feno apresentaram médias inferiores (Figura 3). Em relação a essa variável, houve
246 interação significativa entre tempo x dieta ($P < 0,001$).

247 Influência da imunidade nos valores de PPT foi verificada em todas as coletas
248 de D0 a D28 ($P < 0,05$), animais suprimidos apresentavam médias superiores. A dieta teve
249 influência significativa ($P < 0,05$) da terceira coleta (14 dias pós infecção) até o final do
250 experimento, quando os animais que receberam feno+concentrado apresentaram médias
251 superiores (Figura 4). Ocorreu interação significativa dieta x imunidade ($P < 0,05$) nas

coletas do D7 ao D28 e ainda interação tempo x dieta ($P < 0,0001$) com decréscimo nos animais alimentados com feno, mas não houve interação tempo x imunidade ($P > 0,05$).

Alguns animais apresentaram quadro de anemia no dia 28 pós infecção ($VG \leq 24\%$ e $PPT \leq 6$ g/dL). Sendo 3 animais no grupo feno normal, VG de 23, 20, 21 % e PPT de 5,6, 5,6, 4,8 g/dL; 2 no grupo feno suprimido, VG 24, 21 % e PPT de 5,4, 5,6 g/dL; e por fim, 2 no grupo feno+concentrado normal 23 e 24 % e 5,4 e 5,2 g/dL, respectivamente.

Interação dieta x imunidade não foi verificado para o peso do abomaso vazio, no entanto houve influência da dieta ($P < 0,001$), animais alimentados com feno+concentrado apresentaram abomasos mais pesados que os alimentados com feno (Tabela 5).

Na Tabela 6 estão expressos pH ruminal e concentrações de seus principais ácidos graxos de cadeia curta. Houve interação dieta x imunidade ($P < 0,05$) no pH e concentração de propionato. A dieta influenciou nas médias de pH ($P < 0,001$), acetato ($P < 0,05$), propionato ($P < 0,001$) e butirato ($P < 0,001$), enquanto que imunidade teve influência somente sobre a concentração de propionato ($P < 0,05$).

DISCUSSÃO

As alterações no ambiente ruminal decorrente de suplementação com concentrado não prejudicou o estabelecimento de *H. contortus* pois o número de parasitas recuperados do abomaso foram semelhantes em ambos os grupos, derrubando nossa hipótese que as alterações no rúmen decorrentes desse tipo de alimentação seriam suficientes para causar danos diretos sobre as larvas infectantes e por consequência reduzir o estabelecimento.

As menores contagens de OPG verificadas quando ofertado concentrado evidenciam a vantagem da suplementação alimentar para auxílio do controle do parasita. A campo, grande quantidade de ovos são eliminados nas pastagens diariamente, se a dispersão de ovos for diminuída irá reduzir a reinfecção.

278 Louvandini et al. (2006) também verificaram efeito benéfico de redução no OPG
279 suplementando animais a pasto com 19 % PB, no entanto os benefícios foram mais
280 evidentes no período seco, época em que há redução da imunidade em decorrência da
281 baixa quantidade e qualidade da forragem. E ainda, no período chuvoso foi constada
282 maior capacidade dos animais em expressar resistência ou resiliência em função da
283 suplementação com 500 g/animal/dia, reduzindo a necessidade de tratamento com anti-
284 helmínticos.

285 De um ponto de vista epidemiológico, as vantagens na redução do OPG são
286 pouco evidentes a curto prazo, mas os benefícios acumulam-se, sendo essencial quando
287 se deseja um controle ao longo do tempo, revisado por Saddiqi et al. (2011). Nossos
288 resultados evidenciam redução na contagem de OPG, no entanto a quantidade de
289 concentrado oferecido neste experimento foi elevada, o que pode não ser viável
290 economicamente para o produtor.

291 Muitas alternativas tem surgido a fim de diminuir os custos com alimentação.
292 Uma dessas alternativas é a utilização de proteínas não degradáveis, que reduzem
293 significativamente o custo, e mantém um desempenho ponderal satisfatório (Rogério et
294 al., 2012). Desta maneira, a nutrição se destaca como alternativa para controle das
295 helmintoses, minimizando o surgimento de resistência anti-helmíntica e resíduos destes
296 na carne.

297 Lacroux et al. (2006) encontraram redução no desenvolvimento de *H. contortus*
298 e fecundidade das fêmeas em cordeiros infectados, tratados com anti-helmíntico e depois
299 desafiados, quanto a mobilização de mecanismos efetores da resposta Th2 são mais fortes
300 e mais rápidos. Nos animais desafiados a infiltração de mastócitos e eosinófilos ocorreu
301 três dias pós reinfecção, enquanto que na infecção primária, a infiltração foi observada
302 15 dias pós infecção. Aos 28 dias a infiltração de mastócitos e eosinófilos foram similares

303 nos animais nos grupos desafiado e infecção primária. Neste experimento, maior
304 produção de IgG, mastócitos e eosinófilos ocorreu em animais alimentados com
305 feno+concentrado, o que provavelmente resultou em menores comprimentos dos
306 parasitas em função da resposta imune. Nos animais alimentados com feno não houve
307 resposta imunológica suficiente para interferir no comprimento dos parasitas.

308 Estudos demonstraram que a eliminação do parasita está associada ao número
309 de mastócitos e eosinófilos na mucosa e que quanto mais exposto ao parasita, maior o
310 potencial de expressão da imunidade (Balic et al., 2000; Kemp et al., 2009). Maior
311 resposta imunológica foi verificada no grupo feno+concentrado, no entanto flutuações no
312 número de células ocorreram entre as região fúndica e pilórica do abomaso. Strain and
313 Stear (2001) e Muñoz-Guzmán et al. (2012) demonstram que a produção de anticorpos e
314 células do sistema imune são maiores em animais que recebem alimentação com
315 concentrado, mas que a distribuição dessas células nas diferentes regiões do abomaso não
316 é homogênea.

317 Foi demonstrado em ratos que a transferência passiva de anticorpos pode reduzir
318 o comprimento e fecundidade de helmintos, embora a carga parasitária seja pouco
319 alterada, da mesma maneira que ratos deficientes em células B são mais susceptíveis a
320 infecção. O papel dos anticorpos na redução da fecundidade dos parasitas continua
321 obscuro, mas é fato que estes limitam a produção de ovos sem remover os adultos e em
322 alguns casos a redução no número de ovos precede a eliminação do parasita adulto
323 (revisado por Maizels et al., 2012)

324 A resposta imunológica de animais resistentes exige maior deslocamento de
325 nutrientes para a imunidade, enquanto que animais que não expressam adequadamente a
326 imunidade, perdem nutrientes em função da espoliação causada pelo parasitismo (Doyle
327 et al., 2011).

328 Como os animais utilizados no experimento tiveram contato com nematódeos
329 gastrintestinais antes de serem adquiridos para o experimento, possivelmente já
330 expressavam alguma imunidade, o que contribuiu para a maior e mais rápida expressão
331 da imunidade naqueles com maior suporte nutricional. É provável que os níveis
332 nutricionais adequados no momento da infecção tenha dado suporte ao animal para
333 expressar a resposta imune adquirida mais rapidamente e de maneira mais eficaz nos
334 animais feno+concentrado normal, que embora insuficiente para evitar o estabelecimento,
335 resultou em parasita machos e fêmeas de menor tamanho, menor quantidade de ovos no
336 interior das fêmeas e baixas contagens de OPG, o que reduz os efeitos patogênicos
337 causados pelo parasitismo permitindo maior ganho em peso diário.

338 Embora o efeito do imunossupressor seja claro em reduzir o número de
339 mastócitos e eosinófilos na mucosa do abomaso e produção de anticorpos, a supressão
340 dessas resposta parece ter sido pouco evidente em causar alterações sobre a biologia e
341 morfologia dos parasitas, pois apenas o comprimento do parasita macho foi afetado pela
342 imunidade. A quantidade de ovos por fêmea não foi afetado pela imunossupressão, mas
343 animais de imunidade normal tiveram menor quantidade de ovos. É provável que a
344 diferença na quantidade de ovos seja mais evidente e benéfica quando se objetiva o
345 controle do parasita e é avaliado a produção diária de ovos, que não foi mensurada neste
346 trabalho.

347 Animais alimentados com concentrado tinham valores de VG e PPT dentro da
348 normalidade, porém no feno+concentrado suprimido o PPT foi mais elevado que nos
349 demais grupos, porém com resposta imunológica semelhante ao grupo feno. A reposição
350 de células e proteínas do sistema imune tem um custo elevado para o animal (Greer,
351 2008). Sob níveis nutricionais baixos os animais não conseguem reestabelecer os padrões
352 hematológicos, o que resulta em anemia que pode ser fatal (Miller and Horohov, 2006).

353 Infecções por *H. contortus* além de causar redução no apetite, elevam os
354 requisitos mínimos de aminoácidos, ou seja, os animais tem maior necessidades de
355 proteína (Rowe et al., 1988). Datta et al. (1998) verificaram maior capacidade dos animais
356 em resistir aos efeitos adversos da infecção por *H. contortus*, com padrões hematológicos
357 dentro da normalidade e maior ganho em peso em cordeiros recebendo concentrado com
358 19 ou 22 % de PB.

359 Embora infecções causadas por *Haemonchus* sejam descritas como depressoras
360 do apetite, com redução da ingestão de matéria seca (Datta et al., 1998), e
361 metilprednisolona ser apontada como capaz de contrabalancear a redução de ingestão
362 causada por *Teladorsagia circumcincta* (Greer et al., 2008), o grupo feno+concentrado
363 normal ganhou mais peso que o feno+concentrado suprimido. Provavelmente a redução
364 de apetite seja menos evidente quando a dieta da aporte a maior imunidade, o que reduz
365 o tamanho do parasita e seu efeito patogênico, no entanto, a ingestão voluntária de
366 alimento não foi mensurada nesse experimento.

367 Assim como nesse estudo, Scott et al. (1998) encontraram abomasos mais
368 pesados em animais alimentados com concentrado, estes atribuem esse fato a hiperplasia
369 das células da mucosa do abomaso, o que poderia permitir a manutenção de níveis de
370 pepsinogênio na tentativa de maior aproveitamento das proteínas e consequentemente,
371 maior ganho em peso diário.

372 O pH ruminal e concentrações dos ácidos graxos de cadeia curta se mantiveram
373 dentro dos padrões de normalidade da espécie e dietas ofertadas (Kleen et al., 2003). No
374 entanto, a imunossupressão levou a níveis de pH e propionato mais baixos, sendo
375 semelhantes nos grupos feno+concentrado suprimido e feno suprimido, mais uma vez o
376 mecanismos que conduziram a esse fato seria melhor elucidado avaliando a ingestão
377 diária.

O maior ganho em peso é uma medida almejada por ovinocultores, as vantagens da suplementação alimentar como medida de controle do parasitismo é outro grande trunfo da suplementação. Se a alternativa de suplementação for utilizada a campo e de maneira racional, é possível obter maior ganho em peso, amenizar os efeitos patogênicos do parasita, reduzir a contaminação das pastagens e até mesmo diminuir o número de tratamentos com anti-helmíntico, o que reduz a pressão de seleção a parasitas resistentes. No entanto, mais pesquisas são necessárias para identificação do ponto de equilíbrio entre a quantidade de concentrado fornecido, menor eliminação de ovos dos parasitas, produtividade e viabilidade econômica.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a assistência laboratorial de César Cristiano Bassetto, Michelle Cardoso dos Santos, Maurício Orlando Wilmsen, Lucca Baptistella de Napoli, Maria Regina Lucas da Silva e ao Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Energia Nuclear na Agricultura / Universidade de São Paulo (USP) pelo processamento do líquido ruminal.

Agradecemos a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida ao primeiro e segundo autor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Achi, Y.L., Zinsstag, J., Yao, K., Yeo, N., Dorchies, P., Jacquiet, P., 2003. Host specificity of *Haemonchus* spp. for domestic ruminants in the savanna in northern Ivory Coast. *Vet. Parasitol.* 116, 151–158.
- Almeida, F.A., Garcia, K.C.O.D., Torgerson, P.R., Amarante, A.F.T., 2010. Multiple resistance to anthelmintics by *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in sheep in Brazil. *Parasitol. Int.* 59, 622–5.
- Balic, A., Bowles, V.M., Meeusen, E.N., 2000. The immunobiology of gastrointestinal nematode infections in ruminants. *Adv. Parasitol.* 45, 181–241.

- 404 Bassetto, C.C., Silva, B.F., Newlands, G.F.J., Smith, W.D., Amarante, A.F.T., 2011.
 405 Protection of calves against *Haemonchus placei* and *Haemonchus contortus* after
 406 immunization with gut membrane proteins from *H. contortus*. *Parasite Immunol.* 33, 377–
 407 81.
- 408 Berchielli, T.T., Pires, A.V., Oliveira, S.G., 2006. *Nutrição de ruminantes*, 1st ed. Funep,
 409 Jaboticabal, São Paulo.
- 410 Coop, R.L., Holmes, P.H., 1996. Nutrition and parasite interaction. *Vet. Parasitol.* 26,
 411 951–962.
- 412 Datta, F.U., Nolan, J., Rowe, J.B., Gray, G.D., 1998. Protein supplementation improves
 413 the performance of parasitised sheep fed a straw-based diet. *Int. J. Parasitol.* 28, 1269–
 414 1278.
- 415 DeRosa, A.A., Chirgwin, S.R., Fletcher, J., Williams, J.C., Klei, T.R., 2005.
 416 Exsheathment of *Ostertagia ostertagi* infective larvae following exposure to bovine
 417 rumen contents derived from low and high roughage diets. *Vet. Parasitol.* 129, 77–81.
- 418 Doyle, E.K., Kahn, L.P., McClure, S.J., Lea, J.M., 2011. Voluntary feed intake and diet
 419 selection of Merino sheep divergently selected for genetic difference in resistance to
 420 *Haemonchus contortus*. *Vet. Parasitol.* 177, 316–23.
- 421 Greer, A.W., 2008. Trade-offs and benefits: implications of promoting a strong immunity
 422 to gastrointestinal parasites in sheep. *Parasite Immunol.* 30, 123–32.
- 423 Greer, A.W., Huntley, J.F., Mackellar, A., McAnulty, R.W., Jay, N.P., Green, R.S.,
 424 Stankiewicz, M., Sykes, A.R., 2008. The effect of corticosteroid treatment on local
 425 immune responses, intake and performance in lambs infected with *Teladorsagia*
 426 *circumcincta*. *Int. J. Parasitol.* 38, 1717–28.
- 427 Greer, A.W., Stankiewicz, M., Jay, N.P., McAnulty, R.W., Sykes, A.R., 2007. The effect
 428 of concurrent corticosteroid induced immuno-suppression and infection with the
 429 intestinal parasite *Trichostrongylus colubriformis* on food intake and utilization in both
 430 immunologically naïve and competent sheep. *Anim. Sci.* 80, 89–99.
- 431 Hertzberg, H., Huwyler, U., Kohler, L., Rehbein, S., Wanner, M., 2002. Kinetics of
 432 exsheathment of infective ovine and bovine strongylid larvae in vivo and in vitro.
 433 *Parasitology* 125, 65–70.
- 434 Hoste, H., Torres-Acosta, J.F.J., 2011. Non chemical control of helminths in ruminants:
 435 adapting solutions for changing worms in a changing world. *Vet. Parasitol.* 180, 144–54.
- 436 Kemp, J.M., Robinson, N. a, Meeusen, E.N.T., Piedrafita, D.M., 2009. The relationship
 437 between the rapid rejection of *Haemonchus contortus* larvae with cells and mediators in
 438 abomasal tissues in immune sheep. *Int. J. Parasitol.* 39, 1589–94.
- 439 Khan, F.A., Sahoo, A., Sonawane, G.G., Karim, S.A., Dhakad, S., Pareek, A.K., Tripathi,
 440 B.N., 2012. Effect of dietary protein on responses of lambs to repeated *Haemonchus*
 441 *contortus* infection. *Livest. Sci.* 150, 143–151.

- 442 Kleen, J.L., Hooijer, G. a, Rehage, J., Noordhuizen, J.P.T.M., 2003. Subacute ruminal
443 acidosis (SARA): a review. J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med. 50, 406–14.
- 444 Kloosterman, A., Albers, G., Brink, R. Van den, 1978. Genetic variation among calves in
445 resistance to nematode parasites. Vet. Parasitol. 4, 353–368.
- 446 Lacroux, C., Nguyen, T.H.C., Andreoletti, O., Prevot, F., Grisez, C., Bergeaud, J.-P.,
447 Gruner, L., Brunel, J.-C., Francois, D., Dorchies, P., Jacquiet, P., 2006. *Haemonchus*
448 *contortus* (Nematoda: Trichostrongylidae) infection in lambs elicits an unequivocal Th2
449 immune response. Vet. Res. 37, 607–22.
- 450 LeJambre, L.F., Windon, R.G., Smith, W.D., 2008. Vaccination against *Haemonchus*
451 *contortus*: performance of native parasite gut membrane glycoproteins in Merino lambs
452 grazing contaminated pasture. Vet. Parasitol. 153, 302–12.
- 453 Louvandini, H., Veloso, C.F.M., Paludo, G.R., Dell’Porto, A., Gennari, S.M., McManus,
454 C.M., 2006. Influence of protein supplementation on the resistance and resilience on
455 young hair sheep naturally infected with gastrointestinal nematodes during rainy and dry
456 seasons. Vet. Parasitol. 137, 103–11.
- 457 Maizels, R.M., Hewitson, J.P., Murray, J., Harcus, Y.M., Dayer, B., Filbey, K.J.,
458 Grainger, J.R., McSorley, H.J., Reynolds, L.A., Smith, K.A., 2012. Immune modulation
459 and modulators in *Heligmosomoides polygyrus* infection. Exp. Parasitol. 132, 76–89.
- 460 Miller, J.E., Horohov, D.W., 2006. Immunological aspects of nematode parasite control
461 in sheep. J. Anim. Sci. 84 Suppl, E124–32.
- 462 Moreno-Gonzalo, J., Manolaraki, F., Frutos, P., Hervás, G., Celaya, R., Osoro, K.,
463 Ortega-Mora, L.M., Hoste, H., Ferre, I., 2013. In vitro effect of heather (Ericaceae)
464 extracts on different development stages of *Teladorsagia circumcincta* and *Haemonchus*
465 *contortus*. Vet. Parasitol. 197, 235–43.
- 466 Muñoz-Guzmán, M.A., Cuenca-Verde, C., Valdivia-Anda, G., Cuéllar-Ordaz, J.A., Alba-
467 Hurtado, F., Mu, M.A., 2012. Differential immune response between fundic and pyloric
468 abomasal regions upon experimental ovine infection with *Haemonchus contortus*. Vet.
469 Parasitol. 185, 175–80.
- 470 Nagaraj, S.H., Harsha, H.C., Reverter, A., Colgrave, M.L., Sharma, R., Andronicos, N.,
471 Hunt, P., Menzies, M., Lees, M.S., Sekhar, N.R., Pandey, A., Ingham, A., 2012.
472 Proteomic analysis of the abomasal mucosal response following infection by the
473 nematode, *Haemonchus contortus*, in genetically resistant and susceptible sheep. J.
474 Proteomics 75, 2141–2152.
- 475 Nocek, J.E., Hart, S.P., Polan, C.E., 1987. Rumen Ammonia Concentration as Influenced
476 by Storage Time, Freezing and Thawing, Acid Preservative, and Method of Ammonia
477 Determination. J. Dairy Sci. 70, 601–607.
- 478 Padilha, A.C.M., Mattos, P., Silva, T.N., Sluszz, T., 2008. A reestruturação do
479 agronegócio da ovinocultura no Estado do Rio Grande do Sul: uma análise na perspectiva
480 da competitividade. Rev. Estud. Adm. 8, 145–164.

- 481 Palmquist, D.L., Conrad, H.R., 1971. Origin of plasma fatty acids in lactating cows fed
482 high grain or high fat diets. J. Dairy Sci. 54, 1025–33.
- 483 Rocha, R.A., Amarante, A.F.T., Bricarello, P.A., 2004. Comparison of the susceptibility
484 of Santa Inês and Ile de France ewes to nematode parasitism around parturition and during
485 lactation. Small Rumin. Res. 55, 65–75.
- 486 Rogério, M.C.P., Castro, E.M., Martins, E.C., Monteiro, J.P., Silva, K.D.M., Cândido,
487 M.J.D., Gomes, T.C.L., Bloc, A.F.R., Vasconcelos, A.M., Leite, E.R., Costa, H.H.A.,
488 2012. Economical and financial analysis of lamb finishing fed with diets formulated
489 according to the NRC (1985) and the NRC (2007). Trop. Anim. Health Prod. 45, 259–66.
- 490 Romero, J.R., Boero, C.A., 2001. Epidemiología de la gastroenteritis verminosa de los
491 ovinos en las regiones templadas y cálidas de la Argentina. Analecta Vet. 147, 21–37.
- 492 Rowe, J.B., Nolan, J. V, de Chaneet, G., Teleni, E., Holmes, P.H., 1988. The effect of
493 haemonchosis and blood loss into the abomasum on digestion in sheep. Br. J. Nutr. 59,
494 125–39.
- 495 Saddiqi, H.A., Jabbar, A., Sarwar, M., Iqbal, Z., Muhammad, G., Nisa, M., Shahzad, A.,
496 2011. Small ruminant resistance against gastrointestinal nematodes: a case of
497 *Haemonchus contortus*. Parasitol. Res. 109, 1483–500.
- 498 Scott, I., Stear, M.J., Irvine, J., Dick, A., Wallace, D.S., McKellar, Q.A., 1998. Changes
499 in the zymogenic cell populations of the abomasa of sheep infected with *Haemonchus*
500 *contortus*. Parasitology 116 (Pt 6, 569–77.
- 501 Sorio, A., 2009. Sistema agroindustrial da carne ovina: o exemplo de Mato Grosso do
502 Sul, 1st ed. Passo Fundo.
- 503 Strain, S. a, Stear, M.J., 2001. The influence of protein supplementation on the immune
504 response to *Haemonchus contortus*. Parasite Immunol. 23, 527–31.
- 505 Ueno, H., Gonçalves, P.C., 1998. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminante,
506 4th ed. Japan International Cooperation Agency.

507 Tabela 1: Média ($\pm$ erro padrão) de peso vivo no início da adaptação 22 dias antes da
 508 infecção (d - 22), dia da infecção (d 0) e dia da eutanásia (d 28) de cordeiros infectados
 509 artificialmente com 4000 L3 de *Haemonchus contortus*. Os animais foram distribuídos
 510 em quatro grupos (n = 7): animais com dieta a base de feno (feno) ou com adicional
 511 de concentrado (3 % peso vivo diário) (concentrado) e imunidade normal (normal) ou
 512 imunossuprimido com metilprednisolona semanalmente (suprimido).

Peso vivo (kg)	Dieta	Imunidade		Média geral
		Normal	Suprimido	
Adaptação (d -22)	Feno	22,40 $\pm$ 0,95 ^{Aa}	21,49 $\pm$ 1,05 ^{Aa}	21,94 $\pm$ 0,69a
	Concentrado	22,99 $\pm$ 0,60 ^{Aa}	23,04 $\pm$ 0,81 ^{Aa}	23,01 $\pm$ 0,48a
	Média geral	22,69 $\pm$ 0,54A	22,26 $\pm$ 0,67A	
	Interação dieta*imunidade: F = 0,31; P = 0,581			
Infecção (d 0)	Feno	21,47 $\pm$ 0,77 ^{Ab}	20,97 $\pm$ 1,45 ^{Aa}	21,22 $\pm$ 0,79b
	Concentrado	26,10 $\pm$ 0,7 ^{Aa}	24,97 $\pm$ 1,25 ^{Aa}	25,54 $\pm$ 0,7a
	Média geral	23,79 $\pm$ 0,81A	22,97 $\pm$ 1,07A	
	Interação dieta*imunidade: F = 0,08; P = 0,775			
Eutanásia (d 28)	Feno	24,33 $\pm$ 1,05 ^{Ab}	24,20 $\pm$ 1,20 ^{Ab}	24,26 $\pm$ 0,76b
	Concentrado	33,61 $\pm$ 0,82 ^{Aa}	30,81 $\pm$ 1,13 ^{Aa}	32,21 $\pm$ 0,77a
	Média geral	28,97 $\pm$ 1,44A	27,5 $\pm$ 1,21A	
	Interação dieta*imunidade: F = 1,59; P = 0,22			

513 Para cada peso vivo letras diferentes em maiúsculo indicam diferença estatística entre
 514 linha (P < 0,05), letras diferentes minúsculo indicam diferença estatística na coluna (P <
 515 0,05) para média geral, da mesma maneira que as letras sobrescritas indicam as diferenças
 516 comparando os grupos experimentais na linha (maiúsculo) e na coluna (minúsculo) (P <
 517 0,05).

518 Tabela 2: Composição bromatológica dos alimentos utilizados.

	Feno	Concentrado
Matéria seca	88,0	89,2
Proteína Bruta	8,2	17,1
Fibra bruta	31,32	11,5
Fibra em detergente neutro	77,3	32,0
Fibra em detergente ácido	37,3	13,6
Extrato etéreo	-	7,6

519

520 Tabela 3: Média ($\pm$ erro padrão) de carga parasitária, comprimento de machos (mm),
 521 fêmeas (mm) e ovos por fêmea parasitando cordeiros infectados artificialmente com
 522 4000 L3 de *Haemonchus contortus*. Os animais foram distribuídos em quatro grupos
 523 (n = 7): animais com dieta a base de feno (feno) ou com adicional de concentrado (3
 524 % peso vivo diário) (concentrado) e imunidade normal (normal) ou imunossuprimido
 525 com metilprednisolona semanalmente (suprimido).

Variável	Dieta	Imunidade		Média geral
		Normal	Suprimido	
Carga parasitária	Feno	1084 $\pm$ 102 ^{Aa}	1001 $\pm$ 153 ^{Aa}	1042 $\pm$ 89a
	Concentrado	1051 $\pm$ 105 ^{Aa}	957 $\pm$ 126 ^{Aa}	1004 $\pm$ 80a
	Média geral	1068 $\pm$ 70A	979 $\pm$ 95A	
	Interação dieta*imunidade: F = 0,00; P = 0,966			
Comprimento machos (mm)	Feno	14,00 $\pm$ 0,14 ^{Ab}	14,34 $\pm$ 0,19 ^{Aa}	14,17 $\pm$ 0,12 b
	Concentrado	12,08 $\pm$ 0,45 ^{Aa}	13,34 $\pm$ 0,32 ^{Ba}	12,71 $\pm$ 0,35a
	Média geral	13,04 $\pm$ 0,35B	13,84 $\pm$ 0,23A	
	Interação dieta*imunidade: F = 2,35; P = 0,138			
Comprimento fêmeas (mm)	Feno	21,29 $\pm$ 0,30 ^{Aa}	21,54 $\pm$ 0,32 ^{Aa}	21,41 $\pm$ 0,22a
	Concentrado	18,36 $\pm$ 1,01 ^{Ab}	19,39 $\pm$ 0,64 ^{Aa}	18,87 $\pm$ 0,60b
	Média geral	19,82 $\pm$ 0,65A	20,46 $\pm$ 0,45A	
	Interação dieta*imunidade: F = 0,39; P = 0,539			
Ovos por fêmea	Feno	852 $\pm$ 73 ^{Aa}	955 $\pm$ 67 ^{Aa}	903 $\pm$ 50a
	Concentrado	686 $\pm$ 111 ^{Aa}	725 $\pm$ 91 ^{Aa}	706 $\pm$ 69b
	Média geral	769 $\pm$ 68A	840 $\pm$ 63A	
	Interação dieta*imunidade: F = 0,13; P = 0,717			

526 Para cada variável letras diferentes em maiúsculo indicam diferença estatística entre linha
 527 (P < 0,05), letras diferentes minúsculo indicam diferença estatística na coluna (P < 0,05)
 528 para média geral, da mesma maneira que as letras sobrescritas indicam as diferenças
 529 comparando os grupos experimentais na linha (maiúsculo) e na coluna (minúsculo) (P <
 530 0,05).

Tabela 4: Média ($\pm$ erro padrão) de IgG sérico, mastócitos região fundica, mastócitos região pilórica, eosinófilos região fundica e eosinófilos região pilórica do abomaso de cordeiros infectados artificialmente com 4000 L3 de *Haemonchus contortus*. Os animais foram distribuídos em quatro grupos (n = 7): animais com dieta a base de feno (feno) ou com adicional de concentrado (3 % peso vivo diário) (concentrado) e imunidade normal (normal) ou imunossuprimido com metilprednisolona semanalmente (suprimido).

Variável	Dieta	Imunidade		Média geral
		Normal	Suprimido	
IgG (densidade Óptica)	Feno	0,131 $\pm$ 0,038 ^b	0,100 $\pm$ 0,019 ^b	0,116 $\pm$ 0,021b
	Concentrado	0,272 $\pm$ 0,046 ^a	0,134 $\pm$ 0,028 ^b	0,203 $\pm$ 0,032a
	Média geral	0,201 $\pm$ 0,035A	0,117 $\pm$ 0,017B	
	Interação dieta*imunidade: F = 2,42; P = 0,133			
Mastócito região fundica (células/mm ²)	Feno	12,73 $\pm$ 2,04 ^{Aa}	5,61 $\pm$ 1,73 ^{Bb}	9,17 $\pm$ 1,62b
	Concentrado	27,59 $\pm$ 4,82 ^{Aa}	6,21 $\pm$ 1,34 ^{Ba}	16,9 $\pm$ 3,82a
	Média geral	20,16 $\pm$ 3,25A	5,91 $\pm$ 1,05B	
	Interação dieta*imunidade: F = 1,99; P = 0,172			
Mastócito região pilórica (células/mm ²)	Feno	10,46 $\pm$ 2,61 ^{Aa}	4,70 $\pm$ 1,62 ^{Aa}	7,58 $\pm$ 1,68a
	Concentrado	16,52 $\pm$ 2,51 ^{Aa}	6,21 $\pm$ 2,02 ^{Ba}	11,37 $\pm$ 2,11a
	Média geral	13,49 $\pm$ 1,93A	5,46 $\pm$ 1,26B	
	Interação dieta*imunidade: F = 0,35; P = 0,558			
Eosinófilos região fundica (células/mm ²)	Feno	3,94 $\pm$ 0,83Aa	2,12 $\pm$ 0,80Aa	3,03 $\pm$ 0,61a
	Concentrado	10,31 $\pm$ 2,84Aa	1,36 $\pm$ 0,76Ba	5,84 $\pm$ 1,88a
	Média geral	7,12 $\pm$ 1,67A	1,74 $\pm$ 0,54B	
	Interação dieta*imunidade: F = 3,79; P = 0,063			
Eosinófilos região pilórica (células/mm ²)	Feno	11,82 $\pm$ 3,22 ^{Aa}	2,88 $\pm$ 0,72 ^{Aa}	7,35 $\pm$ 2,01b
	Concentrado	24,25 $\pm$ 4,28 ^{Aa}	9,70 $\pm$ 2,55 ^{Aa}	16,98 $\pm$ 3,13a
	Média geral	18,04 $\pm$ 3,10A	6,29 $\pm$ 1,59B	
	Interação dieta*imunidade: F = 0,00; P = 0,95			

Para cada variável letras diferentes em maiúsculo indicam diferença estatística entre linha (P < 0,05), letras diferentes minúsculo indicam diferença estatística na coluna (P < 0,05) para média geral, da mesma maneira que as letras sobrescritas indicam as diferenças comparando os grupos experimentais na linha (maiúsculo) e na coluna (minúsculo) (P < 0,05).

543 Tabela 5: Média ($\pm$ erro padrão) do peso do abomaso vazio de cordeiros infectados
 544 artificialmente com 4000 L3 de *Haemonchus contortus*. Os animais foram distribuídos
 545 em quatro grupos (n = 7): animais com dieta a base de feno (feno) ou com adicional
 546 de concentrado (3 % peso vivo diário) (concentrado) e imunidade normal (normal) ou
 547 imunossuprimido com metilprednisolona semanalmente (suprimido).

Variável	Dieta	Imunidade		Média geral
		Normal	Suprimido	
Abomaso vazio (g)	Feno	128 $\pm$ 6	129 $\pm$ 4	129 $\pm$ 3b
	Concentrado	170 $\pm$ 8	150 $\pm$ 4	160 $\pm$ 5a
	Média geral	149 $\pm$ 7A	140 $\pm$ 4A	
	Interação dieta*imunidade: F = 3,37; P = 0,064			

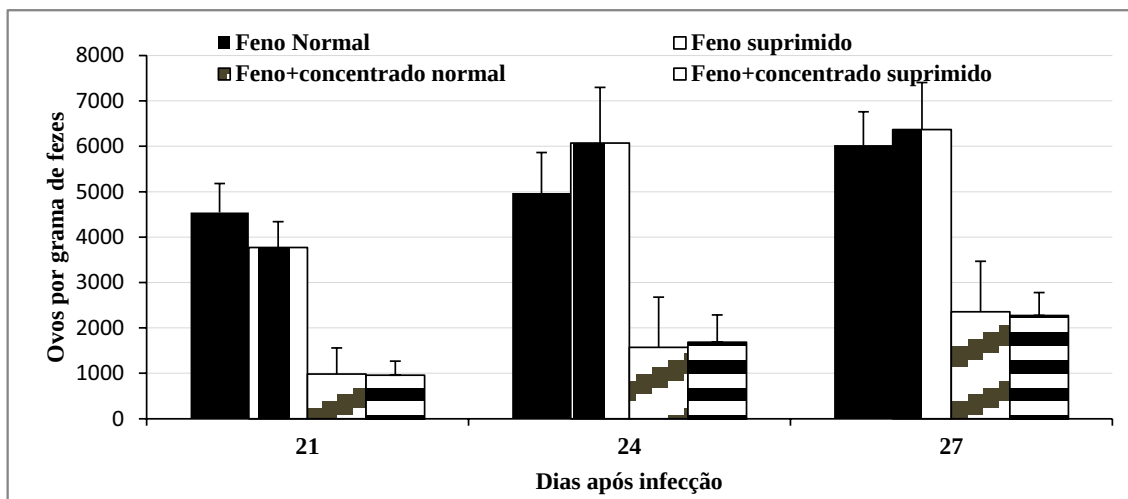
548 Letras diferentes em maiúsculo indicam diferença estatística entre linha (P < 0,05), letras
 549 diferentes minúsculo indicam diferença estatística na coluna (P < 0,05) para média geral,
 550 da mesma maneira que as letras sobrescritas indicam as diferenças comparando os grupos
 551 experimentais na linha (maiúsculo) e na coluna (minúsculo) (P < 0,05).

552 Tabela 6: Média ($\pm$ erro padrão) de pH, acetato (mmol/L), propionato (mmol/L) e
 553 butirato (mmol/L) do líquido ruminal de cordeiros infectados artificialmente com 4000
 554 L3 de *Haemonchus contortus*. Os animais foram distribuídos em quatro grupos (n =
 555 7): animais com dieta a base de feno (feno) ou com adicional de concentrado (3 %
 556 peso vivo diário) (concentrado) e imunidade normal (normal) ou imunossuprimido
 557 com metilprednisolona semanalmente (suprimido).

Variável	Dieta	Imunidade		Média geral
		Normal	Suprimido	
pH	Feno	6,59 $\pm$ 0,07 ^{Aa}	6,50 $\pm$ 0,05 ^{Aa}	6,55 $\pm$ 0,08a
	Concentrado	5,83 $\pm$ 0,08 ^{Bb}	6,25 $\pm$ 0,14 ^{Aa}	6,04 $\pm$ 0,10b
	Média geral	6,21 $\pm$ 0,12A	6,38 $\pm$ 0,08A	
	Interação dieta*imunidade: F = 7,91; P = 0,01			
Acetato	Feno	54,73 $\pm$ 2,55 ^{Aa}	55,95 $\pm$ 1,50 ^{Aa}	55,34 $\pm$ 1,43a
	Concentrado	54,06 $\pm$ 2,52 ^{Aa}	46,91 $\pm$ 2,04 ^{Ab}	50,48 $\pm$ 1,85b
	Média geral	54,40 $\pm$ 1,73A	51,43 $\pm$ 1,75A	
	Interação dieta*imunidade: F = 3,63; P = 0,069			
Propionato	Feno	12,09 $\pm$ 0,92 ^{Ab}	11,10 $\pm$ 0,46 ^{Aa}	11,59 $\pm$ 0,51b
	Concentrado	23,54 $\pm$ 1,61 ^{Aa}	15,86 $\pm$ 1,83 ^{Ba}	19,70 $\pm$ 1,58a
	Média geral	17,81 $\pm$ 1,82A	13,48 $\pm$ 1,12B	
	Interação dieta*imunidade: F = 6,39; P = 0,018			
Butirato	Feno	4,25 $\pm$ 0,30 ^{Ab}	4,24 $\pm$ 0,28 ^{Ab}	4,25 $\pm$ 0,20b
	Concentrado	9,30 $\pm$ 0,52 ^{Aa}	7,34 $\pm$ 0,71 ^{Ba}	8,32 $\pm$ 0,50a
	Média geral	6,78 $\pm$ 0,76A	5,79 $\pm$ 0,57A	
	Interação dieta*imunidade: F = 4,00; P = 0,057			

558 Para cada variável letras diferentes em maiúsculo indicam diferença estatística entre linha
 559 (P < 0,05), letras diferentes minúsculo indicam diferença estatística na coluna (P < 0,05)
 560 para média geral, da mesma maneira que as letras sobrescritas indicam as diferenças
 561 comparando os grupos experimentais na linha (maiúsculo) e na coluna (minúsculo) (P <
 562 0,05).

563



564

565

566

567

568

569

570

Figura 1: Média de ovos por grama de fezes aos 21, 24 e 27 dias após infecção de cordeiros infectados artificialmente com 4000 L3 de *Haemonchus contortus*. Os animais foram distribuídos em quatro grupos (n = 7): animais com dieta a base de feno (feno) ou com adicional de concentrado (3 % peso vivo diário) (concentrado) e imunidade normal (normal) ou imunossuprimido com metilprednisolona semanalmente (suprimido), Barra = erro padrão.

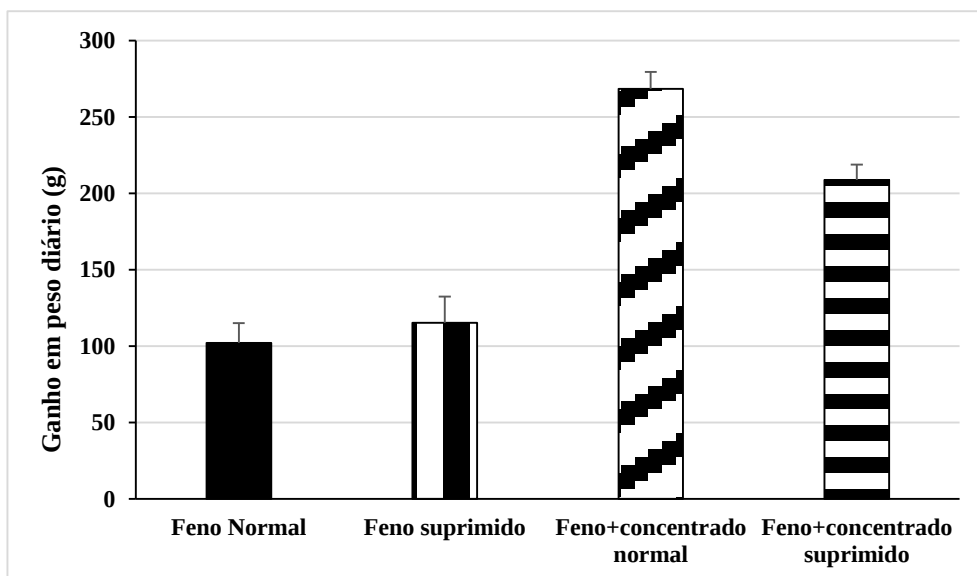


Figura 2: Média de ganho em peso diário de cordeiros infectados artificialmente com 4000 L3 de *Haemonchus contortus*, Os animais foram distribuídos em quatro grupos (n = 7): animais com dieta a base de feno (feno) ou com adicional de concentrado (3 % peso vivo diário) (concentrado) e imunidade normal (normal) ou imunossuprimido com metilprednisolona semanalmente (suprimido), Barra = erro padrão.

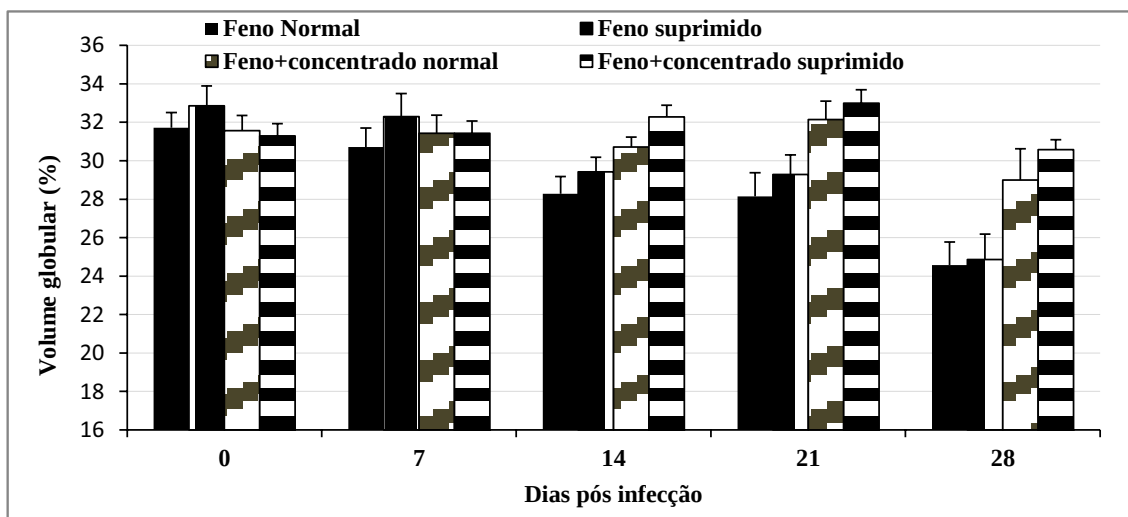


Figura 3: Media de volume globular de cordeiros infectados artificialmente com 4000 L3 de *Haemonchus contortus*, Os animais foram distribuídos em quatro grupos (n = 7): animais com dieta a base de feno (feno) ou com adicional de concentrado (3 % peso vivo diário) (concentrado) e imunidade normal (normal) ou imunossuprimido com metilprednisolona semanalmente (suprimido), Barra = erro padrão.

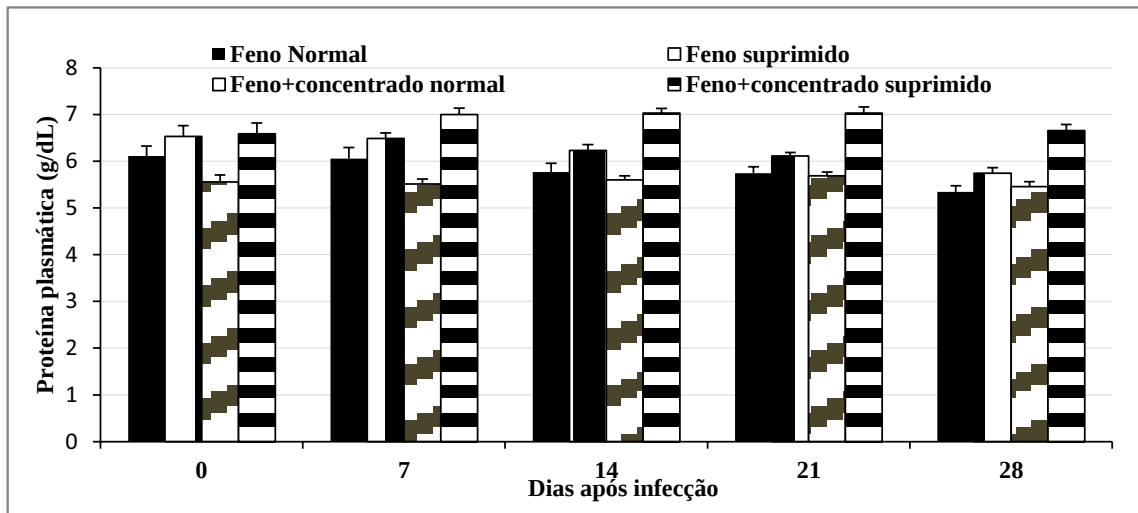


Figura 4: Média de proteína plasmática total de cordeiros infectados artificialmente com 4000 L3 de *Haemonchus contortus*. Os animais foram distribuídos em quatro grupos (n = 7): animais com dieta a base de feno (feno) ou com adicional de concentrado (3 % peso vivo diário) (concentrado) e imunidade normal (normal) ou imunossuprimido com metilprednisolona semanalmente (suprimido), Barra = erro padrão.

Referências Bibliográficas

- ALMEIDA, F.A.; GARCIA, K.C.O.D.; TORGERSON, P.R.; AMARANTE, A.F.T. Multiple resistance to anthelmintics by *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in sheep in Brazil. *Parasitology International*, v. 59, n. 4, p. 622–625, 2010.
- ALVES, K.S.; CARVALHO, F.F.R.; FERREIRA, M.A.; VÉRAS, A.S.C.; MEDEIROS, A.N.; NASCIMENTO, J.F.; NASCIMENTO, L.R.S.; ANJOS, A.V.A. Níveis de energia em dietas para ovinos Santa Inês: características de carcaça e constituintes corporais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 32, n. 6, p. 1927–1936, 2003.
- AMARANTE, A.F.T.; CRAIG, T.M.; RAMSEY, W.S.; DAVIS, S.K.; BAZER, F.W. Nematode burdens and cellular responses in the abomasal mucosa and blood of Florida Native, Rambouillet and crossbreed lambs. *Veterinary Parasitology*, v. 80, n. 4, p. 311–24, 1999.
- AMARANTE, A.F.T.; PADOVANI, C.; BARBOSA, M. Contaminação da pastagem por larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais parasitas de bovinos e ovinos em Botucatu-SP. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 5, n. 2, p. 65–73, 1996.
- ANUALPEC, 2011. *Anuário da pecuária brasileira*. FNP, São Paulo, SP.
- ARAÚJO, M.M.; RODRIGUES, M.L.A. A. Estudo morfométrico e variação do apêndice vulvar de *Haemonchus contortus* (Nematoda: Trichostrongyloidea) de caprinos e ovinos da região semi-. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 1, n. 2, p. 61–64, 2002.
- BALIC, A.; BOWLES, V.M.; MEEUSEN, E.N. The immunobiology of gastrointestinal nematode infections in ruminants. *Advances in parasitology*, v. 45, n. 6, p. 181–241, 2000.
- BARROSO, D.D.; ARAÚJO, G.G.L.; HOLANDA-JÚNIOR, E.V.; NETO, S.G.; MEDINA, F.T. Desempenho bioeconômico de ovinos terminados em confinamento alimentados com subproduto desidratado de vitivinícolas associado a diferentes fontes energéticas. *Revista Ciências Agronômica*, v. 38, n. 2, p. 192–198, 2007.
- BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. *Nutrição de ruminantes*. 1. ed. Jaboticabal, São Paulo: Funep, 2006. p. 616
- BERGMAN, E.N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological reviews*, v. 70, n. 2, p. 567–590, 1990.
- BISHOP, S.C.; STEAR, M.J. Modeling of host genetics and resistance to infectious diseases: understanding and controlling nematode infections. *Veterinary Parasitology*, v. 115, n. 2, p. 147–166, 2003.

BRICARELLO, P.A.; AMARANTE, A.F.T.; ROCHA, R. A; CABRAL FILHO, S.L.; HUNTLEY, J.F.; HOUDIJK, J.G.M.; ABDALLA, A.L.; GENNARI, S.M. Influence of dietary protein supply on resistance to experimental infections with *Haemonchus contortus* in Ile de France and Santa Ines lambs. *Veterinary Parasitology*, v. 134, n. 1-2, p. 99–109, 2005.

CEZAR, A.S.; CATTO, J.B.; BIANCHIN, I. Controle alternativo de nematódeos gastrintestinais dos ruminantes: atualidade e perspectivas. *Ciência Rural*, v. 38, n. 7, p. 2083–2091, 2008.

COYNE, M.J.; SMITH, G.; JOHNSTONE, C. A study of the mortality and fecundity of *Haemonchus contortus* in sheep following experimental infections. *International Journal for Parasitology*, v. 21, n. 7, p. 847–53, 1991.

DANTAS, A.F.; PEREIRA FILHO, J.M.; SILVA, A.M.A.; SANTOS, E.M.; SOUSA, B.B.; CÉZAR, M.F. Características da carcaça de ovinos Santa Inês terminados em pastejo e submetidos a diferentes níveis de suplementação. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 32, n. 4, p. 1280–1286, 2008.

DOYLE, E.K.; KAHN, L.P.; MCCLURE, S.J. Rumen function and digestion of Merino sheep divergently selected for genetic difference in resistance to *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, v. 179, n. 1-3, p. 130–6, 2011.

ECHEVARRIA, F.; BORBA, M.F.S.; PINHEIRO, A.C.; WALLER, P.J.; HANSEN, J.W. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 62, n. 3-4, p. 199–206, 1996.

GREER, A.W. Trade-offs and benefits: implications of promoting a strong immunity to gastrointestinal parasites in sheep. *Parasite immunology*, v. 30, n. 2, p. 123–32, 2008.

HOUDIJK, J. G. M. Differential effects of protein and energy scarcity on resistance to nematode parasites. *Small Ruminant Research*, v.103, n.1, p. 41–49, 2012.

IBELLI, A.M.G.; NAKATA, L.C.; ANDRÉO, R.; COUTINHO, L.L.; OLIVEIRA, M.C.S.; AMARANTE, A.F.T.; FURLONG, J.; ZAROS, L.G.; REGITANO, L.C.A. mRNA profile of Nellore calves after primary infection with *Haemonchus placei*. *Veterinary Parasitology*, v. 176, n. 2-3, p. 195–200, 2011.

IBGE, 2013. Sistema IBGE de Recuperação Eletrônica (SIDRA).

MAIZELS, R.M.; HEWITSON, J.P.; SMITH, K. A. Susceptibility and immunity to helminth parasites. *Current opinion in immunology*, v. 24, n. 4, p. 459–66, 2012.

MARSHALL, J.S. Mast-cell responses to pathogens. *Nature reviews. Immunology*, v. 4, n. 10, p. 787–99, 2004.

MARTÍNEZ-ORTÍZ-DE-MONTELLANO, C.; ARROYO-LÓPEZ, C.; FOURQUAUX, I.; TORRES-ACOSTA, J.F.J.; SANDOVAL-CASTRO, C.A.; HOSTE, H. Scanning electron microscopy of *Haemonchus contortus* exposed to

tannin-rich plants under in vivo and in vitro conditions. *Experimental Parasitology*, v. 133, n. 3, p. 281–286, 2013.

MELO, A.C.F.L.; BEVILAQUA, C.M.L. Abordagem genética da resistência anti-helmíntica em *Haemonchus contortus*. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinária*, v. 8, n. 1, p. 141–146, 2005.

NISHI, S.M.; RICHTZENHAIN, L.J.; GENNARI, S.M. Níveis de IgG séricos em bezerros experimentalmente infectados pelo *Haemonchus placei*. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 39, n. 2, p. 107–110, 2002.

PEREIRA, R.H.M.A.; AHID, S.M.M.; BEZERRA, A.C.D.S.; SOARES, H.S.; FONSECA, Z.A.A.S. Diagnóstico da resistência dos nematóides gastrintestinais a anti-helmínticos em rebanhos caprino e ovino do RN. *Acta Veterinaria Brasilica*, v. 2, n. 1, p. 16–19, 2008.

RAMOS, C.I.; BELLATO, V.; ÁVILA, V.S.; COUTINHO, G.C.; SOUZA, A.P. Resistência de parasitos gastrintestinais de ovinos a alguns anti-helmínticos no Estado de Santa Catarina, Brasil. *Ciência Rural*, v. 32, n. 3, p. 473–477, 2002.

REGADAS-FILHO, J.G.L.; PEREIRA, E.S.; VILLARROEL, A.B.S.; PIMENTEL, P.G.; MEDEIROS, A.N.; FONTENELE, R.M.; MAIA, I.S.G. Composição corporal e exigências líquidas proteicas de ovinos Santa Inês em crescimento. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 40, n. 6, p. 1339–1346, 2011.

ROCHA, R.A.; PACHECO, R.D.L.; AMARANTE, A.F.T. Efficacy of homeopathic treatment against natural infection of sheep by gastrointestinal nematodes. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 15, n. 1, p. 23–27, 2006.

SILVA, A R.; ARAÚJO, J. V; BRAGA, F.R.; ALVES, C.D.F.; FRASSY, L.N. Activity in vitro of fungal conidia of *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* on *Haemonchus contortus* infective larvae. *Journal of Helminthology*, p. 1–4, 2010

SILVA, B.F.; AMARANTE, M.R.V.; KADRI, S.M.; CARRIJO-MAUAD, J.R.; AMARANTE, A.F.T. Vertical migration of *Haemonchus contortus* third stage larvae on *Brachiaria decumbens* grass. *Veterinary Parasitology*, v. 158, n. 1-2, p. 85–92, 2008.

SORIO, A. *Sistema agroindustrial da carne ovina: o exemplo de mato grosso do sul*. 1. ed. Passo Fundo: [s.n.]. p. 112.

VEGLIA, F. *The anatomy and life-history of the Haemonchus contortus (rud)*. 3.–4. ed. Union of South Africa: Research, Annual Reports of the Director of Veterinary, 1915. p. 349–500.