

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS E PULMONARES E
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SÉRICOS EM BEZERROS
NATURALMENTE INFECTADOS

MARCELA CRISTINA DE CEZARO

Botucatu – SP

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS E PULMONARES E
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SÉRICOS EM BEZERROS
NATURALMENTE INFECTADOS

MARCELA CRISTINA DE CEZARO

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

Orientadora: Prof. Dra. Elizabeth Moreira dos
Santos Schmidt

Co-orientador: Prof. Dr. João Carlos Pinheiro
Ferreira

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

Cesaro, Marcela Cristina.

Nematódeos gastrintestinais e pulmonares e parâmetros
bioquímicos séricos em bezerros naturalmente infectados /
Marcela Cristina Cesaro. - Botucatu, 2016

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia

Orientador: Elisabeth Moreira dos Santos Schmidt

Coorientador: João Carlos Pinheiro Ferreira

Capes: 50501062

1. Bovino. 2. Nematoides. 3. Haptoglobinas. 4.
Acetilcolinesterase. 5. Dictyocaulus. 6. Infecções por
Dictyocaulus.

Palavras-chave: Acetilcolinesterase; Bovinos; Dictyocaulus
viviparus; Haptoglobina; Nematódeos gastrintestinais.

Nome da Autora: Marcela Cristina de Cezaro

Título: NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS E PULMONARES E PARÂMETROS
BIOQUÍMICOS SÉRICOS EM BEZERROS NATURALMENTE INFECTADOS

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt
Presidente e Orientadora
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Alessandro Francisco Talamini do Amarante
Membro
Departamento de Parasitologia
IB – UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Ivan Roque de Barros Filho
Membro
Departamento de Medicina Veterinária
UFPR – Curitiba – Paraná

Data da defesa: 29 de julho de 2016

Dedico

Paí e mãe,

Por todo amor,

Carinho e bons exemplos.

Senhor faça-me instrumento de vossa paz.

Onde houver ódio, que eu leve o amor;

Onde houver ofensa, que eu leve o perdão;

Onde houver discórdia, que eu leve a união;

Onde houver dúvida, que eu leve a fé;

Onde houver erro, que eu leve a verdade;

Onde houver desespero, que eu leve a esperança;

Onde houver tristeza, que eu leve a alegria;

Onde houver trevas, que eu leve a luz.

Ó Mestre, Fazei que eu procure mais Consolar,

Que ser consolado;

Compreender, que ser compreendido;

Amar, que ser amado.

Pois é dando que se recebe,

É perdoando que se é perdoado,

E é morrendo que se vive para a vida eterna.

São Francisco de Assís

AGRADECIMENTOS

Ao curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), UNESP, *câmpus* de Botucatu, por esta oportunidade que me permitiu crescer e amadurecer muito.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo concedida.

Ao Departamento de Clínica Veterinária e a FMVZ, UNESP, *câmpus* de Botucatu.

A todos os funcionários da FMVZ, UNESP, *câmpus* de Botucatu. Em especial, àqueles da secretaria de Pós-Graduação em Medicina Veterinária desta Universidade.

A minha orientadora Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt por toda a dedicação, tempo e paciência. Por me fazer crescer e me incentivar a fazer sempre o meu melhor.

Ao meu co-orientador João Carlos Pinheiro Ferreira, por todo o auxílio, atenção e ajuda.

Aos professores Dr. Peter D. Eckersall, da Universidade de Glasgow, Dr. José J. Cerón, Dr. Fernando Tecles e a pesquisadora Asta Tvarijonaviciute, da Universidade de Murcia, pela oportunidade de estágio e auxílio na elaboração de parte deste trabalho.

Ao Laboratório Interdisciplinar de Patologia Clínica, INTERLAB-UMU, *câmpus* Excellence Mare Nostrum, da Universidade de Murcia, Espanha, pela realização das análises bioquímicas.

Ao Prof. Dr. Alessandro Francisco Talamini do Amarante por ter cedido gentilmente o Laboratório de Helminologia Veterinária (LHV) para tudo que fosse necessário.

Ao Prof. Dr. José Carlos Pantoja pela ajuda com as análises estatísticas.

A Profa. Dra. Noeme Sousa Rocha e ao Prof. Dr. Alessandro Francisco Talamini do Amarante, membros da banca do exame geral de qualificação, por contribuírem grandemente para a construção do trabalho.

Aos professores Dr. Ivan Roque de Barros Filho e Dr. Alessandro Francisco Talamini do Amarante, por participarem de minha banca de defesa de forma proveitosa e construtiva.

Aos produtores Eduardo Langelli e Celso Vinícius Justo que gentilmente cederam seus animais e suas propriedades para que este estudo pudesse ser realizado.

A Deus, pelo dom da vida, por me abençoar tão ricamente, iluminando sempre os meus passos.

A Nossa Senhora de Aparecida, por acalmar meu coração e me trazer paz nos momentos difíceis.

Aos meus amados pais Pedro e Claudete de Cezaro, por serem a minha base forte e a minha referência de vida. Por me ensinarem desde cedo preciosos valores que hoje formam meu caráter. Pela presença constante em todas as minhas decisões.

Ao meu irmão Felipe de Cezaro, que apesar de termos escolhido a mesma profissão, tomamos caminhos muito distintos, mas, o seu incentivo sempre me motivou a seguir em frente.

A minha cunhada Flávia de Cezaro, pela sua amizade, pronta ajuda e por torcer tanto por mim.

Em especial, com muito carinho, agradeço aos meus companheiros de caminhada, Raphaela M. de Oliveira, Giovanna C. Brombini, José Renato L. M. Cury, Felipe M. Dalanezi, José Henrique das Neves, Nadino Carvalho, Henry García e Viviana Vallejo que me ajudaram não somente com coletas e análises laboratoriais, mas, com a convivência, laços de amizade foram criados, e foram fundamentais para me manter firme nos momentos de desânimo, e saudades de casa.

E por fim, mas, não menos importante, aos animais, razão deste trabalho, todo o meu respeito e gratidão.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 - Levantamento retrospectivo de prevalência e intensidade média de infecção parasitária em bovinos naturalmente infectados por nematódeos gastrintestinais e pulmonares em estudos necroscópicos realizados em diversas Unidades Federativas do Brasil, no período de 1971 a 2010	65
--	----

CAPÍTULO 2

Tabela 1 - Collections of feces realized in crossbred calves according to seasons of the year (spring of 2014 – winter of 2015) on Botucatu and Manduri properties, state of São Paulo, Brazil...	86
Tabela 2 - Prevalence (%) of calves positive in egg count per gram of feces (EPG) in different seasons of the year in dairy farm properties located in the municipalities of Botucatu and Manduri, SP, Brazil, in the period from September of 2014 to August of 2015.....	86
Tabela 3 - Prevalence (%) of eggs and oocysts of parasites in calves evaluated in different seasons of the year in dairy farm properties located in the municipalities of Botucatu and Manduri, SP, Brazil, in the period spanning September of 2014 to August of 2015.....	87
Tabela 4 - Prevalence (%) of infective larvae (L ₃) from gastrointestinal nematodes recovered from coprocultures accomplished in a <i>pool</i> of samples from calves naturally infected by season of the year on the Botucatu, SP, Brazil, dairy farm property in the period from September of 2014 to August of 2015.....	87
Tabela 5 - Prevalence (%) of infective larvae (L ₃) from gastrointestinal nematodes recovered from coprocultures accomplished in a <i>pool</i> of samples from calves naturally infected by season of the year on the Manduri, SP, Brazil, dairy farm property in the period from September of 2014 to August of 2015.....	88

CAPÍTULO 3

Tabela 1 - Biochemical analytes concentrations in healthy calves (Group 1); calves with GI parasites with low EPG (Group 2a); and with GI parasites with high EPG (Group 2b); calves with only lungworm (Group 3) and calves with lung + GI parasites (Group 4).....	96
--	----

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1 -	Ciclo de vida geral dos nematódeos gastrintestinais da Ordem Strongylida parasitas de bovinos.....	09
Figura 2 -	Ciclo de vida do nematódeo intestinal <i>S. papillosus</i> parasita de bovinos. 1) Transmissão oral. 2) Penetração cutânea. 3) Transmamária.....	10
Figura 3 -	Ciclo de vida do nematódeo pulmonar <i>D. viviparus</i>	11

CAPÍTULO 2

Figura 1 -	Mean temperature and accumulated monthly rainfall in the municipality of Botucatu, SP, Brazil, during the experimental period, comprising the period between September of 2014 to August of 2015.....	88
Figura 2 -	Mean temperature and accumulated monthly rainfall in the municipality of Manduri, SP, Brazil, during the experimental period, comprising the period between September of 2014 to August of 2015.....	89
Figura 3 -	Count of eggs per gram of feces (EPG) in calves naturally infected in different seasons of the year on a dairy farm properties located in the municipalities of Botucatu and Manduri, SP, Brazil, between September of 2014 and August of 2015. Horizontal lines represent the median and interquartile intervals. *** $P < 0.0001$	89
Figura 4 -	Count of eggs per gram of feces (EPG) in naturally infected calves divided into age groups on a dairy farm properties located in the municipalities of Botucatu and Manduri, SP, Brazil, in the period spanning September of 2014 to August of 2015. Horizontal lines represent the median and interquartile intervals. * $P = 0.01$	90
Figura 5 -	Count of <i>Strongyloides</i> spp. eggs per gram of feces (EPG) in naturally infected calves divided into age groups on a property in Botucatu, SP, Brazil, in the period spanning September of 2014 to August of 2015. Horizontal lines represent the median and interquartile intervals. ** $P=0.001$	90

CAPÍTULO 3

- Figura 1 - Fecal egg counts (egg per gram of feces – EPG) among calves naturally infected by GI parasites (Group 2a and 2b), and with lung + GI parasites (Group 4). Horizontal dotted line (200 EPG threshold). *** $P < 0.0001$. Groups 1 and 3 are not included (EPG = 0)..... 94
- Figura 2 - Biochemical analytes concentrations in healthy calves (Group 1); calves with GI parasites with low EPG (Group 2a); and with GI parasites with high EPG (Group 2b); calves with only lungworm (Group 3) and calves with lung + GI parasites (Group 4). Horizontal lines represent the median and interquartile ranges. (A) Haptoglobin; (B) AChE; (C) Cholesterol; (D) HDL; (E) LDL; (F) Triglycerides; (G) Lipase. * $P < 0.01$, ** $P < 0.001$, *** $P < 0.0001$ 95

LISTA DE ABREVIATÖES

° C - graus Celsius

% - percentagem

µm - micrômetro

ACh – acetilcolina

AChE - acetilcolinesterase

AGP – alfa-1 glicoproteína ácida

BChE – butirilcolinesterase

Ca – cálcio

CATI – Coordenadoria de Assistência Técnica Integral

CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

cm – centímetros

Cp – ceruloplasmina

DNA - ácido desoxirribonucleico

ELISA - *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

Fb – fibrinogênio

Fe – ferro

Fe²⁺ - ferroso

Fe³⁺ - férrico

FMVZ – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

g – grama

GI - gastrintestinal

Hb – hemoglobina

HDL – lipoproteína de alta densidade (*High-density lipoprotein*)

Hp – haptoglobina

HPA – hipotálamo-pituitária-adrenal

IL – 1 – interleucina -1

IL – 6 – interleucina – 6

IM – Intensidade média parasitária

iP – fósforo inorgânico

kDa – kilodáton

km – quilômetros

LBP – lipopolissacarídeo ligado à proteína

LDL – lipoproteína de baixa densidade (*Low-density lipoprotein*)

L₁ – larva de primeiro estágio

L₂ – larva de segundo estágio

L₃ – larva de terceiro estágio

L₄ – larva de quarto estágio

L₅ – larva de quinto estágio

mL – mililitro

mm – milímetro

n – número de animais

O₂ – oxigênio

OPG – ovos por grama de fezes

P - fósforo

PCR – reação em cadeia de polimerase

PFA's – proteínas de fase aguda

pH – potencial hidrogeniônico

PON – 1 – paraoxonase - 1

PPP – período-pré-patente

PTH - paratormônio

SAA – amiloide A sérico

SP – São Paulo

spp. – espécies

T °C - temperatura

TNF- α - fator de necrose tumoral alfa

VHDL – lipoproteína de muito alta densidade (*Very high-density lipoprotein*)

VLDL – lipoproteína de muito baixa densidade (*Very low-density lipoprotein*)

UF – Unidade Federativa

UIBC – Capacidade de ligação do ferro insaturado (*Unsaturated Iron Binding Capacity*)

Unesp – Universidade Estadual Paulista

x – vezes

Sumário

RESUMO.....	1
ABSTRACT	3
INTRODUÇÃO	5
REVISÃO DE LITERATURA	7
1 Nematódeos em bovinos	7
1.1 Nematódeos gastrintestinais.....	7
1.1.2 Ciclo de vida.....	7
1.2 Nematódeo do trato respiratório: <i>D. viviparus</i>	10
1.2.1 Ciclo de vida.....	10
1.3 Hipobiose.....	12
2 Patogenia dos nematódeos parasitas de ruminantes.....	13
2.1 Abomaso.....	13
2.1.1 <i>Ostertagia</i> spp.	13
2.1.2 <i>Haemonchus</i> spp.	14
2.1.3 <i>Trichostrongylus axei</i>	15
2.2 Intestino delgado	16
2.2.1 <i>Cooperia</i> spp.....	16
2.2.2 <i>Trichostrongylus</i> spp.	17
2.2.3 <i>Strongyloides papillosus</i>	19
2.3 Intestino Grosso.....	20
2.3.1 <i>Oesophagostomum radiatum</i>	20
2.4 Traqueia e brônquios	21
2.4.1 <i>Dictyocaulus viviparus</i>	21
3 Bioquímica clínica em ruminantes.....	24
3.1 Perfil Proteico	24
3.1.1 Proteínas de Fase Aguda (PFA's).....	24
3.1.2 Lipoproteínas	29
3.2 Perfil lipídico	30
3.3 Perfil Enzimático	31
3.3.1 Perfil pancreático.....	31
3.3.2 Colinesterases	31
3.4 Perfil Mineral.....	32

3.4.1 Cálcio (Ca) e Fósforo (P)	32
3.4.2 Perfil do ferro sérico.....	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
CAPÍTULO 1	47
Epidemiologia dos endoparasitas em bovinos: uma visão do Brasil e do mundo	48
CAPÍTULO 2	67
Gastrointestinal and pulmonary nematodes in calves naturally infected in the cities of Botucatu and Manduri, in the Brazilian state of São Paulo	68
CAPÍTULO 3	91
Changes in biochemical analytes in calves infected by nematode parasites in field conditions.....	92
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	98
ANEXO.....	99

CEZARO, M.C. **Nematódeos gastrintestinais e pulmonares e parâmetros bioquímicos séricos em bezerros naturalmente infectados**. Botucatu, 2016. 101p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

Este trabalho encontra-se dividido em três capítulos. O capítulo 1 versa sobre uma revisão de literatura que teve como objetivo a realização de um levantamento retrospectivo sobre os endoparasitas em bovinos no Brasil, que também incluiu dados mundiais. No capítulo 2, objetivou-se investigar os nematódeos gastrintestinais (GI) e pulmonares que parasitam bovinos jovens. Para isso, foram utilizados 140 bezerros mestiços, de dois a 12 meses de idade, clinicamente saudáveis, de duas propriedades leiteiras nos municípios de Botucatu e Manduri, estado de São Paulo. Durante um ano, trimestralmente, amostras de fezes foram coletadas diretamente da ampola retal para a realização da contagem de OPG pela técnica de McMaster modificada e pesquisa de L₁ de *Dictyocaulus viviparus* pela modificação da técnica de Baermann. Além disso, coproculturas foram realizadas em *pool* de amostras para a observação das larvas infectantes. Na propriedade de Manduri, houve um aumento significativo da contagem de OPG no inverno. Na propriedade de Botucatu, os animais com até três meses de idade apresentaram maiores contagens de OPG quando comparados aos animais mais velhos. Em geral, foram observados ovos de strongilídeos, *Strongyloides* spp., *Moniezia* spp., *Trichuris* spp. e oocistos de *Eimeria* spp. Nas coproculturas, em ordem de prevalência, foram recuperadas larvas infectantes de *Cooperia* spp., *Haemonchus* spp., *Oesophagostomum* spp. e *Trichostrongylus* spp. As L₁ de *D. viviparus* foram recuperadas somente na propriedade de Botucatu durante todo o ano, com exceção da primavera. O capítulo 3 teve como objetivo determinar as concentrações séricas de parâmetros bioquímicos e possíveis alterações provocadas pelo parasitismo em condições de campo. Foram selecionados 86 bezerros avaliados no capítulo 2. No mesmo momento da coleta de fezes, realizou-se a coleta de sangue por venopunção da jugular para obtenção do soro. Foram determinadas as concentrações séricas de haptoglobina, paraoxonase – 1, proteína total, albumina, colesterol, triglicérides, HDL, LDL, ferro, UIBC, amilase, lipase, cálcio, fósforo, e as atividades da acetilcolinesterase e butirilcolinesterase.

Os animais foram divididos em grupos de acordo com os resultados da contagem de OPG e presença de L₁ de *D. viviparus*. Observou-se elevação significativa nas concentrações de haptoglobina nos bezerros parasitados por nematódeos GI e pulmonares. Um aumento significativo da atividade de acetilcolinesterase foi observado nos bezerros infectados por *D. viviparus*. Em adição, houve diminuição significativa das concentrações de colesterol, triglicérides, HDL e LDL e aumento significativo da concentração de lipase nos bezerros parasitados por nematódeos GI.

Palavras-chave: acetilcolinesterase, bovinos, *Dictyocaulus viviparus*, haptoglobina, nematódeos gastrintestinais.

CEZARO, M.C. **Gastrointestinal and pulmonary nematodes and serum biochemical analytes in calves naturally infected.** Botucatu, 2016. 101p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

This work was divided into three chapters. The chapter 1 aimed to perform a review article based on a retrospective survey of epidemiological studies examining endoparasites that affect bovine in different regions of Brazil, which also included international data. The chapter 2 aimed to determine the gastrointestinal (GI) and pulmonary parasites that affect calves. For this, we used 140 clinically healthy crossbred calves, two to 12 months old, which belonged to two private farms in the municipalities of Botucatu and Manduri, São Paulo state. The animals were monitored for 12 months. Feces were collected directly from the rectum every three months. Fecal egg counts were determined using the modified McMaster technique with a sensitivity of 50 eggs per gram of feces (EPG). Coproculture was performed on pooled samples to identify Strongylida infective larvae. First-stage larvae of *Dictyocaulus viviparus* were identified by a modified Baermann method. The calves from Manduri farm showed a significant increase in the fecal egg counts in the winter when to compare to other seasons. The Botucatu farm calves differed significantly in the age groups in that younger calves (2 – 3 months old) showed a higher EPG than older calves (8 – 12 months old). Generally, we found Strongyle type-eggs, *Strongyloides* spp., *Moniezia* spp., and *Trichuris* spp. eggs and *Eimeria* spp. oocysts. The most prevalent genera in all coprocultures were: *Cooperia* spp., *Haemonchus* spp., *Oesophagostomum* spp., and *Trichostrongylus* spp. First-stage larvae of *D. viviparus* were found only in Botucatu farm samples throughout the year, except in the spring. The chapter 3 aimed to evaluate possible alterations in selected serum biochemical analytes produced by parasitic infection in field conditions. For this, 86 calves were selected from chapter 2. At the same time point of feces collection, animals were bled via the jugular vein to obtain sera. The biochemical analytes determined were: haptoglobin, paraoxonase type 1, total protein, albumin, cholesterol, tryglicerides, HDL, LDL, iron and UIBC, amylase, lipase, phosphorus, calcium and the activity of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. The calves were divided into four

groups according to the results of EPG and the modified Baermann method. The haptoglobin concentration significantly increased in calves with GI and pulmonary parasites. A significant increase in acetylcholinesterase was observed in calves infected with lungworms. Concentrations of cholesterol, triglycerides, HDL, and LDL were significantly decreased but that of lipase was elevated in calves with GI parasites.

Key words: acetylcholinesterase, bovine, *Dictyocaulus viviparus*, haptoglobin, gastrointestinal nematode.

INTRODUÇÃO

No Brasil, as infecções provocadas por parasitas podem ser consideradas como uma importante causa de perdas econômicas e produtivas em bovinos. Com ênfase nos nematódeos, as principais espécies do trato gastrointestinal são: *Cooperia* spp., *Haemonchus* spp., *Trichostrongylus* spp. e *Oesophagostomum* spp. Além disso, há relatos de parasitismo provocado pelo nematódeo pulmonar *Dictyocaulus viviparus*.

Investigações epidemiológicas retrospectivas realizadas no Brasil forneceram informações sobre a fauna helmintológica dos bovinos, demonstrando que o parasitismo provocado por nematódeos foi altamente prevalente, e que os animais podem ser parasitados por uma variedade de espécies. Entretanto, se observa uma escassez de informações atualizadas referente à epidemiologia das helmintoses nos rebanhos bovinos brasileiros. Além disso, algumas regiões do país foram pouco estudadas ou ainda não exploradas.

Apresenta-se uma revisão de literatura sobre os aspectos gerais do parasitismo gastrointestinal e pulmonar em bovinos, incluindo os ciclos de vida e a patogenia dos parasitas. Além disso, esta revisão também aborda as provas bioquímicas comumente utilizadas para o auxílio no diagnóstico de enfermidades que acometem os ruminantes, com ênfase nas doenças parasitárias.

Isto posto, o capítulo 1 deste trabalho, objetiva a realização de uma revisão de literatura sobre um levantamento retrospectivo de investigações epidemiológicas do parasitismo gastrointestinal e pulmonar em várias regiões do Brasil, que também incluiu dados mundiais.

Sob este ponto de vista, a fim de contribuir com informações recentes sobre a ocorrência de nematódeos gastrintestinais e pulmonares que acometem os bovinos, o capítulo 2 trata de uma investigação diagnóstica com base em exames coproparasitológicos e cultura de larvas, em relação a presença desses parasitas em bezerros provenientes de duas propriedades leiteiras nos municípios de Botucatu e Manduri, estado de São Paulo.

Em alguns casos, o diagnóstico das endoparasitoses pode ser difícil devido a uma apresentação insidiosa (subclínica) da doença. Desta forma, com frequência estas enfermidades são subdiagnosticadas e/ou negligenciadas por

produtores e médicos veterinários. Assim, torna-se fundamental a busca por ferramentas diagnósticas que possam ser úteis no auxílio e na detecção destas doenças, a fim de potencializar a produtividade, bem como melhorar a saúde e o bem-estar dos animais e do rebanho.

A avaliação do perfil bioquímico pode ser uma ferramenta diagnóstica útil para avaliar vários sistemas do organismo. As provas de bioquímica sérica podem auxiliar na confirmação de um diagnóstico, na determinação do prognóstico, no planejamento terapêutico e na resposta a um tratamento.

Nas enfermidades parasitárias em bovinos, investigações de bioquímica clínica foram demonstradas em infecções experimentais e naturais por alguns parasitas. Entretanto, não há relatos da avaliação do perfil bioquímico em bovinos naturalmente infectados por parasitas gastrintestinais associados ou não com o parasitismo por *D. viviparus*. Desta forma, no capítulo 3, o emprego da bioquímica clínica sérica é utilizado para a avaliação de possíveis alterações em parâmetros bioquímicos provocados pelo parasitismo de nematódeos gastrintestinais e pulmonares nos mesmos bezerros naturalmente infectados em condições de campo avaliados no capítulo 2.

REVISÃO DE LITERATURA

1 Nematódeos em bovinos

Os principais nematódeos que acometem os bovinos pertencem a Ordem Strongylida. Dentro desta ordem, estão divididos em duas superfamílias: Trichostrongyloidea e Strongyloidea. Na superfamília Trichostrongyloidea, duas famílias se destacam, uma vez que estão compreendidos os gêneros de relevância na parasitologia veterinária: a família Trichostrongylidae contém os gêneros *Haemonchus* spp., *Ostertagia* spp. e a espécie *Trichostrongylus axei* (Cobbold, 1879), que são parasitas do abomaso, *Cooperia* spp., e *Trichostrongylus* spp., que parasitam o intestino delgado, e a Família Dictyocaulidae na qual está inserido o único nematódeo do trato respiratório encontrado em bovinos: *Dictyocaulus viviparus* (Bloch, 1782). Na superfamília Strongyloidea, a Família Chabertiidae contém o gênero *Oesophagostomum* spp. nematódeo de intestino grosso. O outro nematódeo encontrado no intestino delgado que acomete os bovinos é *Strongyloides papillosus* (Wedl, 1856) que pertence a Família Strongyloididae, Superfamília Rhabditoidea e Ordem Rhabditida (ANDERSON, 2000).

1.1 Nematódeos gastrintestinais

1.1.2 Ciclo de vida

Apesar de cada gênero possuir diferenças e peculiaridades em relação ao ciclo biológico, em linhas gerais os ciclos de vida ocorrem de maneira semelhante entre os parasitas da Ordem Strongylida. O ciclo é direto e monoxeno, e se divide em duas fases: parasitária, no hospedeiro e de vida livre, no ambiente. A fase parasitária inicia-se com a ingestão da larva infectante (L₃) presente na pastagem. No tubo digestivo, as L₃ perdem a cutícula, penetram em seu órgão de predileção e sofrem muda para L₄, quando retornam para a luz do órgão, e sofrem nova muda para L₅, atingindo a maturidade sexual. Os parasitas adultos, machos e fêmeas se reproduzem, e as fêmeas liberam os ovos contendo um embrião na

forma de mórula, juntamente com as fezes, para o ambiente, contaminando as pastagens (GIBBS, 1982; ANDERSON, 2000). O período pré-patente (PPP) varia de acordo com a espécie/gênero parasita, sendo para *O. ostertagi* (Stiles, 1892) de 18 – 23 dias, *H. placei* (Place, 1893) de 26 – 28 dias, *T. axei* de 18 – 21 dias, *Cooperia* spp. de 11 – 14 dias e *O. radiatum* (Rudolphi, 1803) de 35 – 41 dias (WOOD et al., 1995).

A fase de vida livre caracteriza-se pela fase em que os ovos eclodem em um ou dois dias atingindo o primeiro estágio larval (L₁). Posteriormente, a L₁ perde sua cutícula e sofre sua segunda muda (L₂). A L₂ sofre muda para L₃ (estágio infectante), que permanece envolvida pela cutícula do segundo estágio. Esta cutícula tem a função de conferir proteção mediante as adversidades climáticas, uma vez que a larva abandona o bolo fecal e migra em direção a vegetação, movimentando-se por meio das gotículas de água, estimuladas pela luminosidade e temperatura. A L₃ não se alimenta e sobrevive de reservas nutricionais armazenadas pelos estágios anteriores (LEE, 2002) (Figura 1).

A temperatura e a umidade apresentam importante influência na epidemiologia dos nematódeos gastrintestinais, sendo determinantes para o sucesso e velocidade do desenvolvimento dos estágios de vida livre. Além disso, o efeito do microclima também deve ser considerado (O'CONNOR et al., 2006). De acordo com Lima (1998), no estado de Minas Gerais, temperaturas médias entre 19°C e 32°C foram adequadas para o desenvolvimento e sobrevivência de *Cooperia* spp., *Haemonchus* spp. e *Oesophagostomum* spp. durante todo o ano. No entanto, a baixa precipitação pareceu ser um fator limitante. Em geral, a transformação de L₁ até L₃ pode levar de sete a dez dias, porém, em condições adversas como secas e baixas temperaturas, esse período de desenvolvimento pode ser maior (TAYLOR et al., 2010).

O gênero *Ostertagia* spp. apresenta adaptabilidade ao frio, sendo um importante parasita em regiões de clima temperado (AGEENESSES et al., 2000). *Trichostrongylus* spp. também parece tolerar baixas temperaturas, enquanto que *Haemonchus* spp. predomina em regiões de clima tropical e subtropical, caracterizado por temperaturas altas e chuvas abundantes (O'CONNOR et al., 2006). Com exceção de *C. oncophora* (Railliet, 1898), que é comumente encontrada em climas temperados (ALMERÍA et al., 1996), *C. punctata* (Linstow,

1907) e *C. pectinata* (Ransom, 1907) são bem adaptadas às temperaturas mais altas e parecem possuir certa tolerância a dessecação (LIMA, 1998).

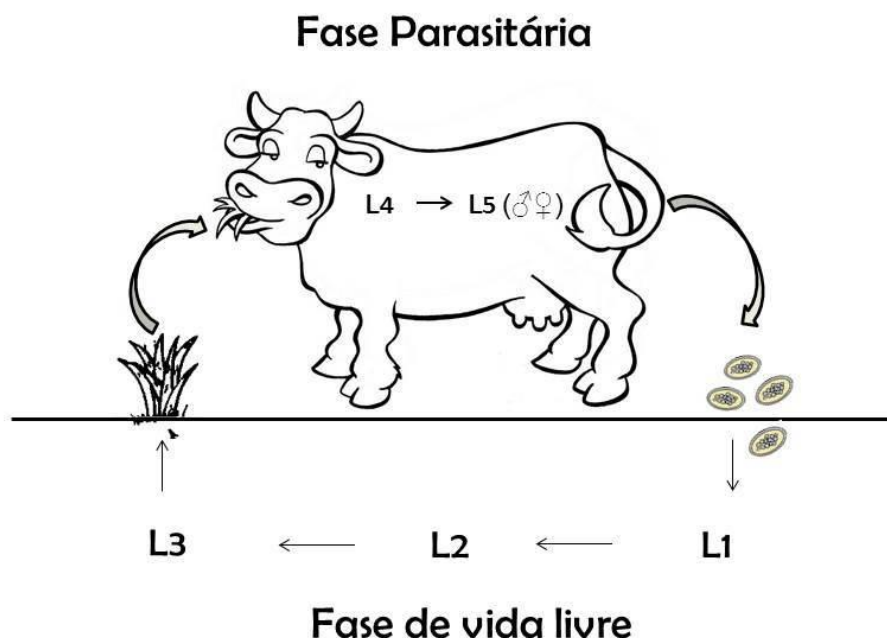


FIGURA 1 – Ciclo de vida geral dos nematódeos gastrintestinais da Ordem Strongylida parasitas de bovinos.

Strongyloides papillosus é a única espécie dentre esses nematódeos que apresenta ciclo reprodutivo parasitário e de vida livre, sendo a forma parasitária composta apenas por fêmeas que produzem ovos por partenogênese. Estes ovos no ambiente podem desenvolver-se de duas formas: 1) Heterogônica: adultos (machos e fêmeas) de vida livre que se reproduzem e dão origem à progênie de larvas infectantes, 2) Homogônica: larvas (L₃) infectantes, que podem contaminar o hospedeiro por ingestão da pastagem ou por penetração cutânea, que por meio da circulação, pulmões e traqueia, alcançam o intestino delgado para amadurecerem (TURNER et al., 1960; ANDERSON, 2000).

Um aspecto epidemiológico importante do *S. papillosus* é a capacidade das L₃ permanecerem em um estado de hipobiose nos tecidos do hospedeiro. Frente a um mecanismo de ativação, as L₃ podem migrar para as glândulas mamárias, caracterizando assim, a infecção por essa via (VINEY e LOK, 2007). A contaminação transmamária é uma importante fonte de infecção para bezerros

lactentes, que podem ser contaminados nos primeiros dias de vida a partir do leite. O PPP é de oito a 14 dias (LYONS, DRUDGE e TOLLIVER, 1970; TAYLOR et al., 2010).

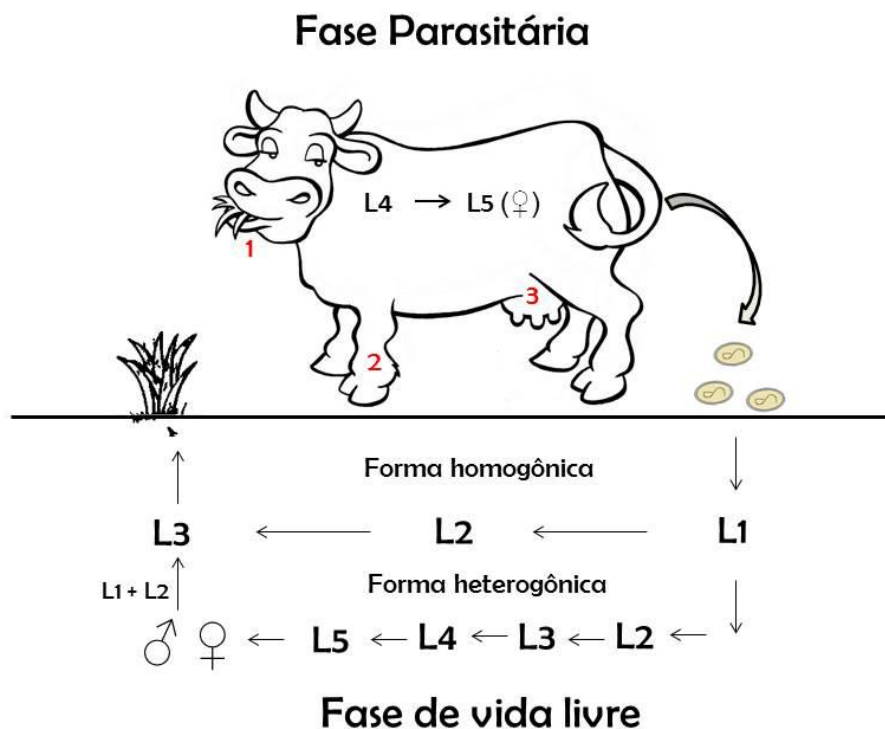


FIGURA 2 – Ciclo de vida do nematódeo intestinal *S. papillosus* parasita de bovinos. 1) Transmissão oral. 2) Penetração cutânea. 3) Transmamária.

1.2 Nematódeo do trato respiratório: *D. viviparus*

1.2.1 Ciclo de vida

O ciclo é direto e monoxeno. O hospedeiro se contamina por meio da ingestão da L₃ presente nas pastagens, que penetra na mucosa intestinal e pelos vasos linfáticos migra para os linfonodos mesentéricos, onde permanece por três a oito dias. A L₃ sofre muda para L₄, e em seguida, pela linfa e circulação, há a migração para os pulmões. Jarret et al. (1957) descreveram experimentalmente que as larvas alcançaram os pulmões pela primeira vez em sete dias. No entanto, um maior número de larvas foi observado em 13 a 15 dias após a infecção. Os

parasitas adultos (L_5), machos e fêmeas, se reproduzem e dão origem a ovos contendo larvas em desenvolvimento, que posteriormente eclodem nas vias aéreas e/ou no tubo digestivo, após serem expectorados e deglutidos. As L_1 são eliminadas nas fezes do hospedeiro e contaminam o ambiente. O PPP é de três a quatro semanas (JARRET et al., 1957; ANDERSON, 2000). As larvas pré-infectantes (L_1) e (L_2) no ambiente, não se alimentam, pois possuem células intestinais que contém grânulos alimentares (TAYLOR et al., 2010). As L_3 apresentam baixa motilidade, assim, o que auxilia a dispersão das larvas infectantes de *D. viviparus* são os fungos *Pilobolus* spp. que no momento da esporulação lançam as larvas presentes nos esporângios, disseminando-as na vegetação (JØRGENSEN et al., 1982). Adicionalmente, a maior ocorrência deste parasitismo parece acontecer em regiões de clima temperado úmido (PLOEGER, 2002; PANUSKA, 2006).

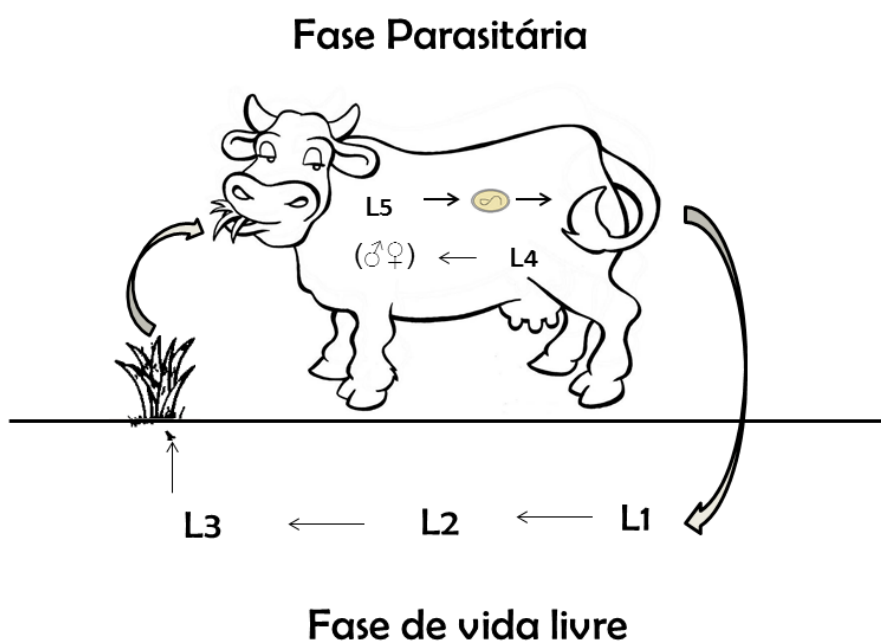


FIGURA 3 – Ciclo de vida do nematódeo pulmonar *D. viviparus*.

1.3 Hipobiose

O fenômeno conhecido como hipobiose ou desenvolvimento larval inibido se caracteriza pelo desenvolvimento interrompido das larvas de nematódeos parasitas no hospedeiro, geralmente no quarto estágio larval (L₄), podendo permanecer em inibição por até vários meses (GIBBS, 1982; ARMOUR e DUNCAN, 1987). Evidências experimentais sugerem que a imunidade do hospedeiro, tamanho da população parasita e as condições sazonais são importantes. Desta maneira, a hipobiose pode ocorrer frente a uma imunidade adquirida do hospedeiro, assim, as larvas somente terminam de amadurecer mediante uma imunossupressão, como por exemplo, o parto. Em relação ao tamanho da população, esse fenômeno poderia ser atribuído a um mecanismo regulador da população de parasitas. Na presença de certa quantidade de parasitas adultos, as larvas ingeridas poderiam ser inibidas, e mediante eliminação dos parasitas maduros, terminariam o desenvolvimento. Ademais, alguns estudos demonstraram que os efeitos sazonais são fortemente envolvidos, havendo inibição mediante às condições climáticas adversas, como no inverno ou na estação seca (ARMOUR e DUNCAN, 1987; EYSKER, 1997). As larvas descritas com potencial hipobiótico são: *O. ostertagi*, *T. axei*, *C. pectinata*, *C. oncophora*, *H. contortus* (Rudolphi, 1803), *D. viviparus* e *O. radiatum* (ARMOUR e DUNCAN, 1987).

No Brasil, em estudo preliminar conduzido no Mato Grosso do Sul, em área de Cerrado, Melo (1977) relatou a possível ocorrência de hipobiose em larvas de *Cooperia* spp. (*C. pectinata* e *C. punctata*) e *Haemonchus* spp. (*H. similis* (Travassos, 1914) e *H. contortus*) em bezerros zebuínos com 10 a 15 meses de idade, criados extensivamente. Evidenciou-se que à medida que a estação seca avançou, o número de formas inibidas aumentou em relação ao número de parasitas adultos.

2 Patogenia dos nematódeos parasitas de ruminantes

De maneira geral, em condições de campo, os animais apresentam infecções mistas por nematódeos gastrintestinais e pulmonares (LANDIM et al., 2001; BORGES et al., 2001). No entanto, cada espécie parasita apresenta características próprias, como: órgão de fixação e tipo de espoliação, que refletem diretamente na resposta do hospedeiro.

Desta forma, a patogenia dos nematódeos parasitas de ruminantes será abordada de acordo com a espécie e o respectivo órgão parasitado.

2.1 Abomaso

2.1.1 *Ostertagia* spp.

Esse parasita é responsável por significativas perdas produtivas em bovinos jovens principalmente em regiões temperadas (FOX, 1993; ANDERSON, 2000). As espécies de ocorrência descrita nos bovinos no Brasil são: *O. ostertagi*, *O. lyrata* (Sjoberg, 1926), *O. circumcincta* (Stadelmann, 1894) e *O. trifurcata* (Ransom, 1907) (VICENTE et al., 1997). Os exemplares adultos de *O. ostertagi* são finos e avermelhados, os machos medem cerca de seis a oito milímetros (mm) e as fêmeas de oito a nove mm de comprimento (TAYLOR et al., 2010).

Após a infecção, as L₃ desembainham e penetram nas glândulas gástricas abomasais, principalmente nas regiões fúndicas e pilóricas, onde formam pequenos nódulos e se desenvolvem em L₄. Após aproximadamente 18 dias, a L₄ emerge e torna-se sexualmente madura na superfície da mucosa. Esse mecanismo provoca alterações patológicas e bioquímicas importantes (HOLMES, 1985; ANDERSON, 2000; TAYLOR et al., 2010).

Tais alterações no abomaso são evidenciadas pela redução na secreção de ácido gástrico e um aumento de pepsinogênio e gastrina circulantes (FOX, 1993; LAWTON et al., 1996; FOX, 1997). A redução do ácido gástrico parece ser devido à substituição de células parietais funcionais por células jovens com atividade reduzida (FOX, 1997), o que por sua vez compromete a função do órgão. Apesar de não ser totalmente claro, tem sido sugerido que a elevação das

concentrações circulantes de gastrina em consequência do parasitismo pode prejudicar a contratilidade da musculatura lisa, afetando a motilidade retículo-ruminal e retardando o esvaziamento abomasal. Sendo assim, essa disfunção do sistema digestivo poderia causar uma estase da ingesta e possível redução no consumo voluntário de alimento. Portanto, sinais clínicos comuns nos casos de ostertagiose são: inapetência, perda de peso e depleção dos depósitos de gordura (FOX, 1993). Além disso, a hipergastrinemia também parece ser parcialmente responsável pelas alterações hiperplásicas observadas na mucosa fúndica do abomaso (ANDERSON et al., 1988). Em alguns casos, também são observados quadros de hipoalbuminemia, que podem ocorrer devido a um aumento da permeabilidade do epitélio abomasal, que leva ao extravasamento de proteínas plasmáticas para o lúmen intestinal. O aumento do pH também resulta em falha na ativação do pepsinogênio em pepsina e perda do efeito bacteriostático do abomaso (TAYLOR et al., 2010).

Em relação às lesões no órgão, Satrija e Nansen (1993) em um estudo experimental com bezerros infectados por *O. ostertagi*, observaram alterações macroscópicas importantes na mucosa abomasal caracterizadas por edema, hemorragia e formação de pequenos nódulos típicos de ostertagiose crônica. Essa aparência característica da parede da mucosa pregueada pela formação de nódulos é popularmente denominada de “couro marroquino” e é sinal patognomônico da doença (BOWMAN et al., 2010).

2.1.2 *Haemonchus* spp.

Considerado um dos helmintos mais patogênicos em ruminantes, este parasita se destaca pelo seu hábito de hematofagia, responsável por causar anemia de graus variáveis. As espécies de ocorrência em bovinos são: *H. placei*, *H. similis* e também *H. contortus* (AMARANTE et al., 1997; ACHI et al., 2003). No entanto, o *H. contortus* parece ser melhor adaptado aos pequenos ruminantes, e aparentemente é eliminado de forma natural ao longo do tempo em bovinos (AMARANTE et al., 1997). Os parasitas adultos são avermelhados e medem de dois a três centímetros (cm), podendo ser facilmente observados a olho nu (TAYLOR et al., 2010).

Assim como nos casos de infecção por *O. ostertagi*, há evidências de que *Haemonchus* spp. também provoque alterações nas secreções gástricas. Simpson et al. (1997) inseriram exemplares adultos de *H. contortus* diretamente no abomaso de ovelhas. Houve rápida elevação do pH abomasal, e nas concentrações séricas de pepsinogênio e gastrina. Sendo este mecanismo, como anteriormente citado, associado à inapetência e emagrecimento (FOX, 1997).

Na região Sudoeste do Paraná, Hossa et al. (2013), por meio de sinais clínicos e achados macroscópicos, descreveram um quadro típico de hemoncose em um bovino de corte da raça nelore de dois anos de idade. O animal apresentava apatia, mucosas pálidas, perda de peso e edema submandibular, mas sem diarreia. Na necropsia, o abomaso apresentou um aumento de volume, e, se evidenciou uma mucosa avermelhada com dobras espessadas e edemaciadas. O conteúdo abomasal era líquido, de coloração vermelho-amarronzado, com presença de parasitos compatíveis com *Haemonchus* spp. Além disso, as vísceras em geral se apresentavam moderadamente pálidas.

A apresentação das mucosas e vísceras pálidas ocorre devido à perda contínua de sangue pela ingestão e pelo extravasamento provocado pela ação direta do parasita na parede abomasal. Como resultado, a redução do hematócrito, da hemoglobina e da contagem total de eritrócitos pode ser evidenciada, como mostrado por Bordoloi et al. (2012) em infecção experimental de ovelhas por *H. contortus*. Além disso, outros achados laboratoriais descritos pelos mesmos autores incluíram a hipoalbuminemia e hipoproteïnemia provocadas pela perda de proteínas plasmáticas para a luz do órgão, que se apresenta clinicamente pelo edema de face e submandibular (HOLMES, 1985). Episódios de diarreia não são comuns, no entanto, quando ocorrem, são agudos e com fezes de coloração escura (TAYLOR et al., 2010).

2.1.3 *Trichostrongylus axei*

Entre as espécies de *Trichostrongylus*, *T. axei* é a única que parasita o abomaso. Além disso, é a espécie desse gênero de maior ocorrência nos bovinos do Brasil. Muitas vezes, a consequência da sua infecção é negligenciada dada a importância da patogenicidade de *Ostertagia* spp. e *Haemonchus* spp. No

entanto, este nematódeo, também causa prejuízos significativos na saúde animal. Os exemplares adultos são pequenos e de coloração avermelhada. Os machos medem cerca de três a seis mm e as fêmeas de quatro a oito mm de comprimento (TAYLOR et al., 2010).

O parasitismo por *T. axei* pode ser evidenciado pela formação de lesões circulares ou em placa na mucosa abomasal. Quadros de hipoalbuminemia e hiperglobulinemia, além de alterações no pH semelhante à patogenia de *Ostertagia* spp. com aumento das concentrações séricas de pepsinogênio podem estar presentes (ROSS et al., 1967).

Gibson (1954) realizou um estudo da patogenia de *T. axei* em cordeiros com oito meses de idade mantidos em condições nutricionais não favoráveis. Apesar de todos os cordeiros terem sido contaminados com doses de larvas infectantes semelhantes, os animais responderam de forma diferente ao desafio parasitário, demonstrando a capacidade individual de resistência. Nos animais infectados observou-se emagrecimento. Na necropsia, os abomasos apresentaram desde discreta inflamação até gastrite grave. Além disso, anemia e discreta neutrofilia foram observados nos animais gravemente afetados.

2.2 Intestino delgado

2.2.1 *Cooperia* spp.

O gênero *Cooperia* spp. possui diversas espécies que parasitam os bovinos, como: *C. punctata*, *C. pectinata*, *C. spatulata* (Baylis, 1938), *C. curticei* (Railliet, 1893) e *C. oncophora* (VICENTE et al., 1997). No Brasil, a espécie de maior prevalência é *C. punctata* (LANDIM et al., 2001; SANTOS et al., 2010). Os parasitas adultos machos medem de 4,5 a 6 mm enquanto as fêmeas medem de seis a oito mm de comprimento (TAYLOR et al., 2010).

Uma investigação realizada por Coop et al. (1979) avaliou a patogenicidade de *C. oncophora* em bezerros experimentalmente infectados com diferentes doses de larvas infectantes. O objetivo foi avaliar se a infecção provocada por esse parasita poderia afetar a taxa de crescimento, o consumo voluntário de alimento, concentrações de constituintes séricos (proteína total, albumina,

globulina, ureia, cálcio, fósforo e magnésio), bem como a morfologia intestinal. Ao se comparar os animais infectados *versus* controle, houve diminuição do ganho de peso e discreta hipoalbuminemia nos animais infectados com maior número de L₃. Não foram observados quaisquer sinais clínicos durante o período experimental. No entanto, alguns animais apresentaram fezes amolecidas, especialmente na terceira semana após infecção, coincidindo com o momento em que foi observado o início da eliminação de ovos nas fezes. À necropsia dos animais, as alterações da mucosa intestinal estiveram confinadas ao primeiro quartil do intestino delgado e estavam restritas às áreas circunvizinhas à presença do parasita, consistindo em compressão e distorção das vilosidades.

Na infecção experimental com *C. punctata* em bezerros (RODRIGUES et al., 2004), os resultados foram semelhantes aos de Coop et al. (1979). A maioria dos parasitas foi encontrada no terço inicial do intestino delgado. Além disso, foi observada a presença de intenso infiltrado inflamatório, com grande número de eosinófilos e neutrófilos.

Satrija e Nansen (1993), em infecção experimental em bezerros por *C. oncophora*, descreveram episódios de diarreia aquosa durante o período experimental e no momento da necropsia observaram alterações macroscópicas como graus variados de hiperemia, hemorragia e espessamento da mucosa do intestino delgado.

Recentemente, Stromberg et al. (2012) realizaram a infecção experimental em bezerros por *C. punctata* e compararam as alterações à um grupo testemunha. Em relação aos achados anatomopatológicos, foram observados linfonodos mesentéricos aumentados, espessamento da mucosa do intestino delgado e maior quantidade de muco. Além disso, o consumo de matéria seca, bem como o ganho de peso foi inferior nos animais parasitados quando comparados ao controle.

2.2.2 *Trichostrongylus* spp.

Para o gênero *Trichostrongylus* spp., as principais espécies que ocorrem no intestino delgado de bovinos são: *T. colubriformis* (Giles, 1852) e *T. longispicularis* (Gordon, 1933). Os exemplares adultos de *T. colubriformis* machos

e fêmeas medem de quatro a 5,5 mm e 5,5 a 7,5 mm de comprimento, respectivamente (TAYLOR et al., 2010).

A patogenia de *T. colubriformis* foi descrita em detalhes por Barker (1975) em infecção experimental em cordeiros. O maior número de parasitas foi observado na porção inicial do intestino delgado. Quanto ao desenvolvimento dos nematódeos, três dias após a infecção, as L₃ foram observadas em torno da base das vilosidades, além disso, se observou encurtamento das vilosidades e alongamento das criptas. No oitavo dia após infecção, as larvas de quarto estágio escavavam túneis no epitélio, as criptas estavam mais retas e dilatadas quando comparadas aos animais não infectados, e as vilosidades se apresentavam irregulares e espessadas. No 12º dia após infecção, havia larvas no início da quinta fase e as alterações no intestino delgado eram bastante evidentes, com vilosidades atrofiadas, criptas retas e dilatadas. As descontinuidades do epitélio incluíam pequenas erosões, e a lâmina própria apresentava alta celularidade, composta principalmente por mononucleares. No 16º dia após infecção, os parasitas eram encontrados no interior dos túneis epiteliais superficiais, e algumas fêmeas se apresentavam gravídicas. Esta fase se caracterizou por agravamento das lesões, marcada por intensa atrofia das vilosidades e erosões mais intensas da mucosa, com infiltrado inflamatório.

Adicionalmente, lesões no intestino delgado causadas por *T. colubriformis* foram descritas recentemente por Trapani et al. (2013) em cabras naturalmente infectadas. Microscopicamente foram observados moderado/marcado achatamento das vilosidades com perda focal ou generalizada do epitélio superficial. Ocasionalmente, foram observados encurtamento e fusão das vilosidades. Na lâmina própria, foram observadas células inflamatórias como linfócitos e macrófagos.

Em cordeiros, foram observadas perda de peso, inapetência e hipoproteinemia, aproximadamente 10-12 dias após infecção (BARKER, 1973).

2.2.3 *Strongyloides papillosus*

Os exemplares adultos de *S. papillosus* são delgados e geralmente possuem menos de um cm de comprimento, e são encontrados fixados em túneis no epitélio na base das vilosidades intestinais (TAYLOR et al., 2010).

Ziomko (2000) contaminou experimentalmente cordeiros, via subcutânea com larvas infectantes de *S. papillosus*. Ao comparar o grupo de animais infectados *versus* controle, observou alterações hematológicas a partir da segunda semana após infecção, dentre elas: diminuição do número de eritrócitos, das concentrações de hemoglobina, do percentual de hematócrito e da contagem total de leucócitos. Além disso, durante o período experimental, todos os cordeiros infectados demonstraram perda de peso comparado ao grupo controle, e dos 14 cordeiros infectados, oito foram a óbito. Na necropsia foram observadas pneumonia focal e lesões inflamatórias hemorrágicas no intestino delgado.

Em outro estudo, Ziomko (2003) demonstrou alterações histopatológicas em infecção subcutânea experimental de *S. papillosus* em cordeiros. No pulmão, houve espessamento da parede dos alvéolos com presença de infiltrado inflamatório celular. No intestino delgado, observou-se necrose e destruição das vilosidades. Além disso, a perda de peso foi notada nos animais infectados quando comparados ao grupo controle.

No Japão, Taira e Ura (1991) relataram o óbito súbito de 152 bezerros de três fazendas que utilizavam serragem como cama. A faixa etária da maioria dos animais era de dois a cinco meses de idade e não demonstravam quaisquer sinais clínicos de parasitismo. Na necropsia, os animais apresentaram elevada carga parasitária por *S. papillosus* no intestino delgado e moderado número de larvas migratórias desse parasita foi encontrado em diversos tecidos como: pulmões, olhos e membros.

2.3 Intestino Grosso

2.3.1 *Oesophagostomum radiatum*

Este nematódeo também é conhecido popularmente como “verme nodular”, devido a sua característica de formação de nódulos intestinais provocados pelo encapsulamento das larvas parasitárias com intensa resposta inflamatória no tecido do hospedeiro (BOWMAN et al., 2010). Os parasitas adultos são esbranquiçados e delgados, os machos medem entre 12-17 mm e as fêmeas de 16-22 mm de comprimento (TAYLOR et al., 2010).

Quanto à patogenia do parasita, um estudo de infecção experimental em bezerros foi conduzido por Bremner (1961), que descreveu que a patogenicidade da infecção era causada pelos estágios imaturos do parasita, sendo as alterações mais graves presentes quando os nematódeos estavam no início do desenvolvimento do quinto estágio. Os sinais clínicos da doença observados durante o período experimental foram: anorexia, perda de peso, edema submandibular e diarreia. Além disso, alguns animais exibiram presença de sangue e muco nas fezes. Os achados laboratoriais incluíram anemia e hipoproteinemia.

Em infecção experimental em bezerros, Bremner (1970), observou que a hemorragia intestinal pareceu ser a principal causa de anemia associada com infecção pelo *O. radiatum*. A hemorragia começou a partir de 19-20 dias após infecção e continuou até 12 semanas após a infecção. Além disso, o cólon pareceu ser o órgão com maior perda de sangue. Adicionalmente, Bremner e Keith (1970), realizaram a infecção experimental em bezerros com exemplares adultos de *O. radiatum* diretamente no ceco. Constatou-se que a ação direta dos parasitas causou hemorragia intestinal nos animais.

2.4 Traqueia e brônquios

2.4.1 *Dictyocaulus viviparus*

Embora *D. viviparus* seja relatado em todo o mundo, este parasita parece ser mais importante em regiões temperadas úmidas (PLOEGER, 2002), sendo responsável por causar pneumonia verminótica. Os exemplares adultos são delgados e visíveis a olho nu. Os machos medem de 4,0 – 5,5 cm e as fêmeas 6 – 8 cm de comprimento (TAYLOR et al., 2010).

A patogenia da dictiocaulose pode ser dividida em quatro fases: 1) penetração, 2) pré-patente, 3) patente e 4) pós-patente. A primeira fase é caracterizada pela ingestão e migração das larvas para os pulmões e não são observadas quaisquer alterações patológicas importantes, ou sinais clínicos, e tem duração de um a sete dias. Na fase pré-patente (sete a 25 dias), as larvas alcançam as vias respiratórias e se iniciam as alterações patológicas. Há o aparecimento dos primeiros sinais clínicos da infecção, que se caracterizam por tosse e taquipneia, e enfisema pulmonar. Nas vias aéreas, há produção de muco, colapso de alvéolos, e a presença de exsudato eosinofílico pode ocasionar a obstrução de bronquíolos.

A fase patente (25 a 55 dias) se caracteriza pelo amadurecimento dos parasitas adultos e reprodução nos brônquios e traqueia, ocorrendo lesões no epitélio destas estruturas. As vias aéreas ficam comprometidas pela presença de exsudato e se observam sinais clínicos como: bronquite, traqueíte, pneumonia, tosse, dispneia, febre, perda de condição corpórea e eliminação de L₁ nas fezes. Por fim, a última fase é a de recuperação do animal, que resulta na morte e eliminação dos parasitas com consequente diminuição e desaparecimento dos sinais clínicos e L₁ nas fezes. Entretanto, pode haver fibrose peribronquial (PANUSKA, 2006). Nesta última fase, em 25% dos casos de animais gravemente infectados, pode haver exacerbação dos sinais clínicos, culminando com a morte do hospedeiro (TAYLOR et al., 2010).

Após exposição ao parasita, o sistema imunológico dos animais modula uma resposta bastante eficaz, prevenindo que larvas ingeridas alcancem, se estabeleçam e se desenvolvam nas vias aéreas (MICHEL, 1956; JARRET et al. 1959).

Na Holanda, Boon et al. (1984) realizaram um estudo com infecção experimental em bezerros, separados em 10 grupos e desafiados com diferentes números de larvas infectantes de *D. viviparus*. Foram avaliados os efeitos parasitológicos, sorológicos e clínicos nesses animais. Quanto aos resultados parasitológicos, as L₁ foram diagnosticadas nas fezes a partir da quarta semana após infecção, com maior pico de eliminação na sétima semana, e um aumento linear do número de excreção de larvas foi associado com um maior grau de infecção. Ao final do experimento (décima semana), foi feita a eutanásia de dois animais de cada grupo e esse aumento linear também foi observado, pois um maior número de larvas foi recuperado nos animais submetidos a maior carga parasitária de larvas infectantes. Em relação aos resultados sorológicos, os títulos de anticorpos também começaram a se elevar a partir da quarta semana após a infecção. Assim, a técnica sorológica utilizada (ELISA) mostrou-se uma boa ferramenta para a detecção do grau de infecção. Em contrapartida, os sinais clínicos e a perda de peso foram evidentes a partir da segunda semana após a infecção, momento em que ainda não haviam sido observadas alterações parasitológicas ou sorológicas, demonstrando que geralmente os prejuízos à saúde animal acontecem antes do diagnóstico da infecção. Ademais, a gravidade dos sinais clínicos dependeu do número de larvas ingeridas, pois o grau de infecção teve efeito significativo sobre a frequência da respiração abdominal, presença de sibilos à auscultação e inapetência. Além disso, dois animais foram a óbito no grupo desafiado com alta carga parasitária.

No Rio Grande do Sul, no município de Santa Maria, Silva et al. (2005) descreveram um surto de dictiocaulose em 15 bezerros de corte de cinco a sete meses de idade. Os animais apresentaram anorexia, perda de peso, tosse, taquipneia, dispneia, respiração abdominal e secreção nasal serosa. Dois animais foram a óbito e na necropsia observou-se que se tratava de um quadro típico de parasitose por *D. viviparus*. Na porção final da traqueia e nos brônquios havia significativa quantidade de espuma repleta de parasitas esbranquiçados e filiformes com oito a 10 cm de comprimento. Nos pulmões se observou enfisema e atelectasia. Na microscopia, o epitélio brônquico estava moderadamente hiperplásico e havia hiperplasia com acúmulos linfóides peri-brônquicos (BALT). Na luz dos bronquíolos havia extenso infiltrado inflamatório formado por eosinófilos, que em alguns casos provocava a total obstrução destes. Os alvéolos

apresentavam fibrina e edema. Além disso, havia a presença de ovos e larvas circundados por células inflamatórias no interior dos alvéolos.

Adicionalmente, Gonçalves et al. (2000), avaliaram os aspectos clínicos e epidemiológicos relacionados à broncopneumonia em bezerros de até 12 meses de idade, por meio de um levantamento dos registros clínicos de casos atendidos durante 1980 e 1991 na região de Botucatu. A dictiocaulose foi responsável por 10,53% dos casos de broncopneumonia, sendo observada nos animais a partir dos seis meses de idade.

3 Bioquímica clínica em ruminantes

3.1 Perfil Proteico

As proteínas plasmáticas exercem inúmeras funções fundamentais para o organismo. De maneira geral, formam a base da estrutura de células, órgãos e tecidos, atuam na manutenção da pressão osmótica, na catalisação de uma série de reações bioquímicas, no equilíbrio ácido-básico, na coagulação sanguínea, na defesa do organismo contra patógenos, na regulação do metabolismo celular e no transporte de metabólitos. Em condições normais, as proteínas são constantemente produzidas e utilizadas. No entanto, em doenças inflamatórias e/ou infecciosas, há alterações na produção e secreção de diversas proteínas, como é o caso das proteínas de fase aguda (PFA's) em que a produção é estimulada ou diminuída com o objetivo de reestabelecer a homeostase do organismo (KANEKO, 1997; ECKERSALL, 2008).

3.1.1 Proteínas de Fase Aguda (PFA's)

As PFA's são um grupo de proteínas circulantes produzidas principalmente pelo fígado e em outros tecidos como: intestino, pulmões e tecido adiposo. Adicionalmente, em ruminantes, a glândula mamária também é um local de síntese de PFA's (CECILIANI et al., 2012). Suas funções primordiais são o reestabelecimento da homeostase, reparação dos tecidos e controle do crescimento microbiano (MURATA et al., 2004).

As concentrações séricas das PFA's podem ser alteradas até 25% frente a diferentes estímulos, como: inflamação, infecção, estresse ou trauma. Este fenômeno é denominado de resposta de fase aguda, caracterizado por uma resposta sistêmica inespecífica precoce, estimulada pela liberação das citocinas pró-inflamatórias: interleucina – 1 (IL -1), interleucina – 6 (IL – 6), e o Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF – α), que são liberadas para a circulação (MURATA et al., 2004; CÉRON et al., 2005; ECKERSALL, 2008). Essas citocinas são liberadas principalmente por macrófagos. No entanto, outros tipos celulares são capazes de promover a liberação dessas citocinas em resposta a vários estímulos

externos e/ou internos. Um exemplo são as células Kupffer e os queratinócitos. Além disso, a ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) pelo estresse, pode, aparentemente, induzir a síntese hepática de PFA's (MURATA et al., 2004). A magnitude da alteração é proporcional à intensidade do dano, podendo variar de acordo com o estímulo e a resposta individual do animal (CECILIANI et al., 2012).

As PFA's podem ser classificadas como positivas e negativas, quando suas concentrações aumentam ou diminuem, em resposta ao estímulo, respectivamente (MURATA et al., 2004). Segundo Ceciliani et al. (2012), em ruminantes, as PFA's positivas são: haptoglobina (Hp), amiloide A Sérico (SAA), alfa-1glicoproteína ácida (AGP), ceruloplasmina (Cp) e fibrinogênio (Fb), enquanto que as negativas são: albumina e paraoxonase - 1 (PON-1).

As PFA's positivas são classificadas em *major* (principais), *moderate* (moderadas) e *minor* (menores) de acordo com a magnitude do seu aumento e duração de elevação das suas concentrações séricas frente à injúria (ECKERSALL e BELL, 2010). As PFA's *major* aumentam a concentração sérica aproximadamente 100-1000 vezes após a estimulação, atingindo um pico máximo em 24-48 horas e depois suas concentrações declinam rapidamente. PFA's *moderate* aumentam em 5-10 vezes, apresentando um pico em dois a três dias após a injúria, e diminuição mais lenta quando comparadas as PFA's *major*. As PFA's *minor* aumentam mais tardiamente e de maneira gradativa, menos do que duas vezes sua concentração (MURATA et al., 2004; ECKERSALL, 2008). A inflamação crônica pode ser percebida como uma série de estímulos inflamatórios consecutivos. Em tais condições, o aumento ou diminuição nas concentrações séricas de PFA's podem ser observados, porém, são menos evidentes do que durante episódios inflamatórios agudos (PETERSEN et al., 2004). Em ruminantes, Hp e SAA são PFA's *major*. A AGP, Cp e Fb são consideradas PFA's *moderate* (CECILIANI et al., 2012).

A Hp é uma PFA *major* e caracteriza-se em uma glicoproteína composta por 2 α (16 a 23 kDa) e 2 β subunidades (35 a 40 kDa) ligadas por pontes dissulfeto (ECKERSALL, 2008). A principal função desta proteína é atuar como um antioxidante, uma vez que sua atividade está relacionada com a formação do complexo Hp – Hemoglobina (Hb), responsável pela remoção da Hb livre no sangue. Um efeito bacteriostático indireto têm sido atribuído a Hp, uma vez que a

partir da remoção da Hb livre, reduz a disponibilidade de ferro utilizado por bactérias como substrato. O complexo Hp – Hb é reconhecido por receptores de superfície de macrófagos denominados de CD163, responsáveis pela sua remoção. Além disso, parece ter grande importância na angiogênese e efeito imunomodulador (LEVY et al., 2010; CECILIANI et al., 2012). Em ruminantes, a Hp está presente em concentrações baixas no sangue de animais saudáveis (ECKERSALL, 2008).

O SAA é uma PFA *major*, e constitui-se em uma apolipoproteína com peso molecular de 15 kDa (CÉRON et al., 2005), apresentando quatro isoformas. SAA-1 e SAA-2 são as principais formas circulantes, sendo produzidas no fígado após a sinalização pelas citocinas pró-inflamatórias. A isoforma SAA-3 é produzida nos tecidos extra-hepáticos, como a glândula mamária. A isoforma SAA-4 é uma proteína constitutiva presente em baixa concentração no sangue e não é considerada uma PFA (ECKERSALL, 2008; CECILIANI et al., 2012). Se tratando de uma apolipoproteína, apresenta uma capacidade de ligação ao HDL. Assim, promove a absorção e remoção do colesterol a partir do local de inflamação, evitando seu acúmulo em placas ateroscleróticas. Além disso, desempenha um papel quimioatrator, auxiliando na migração e adesão de monócitos e neutrófilos nos tecidos. Pode também regular positivamente a produção de mucinas intestinais evitando a aderência de bactérias, principalmente *E. coli*. Apresenta atividade antibacteriana, atuando na opsonização contra bactérias *Gram* positivas e *Gram* negativas (CECILIANI et al., 2012).

A AGP é uma PFA *moderate* e constitui-se em uma glicoproteína com peso molecular de 20,5 kDa. É uma importante proteína de transporte no sangue, ligando-se a inúmeros metabólitos. As moléculas que podem ser carregadas por essa PFA são de origem endógena ou exógena, como por exemplo, mediadores inflamatórios e medicamentos. Possui atividade imunomoduladora, principalmente em leucócitos, sendo considerada uma potente proteína de ação anti-inflamatória. Pode também proteger o organismo contra as bactérias de forma não-específica (MURATA et al. 2004; CECILIANI et al. 2012). AGP é uma PFA clinicamente importante em bovinos e tem sido empregada na monitorização de processos inflamatórios (MURATA et al., 2004).

O fibrinogênio (Fb) é uma PFA *moderate* de elevado peso molecular (340 kDa), e constitui cerca de 5% da proteína total do plasma. Participa da

homeostase do organismo, uma vez que fornece substrato para a formação de fibrina, atua na coagulação, na reparação de tecidos e também auxilia a migração das células ao local da inflamação. Fb é rotineiramente utilizado em ruminantes como um indicador de processos inflamatórios e infecciosos (MURATA et al. 2004; ECKERSALL, 2008).

Em doenças parasitárias em ruminantes, houve investigações a partir da avaliação das PFA's. Gånheim et al. (2004), avaliaram a resposta de fase aguda (Hp, SAA e Fb) em bezerros experimentalmente infectados por *D. viviparus*, com aumento significativo nas concentrações séricas dessas PFA's. Lassen et al. (2015), avaliaram o perfil de Hp e SAA em infecção experimental em bezerros com oocistos de *Eimeria zuernii*. Os resultados demonstraram um aumento nas concentrações séricas de ambas as PFA's, entretanto, Hp pareceu ser um marcador mais sensível do que SAA.

Nazifi et al. (2009), avaliaram o perfil de Hp, SAA, Cp e Fb em bovinos naturalmente infectados por *Theileria annulata*. Os resultados demonstraram aumento das concentrações das PFA's. Adicionalmente, conseguiram demonstrar que quanto maior o grau de parasitemia, maior a elevação das concentrações dessas proteínas. El-Deeb e Iacob (2012), corroboraram seus achados com Nazifi et al. (2009), pois observaram elevações nas concentrações de Hp, SAA, Cp, Fb e AGP em bubalinos infectados por este mesmo parasita.

Nazifi et al. (2012), investigaram as concentrações de Hp, SAA, Cp e Fb em bovinos naturalmente infectados por *Anaplasma marginale*. Observaram um aumento significativo nas concentrações dessas PFA's nos animais parasitados quando comparados ao grupo controle.

A elevação nas concentrações de Hp e SAA também foi demonstrada em cabras portadoras de infecções mistas por nematódeos gastrintestinais e *Fasciola* spp. (ULUTAŞ et al., 2008), e em infestação experimental em ovelhas com *Psoroptes ovis* (WELLS et al., 2013).

Adicionalmente, o emprego de PFA's em bezerros tem sido proposto como ferramenta auxiliar no monitoramento da sanidade dos rebanhos (GÂNHEIM et al., 2007). Thotová et al. (2012) avaliaram as concentrações de Hp, SAA e Fb em bezerros acometidos por várias enfermidades, como: doenças respiratórias, umbilicais, multisistêmicas e diarreia. Foi verificada a elevação das concentrações das PFA's do grupo acometido por doenças respiratórias em relação ao grupo

controle. Idoate et al. (2015), observaram elevação nas concentrações séricas de Hp e lipopolissacarídeo ligado à proteína (LBP) em bezerros acometidos por doenças respiratórias. Em outro estudo, Seppä-Lassila et al. (2013), observaram elevação nas concentrações de Hp, SAA e Fb em bezerros acometidos por infecções umbilicais quando comparados aos animais sadios.

A albumina é uma PFA negativa e é a proteína mais abundante encontrada no sangue, constituindo até 50% da concentração da proteína total. Apresenta um peso molecular de 67 kDa. É responsável pela manutenção da pressão osmótica coloidal e também pela regulação do volume sanguíneo. Além disso, desempenha um papel fundamental na distribuição dos fluidos entre os compartimentos. É sintetizada no citoplasma dos hepatócitos, com regulação pela diminuição da pressão osmótica, ou durante alterações patofisiológicas, quando sua produção pode ser diminuída. Ademais, realiza o transporte de ácidos graxos, colesterol, pigmentos biliares, óxido nítrico, metais e drogas como: digoxina, antibióticos e anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) (EVANS, 2002; ECKERSALL, 2008).

De acordo com Russel e Roussel (2007), a hipoalbuminemia ocorre quando há perda excessiva de albumina ou se a produção hepática está comprometida, por aumento de consumo ou produção insuficiente.

Segundo Morris e Johnston (2006), em ruminantes, os casos de hipoalbuminemia são usualmente atribuídos à perda intestinal, seja pelo aumento da permeabilidade da mucosa, ulceração ou exsudação devido à inflamação. Assim, o parasitismo gastrointestinal, pode ser considerado como uma causa comum relacionada à perdas de albumina. Além disso, a absorção e digestão proteica nos casos de parasitismo podem ser prejudicadas (RUSSEL e ROUSSEL, 2007).

Em relação às infecções provocadas por parasitas, Anderson et al. (1977) demonstraram em infecção experimental com *Fasciola hepatica* em bezerros, um aumento das concentrações séricas de proteína total, com hipoalbuminemia e hiperglobulinemia. Singh et al. (2001) em bezerros experimentalmente infectados, e El-Deeb e Iacob (2012) em bubalinos naturalmente infectados por *Theileria annulata*, observaram hipoproteinemia e hipoalbuminemia. Adicionalmente, hipoproteinemia e hipoalbuminemia também foram relatadas em bezerros experimentalmente infectados por *Salmonella* sorotipo Typhimurium (SANTOS et al., 2002).

A PON – 1 é uma PFA negativa com peso molecular de 43 kDa (MIYAMOTO et al., 2005). É uma hidrolase de ésteres dependente de cálcio sintetizada exclusivamente no fígado e secretada na circulação. Está associada a lipoproteínas de alta densidade (HDL), contribuindo para a proteção contra a oxidação de lipídios tóxicos de lipoproteínas de baixa densidade (LDL). Além disso, possui a função de catalisar a hidrólise de alguns xenobióticos, como os organofosforados (COSTA et al., 2005). A PON – 1 é um biomarcador de interesse na medicina veterinária, uma vez que apresentou resultados importantes em investigações com estresse oxidativo, inflamação e distúrbios hepáticos (CÉRON et al., 2014).

Giordano et al. (2013), realizaram uma investigação sobre a atividade de PON – 1 relacionadas à idade e sua utilidade no auxílio diagnóstico de doenças em bezerros. Os resultados demonstraram um decréscimo das concentrações séricas de PON -1 em bezerros com menos de sete dias de idade e em bovinos jovens (28 a 120 dias de idade) acometidos por diarreia e doença respiratória, respectivamente, quando comparados aos animais sadios. Além disso, em ruminantes, a determinação das concentrações de PON-1 foi relacionada com o metabolismo lipídico e estresse oxidativo, sendo um indicador de distúrbios metabólicos em vacas leiteiras no período de transição (TURK et al., 2005; FARID et al., 2013).

3.1.2 Lipoproteínas

As lipoproteínas são formadas por lipídios e proteínas. Sua síntese ocorre exclusivamente no fígado e intestino delgado. Na formação estrutural de uma lipoproteína, no seu centro são encontradas as moléculas menos polares (triglicérides e colesterol), que são revestidos por uma camada de moléculas mais polares, denominadas de apolipoproteínas. São classificadas de acordo com a sua densidade, sendo que quanto maior a proporção de lipídios presente, menos densa será essa molécula. Assim, são conhecidas como: lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), que é precursora da lipoproteína de baixa densidade (LDL), e lipoproteína de alta densidade (HDL). As funções atribuídas às lipoproteínas são a participação na esterificação do colesterol e, principalmente, o

transporte de lipídios entre o fígado e os tecidos. VLDL e LDL distribuem o colesterol, triglicérides e fosfolipídios do fígado e intestino delgado para os tecidos periféricos, enquanto que a função do HDL é fazer o caminho reverso, ou seja, remover o colesterol em excesso, e promover seu retorno para o fígado (BRUSS, 2008).

3.2 Perfil lipídico

O perfil lipídico pode ser avaliado a partir da determinação das concentrações das lipoproteínas (VLDL, LDL e HDL), triglicérides e colesterol total.

Os triglicérides compõe a principal forma de armazenamento de ácidos graxos. São produzidos por diversos tipos de células, mas o fígado, tecido adiposo e mamário são os principais locais de síntese (BRUSS, 2008).

O colesterol é um precursor de hormônios esteroidais, vitamina A e ácidos biliares. Além disso, é componente das membranas celulares e micelas biliares. A maior parte do colesterol é sintetizada no fígado, sendo acetil – CoA o substrato para a sua produção (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2002).

A determinação das concentrações de triglicérides e colesterol, de maneira geral, pode auxiliar na avaliação do metabolismo energético do animal. Em particular, nos casos de parasitismo, determinar parâmetros do perfil lipídico, pode ser útil como auxílio no diagnóstico. Uma vez que podem ser observados quadros de anorexia, bem como lesões na mucosa intestinal, que comprometem a absorção e digestão de nutrientes, alterando, desta forma, as concentrações séricas desses constituintes.

Em bezerros infectados experimentalmente por *Theileria annulata* houve diminuição nas concentrações séricas de colesterol e triglicérides, possivelmente associados à anorexia, hipertermia e diarreia (SINGH et al., 2001). Estes achados estão de acordo com El-Deeb e Iacob (2012), em bubalinos naturalmente infectados *T. annulata*. Houve um decréscimo das concentrações de VLDL, HDL, colesterol e triglicérides.

3.3 Perfil Enzimático

3.3.1 Perfil pancreático

3.3.1.1 Lipase e amilase

A lipase (EC 3.1.1.3) é uma enzima de origem pancreática de baixo peso molecular (~ 42 kDa). Sua função é catalisar a hidrólise de triglicerídeos em presença de sais biliares e do cofator co-lipase. Atua liberando dois ácidos graxos e um monoglicerídeo. A amilase (EC 3.2.1.1), além do pâncreas, também é produzida no intestino delgado e no fígado. Assim como a lipase, apresenta um baixo peso molecular (~ 45 kDa) e atua na digestão de amido. Ambas as enzimas são geralmente utilizadas para a triagem e diagnóstico de doenças pancreáticas (KRAMER e HOFFMANN, 1997; HOFFMANN e SOLTER, 2008).

A literatura é escassa, especialmente em relação ao parasitismo, quanto às concentrações séricas da lipase e amilase em bezerros. Há alguns estudos avaliando a lipase e amilase no período pós-natal inicial em bezerros (SURYNEK, 1974), em animais submetidos a diferentes tipos de alimentação (SURYNEK, 1975; NUTTING et al., 1992) e em vacas gestantes com hipomagnesemia (CSEH et al., 1984).

3.3.2 Colinesterases

As colinesterases são enzimas, e dois tipos distintos são encontrados em mamíferos e apresentam importância diagnóstica: Acetilcolinesterase (AChE) (EC 3.1.1.7) ou “colinesterase verdadeira” e Butirilcolinesterase (BChE) (EC 3.1.1.8) ou “pseudo-colinesterase”. A AChE apresenta atividade no cérebro, nervos e eritrócitos. Sua ação é catalisar a hidrólise de acetilcolina (ACh) no interior das sinapses colinérgicas do cérebro e do sistema nervoso autônomo (KRAMER e HOFFMANN, 1997).

A BChE, além do sistema nervoso, apresenta atividade na pele, no sangue, no pâncreas, na musculatura lisa do trato gastrointestinal e no fígado. Sua função é hidrolisar outros ésteres (KRAMER e HOFFMANN, 1997; DAS et al., 2007).

Segundo Das et al. (2007), AChE e BChE podem ser utilizadas como marcadores para detectar distúrbios inflamatórios discretos. Pois a ACh, além de neurotransmissor, atua na regulação do sistema imune, sendo uma molécula anti-inflamatória, que age suprimindo a produção de mediadores inflamatórios. Desta forma, quando as atividades de AChE e BChE estiverem elevadas no soro ou tecidos, haverá uma diminuição das concentrações de ACh, potencializando assim, o processo inflamatório.

Em ruminantes, as investigações no uso dessas duas enzimas como biomarcadores são limitadas. Em enfermidades parasitárias, Sharma e Tripathi (1984), avaliaram a atividade de AChE eritrocitária em bezerros esplenectomizados, experimentalmente infectados por *Anaplasma marginale*. Os resultados demonstraram que houve uma diminuição significativa da atividade de AChE nos eritrócitos.

Recentemente, Schwertz et al. (2016), investigaram a atividade de AChE (sangue total e pâncreas) e BChE (soro e pâncreas) de bovinos naturalmente infectados pelo *Eurytrema coelomaticum*. Os resultados demonstraram elevação da atividade de AChE no pâncreas e de BChE no soro dos animais infectados quando comparados aos animais controle. Adicionalmente, observou-se uma correlação positiva entre o número de parasitas e a atividade de AChE, em que quanto maior a carga parasitária, maior a atividade de AChE. Estas alterações foram atribuídas ao provável processo inflamatório provocado por este parasita.

Além disso, a atividade das colinesterases pode ser inativada por inseticidas como os organofosforados (KRAMER e HOFFMANN, 1997). Por isso, determinações das atividades de AChE e BChE podem ser utilizadas como auxílio no diagnóstico de intoxicações por essas drogas (PARDÍO et al., 2001).

3.4 Perfil Mineral

3.4.1 Cálcio (Ca) e Fósforo (P)

O cálcio é um mineral fundamental para a manutenção da homeostase no organismo animal. Desempenha inúmeras funções intra e extracelularmente, atuando: na contração da musculatura, na coagulação sanguínea, na condução

nervosa, na atividade enzimática, na excitabilidade neuronal, na secreção hormonal, na função celular e na estrutura do esqueleto (BOHN, 2015).

O Ca é absorvido pelo trato gastrintestinal a partir da dieta, ocorrendo maior absorção na porção duodenal. Sua excreção ocorre a partir da urina e em menor quantidade por secreções intestinais. Aproximadamente 99% do Ca encontrado no organismo estão presentes na matriz óssea. O restante do Ca está presente nas membranas celulares e no retículo endoplasmático das células (0,9%), e somente 0,1% está no fluído extracelular/sérico. No fluído extracelular, o Ca pode ser encontrado em três formas: Ca ionizado (não ligado) (biologicamente ativo), Ca ligado à proteína, e Ca complexado com íons não proteicos como citrato, bicarbonato, fosfato e lactato. Cada forma supracitada compõe o Ca total em 50%, 45% e 5%, respectivamente. No entanto, quando as concentrações séricas de Ca são determinadas, na maioria dos casos, é o Ca total que é dosado, e não suas frações. A regulação dos níveis circulantes de Ca é eficazmente realizada por três hormônios do sistema endócrino: paratormônio (PTH), vitamina D e calcitonina (ROSOL e CAPEN, 1997). Em adição, as concentrações de proteínas, principalmente de albumina, interferem na concentração do Ca (RUSSEL e ROUSSEL, 2007).

O fósforo está presente no organismo sob duas formas: orgânica e inorgânica. O fósforo inorgânico (iP) que é encontrado no plasma na forma de fosfato é de valor diagnóstico nas análises do perfil mineral. Aproximadamente 90% do fosfato do organismo esta presente na matriz óssea, e os 10% restantes, estão intracelularmente nos tecidos moles. Desempenha um papel importante em muitos processos, como: metabolismo de energia, síntese de ácidos nucleicos, sinalização celular, e contração muscular. Além disso, é um importante componente de fosfolipídios e fosfoproteínas estruturais de membrana plasmática e do esqueleto (ROSOL e CAPEN, 1997; BOHN, 2015).

Em ruminantes, também funciona como um tampão para ácidos graxos voláteis e como nutriente para microrganismos no rúmen. A absorção é proveniente da dieta, e ocorre nos pré-estômagos e, principalmente, no intestino delgado (CARE, 1994). Semelhantemente ao Ca, a manutenção dos níveis séricos de P é controlada por hormônios como a paratormônio (PTH) e calcitonina. Entretanto, as concentrações de P oscilam mais quando comparados ao Ca. Pois parte do P é reciclado via saliva. Além disso, animais jovens

apresentam concentrações mais elevadas de P, possivelmente devido a uma maior reabsorção renal (ROSOL e CAPEN, 1997; GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2002; MOHRI et al., 2007).

Em relação aos estudos sobre o perfil mineral encontrados na literatura, especialmente em bezerros, alguns trabalhos investigaram as concentrações desses minerais nos primeiros dias e/ou meses de vida em animais sadios (MOHRI et al., 2007; PICCIONE et al., 2010). Adicionalmente, em bovinos infectados por *Theileria annulata*, foram observadas diminuições nas concentrações séricas de P (SANDHU et al. 1998), de Ca (SINGH et al., 2001) e Ca e P (ELLAH, 2015). Estes últimos autores sugeriram que a hipofosfatemia poderia ter sido decorrente de um distúrbio nos túbulos renais. Em adição, Singh et al. (2001) e Ellah (2015), comentaram que a hipocalcemia nos animais parasitados por *T. annulata* pode ter ocorrido em consequência da hipoalbuminemia, uma vez que o Ca necessita desta proteína para seu transporte.

3.4.2 Perfil do ferro sérico

O Ferro (Fe) é um nutriente essencial para uma série de processos metabólicos. Presente em todas as células do organismo, atua: no transporte de oxigênio (O_2), na síntese de DNA e no metabolismo energético. Por outro lado, o Fe livre no organismo pode ser nocivo, devido à capacidade de promover a síntese de espécies reativas de O_2 , que são tóxicas e lesam os tecidos (GROTTO, 2008). Em solução, o Fe pode ser encontrado em dois estados oxidativos: ferroso (Fe^{2+}) e férrico (Fe^{3+}). Na forma Fe^{2+} sua função primordial é o transporte através de membranas. Na forma Fe^{3+} a função atribuída é o transporte e armazenamento de proteínas (HARVEY, 2008).

Em relação à obtenção do Fe pelo organismo, é sabido que somente uma pequena porção (0,2 a 4,5%) deste mineral é absorvida no intestino delgado por meio da dieta. Uma vez absorvido, circula ligado a uma glicoproteína denominada de apotransferrina para formar transferrina, que se constitui na proteína responsável pela distribuição do Fe entre as células. Esta baixa absorção intestinal, ocorre porque o metabolismo do Fe apresenta um ciclo eficaz de

reaproveitamento por meio da reciclagem das hemácias senescentes, ou seja, a perda de Fe é muito pequena, a menos que ocorra uma hemorragia (ALENCAR et al., 2002; HARVEY, 2008).

De acordo com estes mesmo autores, aproximadamente 60 a 70% do Fe nos animais, encontram-se nos eritrócitos, formando a hemoglobina, que exerce papel fundamental no transporte de O₂, de dióxido de carbono e tamponamento de íons hidrogênio. Cerca de 3 a 7% do Fe forma a mioglobina, no interior das células musculares, com estrutura e funções semelhantes à hemoglobina no sangue. Quando os eritrócitos são destruídos pelo sistema mononuclear fagocitário, o Fe é armazenado na forma de ferritina e hemossiderina, representando cerca de 20 a 30% do Fe total. Ademais, os principais locais de armazenamento do Fe estão localizados nas células parenquimatosas do fígado e nas células reticuloendoteliais da medula óssea, baço e fígado. Por fim, cerca de 1% do Fe total é componente de enzimas (catalases, peroxidases e citocromos).

Desordens no metabolismo do Fe nos animais, de maneira geral, são atribuídas às perdas de sangue, caracterizando quadros de anemia, que podem ter origens multifatoriais (HARVEY, 2008). Anemia por deficiência de Fe também pode estar associada a deficiências nutricionais (THRALL, 2007).

Em ruminantes, conhecidamente, as enfermidades de origem parasitária são causas muito comuns de diminuição das concentrações de Fe, uma vez que são conhecidas espécies parasitas do trato gastrintestinal que apresentam hábitos hematófagos, como o *Haemonchus* spp. (VATTA et al., 2002; HOSSA et al., 2013). Além disso, perdas de sangue também são atribuídas ao parasita nodular *Oesophagostomum* spp. (BREMNER, 1970; TAYLOR et al., 2010).

O parasitismo por *Theileria annulata* em bovinos demonstrou potencial de anemia, provavelmente como consequência da destruição dos eritrócitos parasitados por macrófagos no baço (SANDHU et al., 1998; ELLAH, 2015).

Em bovinos, a determinação das concentrações séricas de Fe, pode ser uma ferramenta útil para o auxílio diagnóstico de inflamações agudas, quando associado a outros biomarcadores, como as PFA's. Vacas acometidas por reticuloperitonite e mastite, quando comparadas ao grupo controle, apresentaram diminuição nas concentrações séricas de Fe e aumento das concentrações séricas de PFA's (Hp, SAA, AGP e Fb) (BAYDAR e DUBAK, 2014).

Além do Fe sérico total, a determinação da capacidade de ligação do ferro insaturado (UIBC) pode ser um marcador mais preciso no diagnóstico das reservas de ferro. Assim, a UIBC pode ser utilizada para auxiliar o diagnóstico de anemias ferroprivas (ÅSBERG et al., 2013).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

ACHI, Y. L.; ZINSSTAG, J.; YAO, K.; YEO, N.; DORCHIES, P.; JACQUIET, P. Host specificity of *Haemonchus* spp. for domestic ruminants in the savanna in northern Ivory Coast. *Veterinary Parasitology*, v. 116, n. 2, p. 151-158, 2003.

AGNEESSENS, J.; CLAEREBOU, E.; DORNY, P.; BORGSTEEDE, F. H.; VERCRUYSE, J. Nematode parasitism in adult dairy cows in Belgium. *Veterinary Parasitology*, v. 90, n. 1-2, p. 83-92, 2000.

ALENCAR, N. X.; KOHAYAGAWA, A.; CAMPOS, K. C. H. Metabolismo do ferro nos animais domésticos: revisão. *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 5, n. 2, p. 196-205, 2002.

ALMERÍA, S.; LLORENTE, M. M.; URIARTE, J. Monthly fluctuations of worm burdens and hypobiosis of gastrointestinal nematodes of calves in extensive management systems in the Pyrenees (Spain). *Veterinary Parasitology*, v. 67, n. 3-4, p. 225-236, 1996.

AMARANTE, A. F. T.; BAGNOLA JUNIOR, J.; AMARANTE, M. R. V.; BARBOSA, M. A. Host specificity of sheep and cattle nematodes in Sao Paulo State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 73, n. 1-2, p. 89-104, 1997.

ANDERSON, P. H.; BERRETT, S.; BRUSH, P. J.; HEBERT, C. N.; PARFITT, J. W.; PATTERSON, D. S. Biochemical indicators of liver injury in calves with experimental fascioliasis. *The Veterinary Record*, v. 100, n. 3, p. 43-45, 1977.

ANDERSON, N.; REYNOLDS, G. W.; TITCHEN, D. A. Changes in gastrointestinal mucosal mass and mucosal and serum gastrin in sheep experimentally infected with *Ostertagia circumcincta*. *International Journal for Parasitology*, v. 18, n. 3, p. 325-331, 1988.

ANDERSON, R. C. *Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission*. Cabi, 2000. 650p.

ÅSBERG, A.; THORSTENSEN, K.; MIKKELSEN, G.; ÅSBERG, A. E. The diagnostic accuracy of unbound iron binding capacity (UIBC) as a test for empty iron stores. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, v. 73, n. 3, p. 208-213, 2013.

ARMOUR, J.; DUNCAN, M. Arrested larval development in cattle nematodes. *Parasitology Today*, v. 3, n. 6, p. 171-176, 1987.

¹ ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR6023: informação e documentação, referência elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BARKER, I. K. A study of the pathogenesis of *Trichostrongylus colubriformis* infection in lambs with observations on the contribution of gastrointestinal plasma loss. *International Journal for Parasitology*, v. 3, n. 6, p. 743-757, 1973.

BARKER, I. K. Location and distribution of *Trichostrongylus colubriformis* in the small intestine of sheep during the prepatent period, and the development of villus atrophy. *Journal of Comparative Pathology*, v. 85, n. 3, p. 417-426, 1975.

BAYDAR, E.; DABAK, M. Serum iron as an indicator of acute inflammation in cattle. *Journal of Dairy Science*, v. 97, n. 1, p. 222-228, 2014.

BOHN, A. A. Avaliação laboratorial dos eletrólitos. In: THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*, 2ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. cap. 24, p. 327 – 345.

BOON, J. H.; KLOOSTERMAN, A.; BREUKINK, M. Parasitological, serological and clinical effects of continuous graded levels of *Dictyocaulus viviparus* inoculations in calves. *Veterinary Parasitology*, v. 16, n. 3-4, p. 261-272, 1984.

BORDOLOI, G.; JAS, R.; GHOSH, J. D. Changes in the haemato-biochemical pattern due to experimentally induced haemonchosis in Sahabadi sheep. *Journal of Parasitic Diseases*, v. 36, n. 1, p. 101-105, 2012.

BORGES, F. A.; SILVEIRA, D. M.; GRAMINHA, E. B. N.; CASTAGNOLLI, K. C.; SOARES, V. E.; NASCIMENTO, A. A.; COSTA, A. J. Fauna helmintológica de bovinos da região de Jaboticabal, Estado de São Paulo, Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 22, n. 1, p. 49-53, 2001.

BOWMAN, D. *Parasitologia Veterinária de Georgis*. Elsevier Brasil, 2010. 431p.

BREMNER, K. C. A study of pathogenic factors in experimental bovine oesophagostomosis. I. An assessment of the importance of anorexia. *Australian Journal of Agricultural Research*, v. 12, n. 3, p. 498-512, 1961.

BREMNER, K. C. Pathogenetic factors in experimental bovine oesophagostomosis: V. Intestinal bleeding as cause of anemia. *Experimental Parasitology*, v. 27, n. 2, p. 236-245, 1970.

BREMNER, K. C.; KEITH, R. K. *Oesophagostomum radiatum*: Adult nematodes and intestinal hemorrhage. *Experimental Parasitology*, v. 28, n. 3, p. 416-419, 1970.

BRUSS, M. L. Lipids and Ketones. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical biochemistry of domestic animals*, 6th Edition, 2008. chap. 4, p. 81 - 115.

CARE, A. D. The absorption of phosphate from the digestive tract of ruminant animals. *British Veterinary Journal*, v. 150, n. 2, p. 197-205, 1994.

CECILIANI, F.; CERON, J. J.; ECKERSALL, P. D.; SAUERWEIN, H. Acute phase proteins in ruminants. *Journal of Proteomics*, v. 75, n. 14, p. 4207-4231, 2012.

CERÓN, J. J.; ECKERSALL, P. D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Veterinary Clinical Pathology*, v. 34, n. 2, p. 85-99, 2005.

CÉRON, J. J.; TECLES, F.; TVARIJONAVICIUTE, A. Serum paraoxonase 1 (PON1) measurement: an update. *BMC Veterinary Research*, v. 10, n. 1, p. 74, 2014.

COOP, R. L.; SYKES, A. R.; ANGUS, K. W. The pathogenicity of daily intakes of *Cooperia oncophora* larvae in growing calves. *Veterinary Parasitology*, v. 5, n. 2-3, p. 261-269, 1979.

COSTA, L. G.; VITALONE, A.; COLE, T. B.; FURLONG, C. E. Modulation of paraoxonase (PON1) activity. *Biochemical Pharmacology*, v. 69, n. 4, p. 541-550, 2005.

CSEH, S. B.; FAY, J. P.; CASARO, A. Changes in blood composition of pregnant cows during the onset of hypomagnesaemia. *The Veterinary Record*, v. 115, n. 22, p. 567-570, 1984.

DAS, U. N. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as possible markers of low-grade systemic inflammation. *Medical Science Monitor*, v. 13, n. 12, p. RA214-221, 2007.

ECKERSALL, P. D. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical biochemistry of domestic animals*, 6th Edition, 2008. chap. 5, p. 117-155.

ECKERSALL, P. D.; BELL, R. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *The Veterinary Journal*, v. 185, n. 1, p. 23-27, 2010.

EL-DEEB, W. M.; IACOB, O. C. Serum acute phase proteins in control and *Theileria annulata* infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Veterinary Parasitology*, v. 190, n. 1-2, p. 12-18, 2012.

ELLAH, M. R. A. Studying the correlations among hematological and serum biochemical constituents in cattle theileriosis. *Journal of Parasitic Diseases*, v. 39, n. 2, p. 134-139, 2015.

EVANS, T. W. Review article: albumin as a drug—biological effects of albumin unrelated to oncotic pressure. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, v. 16, n. s5, p. 6-11, 2002.

EYSKER, M. Some aspects of inhibited development of trichostrongylids in ruminants. *Veterinary Parasitology*, v. 72, n. 3, p. 265-283, 1997.

FARID, A. S.; HONKAWA, K.; FATH, E. M.; NONAKA, N.; HORII, Y. Serum paraoxonase-1 as biomarker for improved diagnosis of fatty liver in dairy cows. *BMC Veterinary Research*, v. 9, n. 1, p. 73, 2013.

FOX, M. T. Pathophysiology of infection with *Ostertagia ostertagi* in cattle. *Veterinary Parasitology*, v. 46, n. 1-4, p. 143-158, 1993.

FOX, M. T. Pathophysiology of infection with gastrointestinal nematodes in domestic ruminants: recent developments. *Veterinary Parasitology*, v. 72, n. 3-4, p. 285-308, 1997.

GÂNHEIM, C.; ALENIUS, S.; WALLER, K. P. Acute phase proteins as indicators of calf herd health. *The Veterinary Journal*, v. 173, n. 3, p. 645-651, 2007.

GÂNHEIM, C.; HÖGLUND, J.; WALLER, K. P. Acute phase proteins in response to *Dictyocaulus viviparus* infection in calves. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v. 45, n. 1-2, p. 79-86, 2004.

GIBBS, H. C. Gastrointestinal nematodiasis in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v. 65, n. 11, p. 2182-2188, 1982.

GIBSON, T. E. Studies on trichostrongylosis: I. The Pathogenesis of *Trichostrongylus axei* in sheep maintained on a low plane of nutrition. *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*, v. 64, n. 2, p. 127-140, 1954.

GIORDANO, A.; VERONESI, M. C.; ROSSI, G.; PEZZIA, F.; PROBO, M.; GIORI, L.; PALTRINIERI, S. Serum paraoxonase-1 activity in neonatal calves: Age related variations and comparison between healthy and sick animals. *The Veterinary Journal*, v. 197, n. 2, p. 499-501, 2013.

GONÇALVES, R. C.; LISBÔA, J. A. N.; SOUSA, M. V.; ALMEIDA, C. T.; KUCHEMBUCK, M. R. G.; CHIACCHIO, S. B. Aspectos clínicos e epidemiológicos da broncopneumonia dos bezerros em Botucatu, SP. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 7, n. 3, p. 144-147, 2000.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SCHEFFER, J. F. S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica metabólica e nutricional. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; ORTOLANI, E. L.; BARROS, L.; CAMPOS, R. Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluídos corporais (sangue, leite e urina). *Arquivos do 29º Congresso Nacional de Medicina Veterinária*, Gramado, RS. 2002. p. 5-17.

GROTTO, H. Z. W. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 30, n. 5, p. 390-397, 2008.

HARVEY, J. W. Iron metabolism and Its disorders In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical biochemistry of domestic animals*, 6th Edition, 2008. chap. 9, p. 259-285.

HOFFMANN, W. E.; SOLTER, P. F. Diagnostic Enzymology of Domestic Animals. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical biochemistry of domestic animals*, 6th Edition, 2008. chap. 12, p. 351-378.

HOLMES, P. H. Pathogenesis of trichostrongylosis. *Veterinary Parasitology*, v. 18, n. 2, p. 89-101, 1985.

HOSSA, M. R.; PAIM, J. M.; BRUZAMARELLO, A.; GERALDI, J.; MENEGOTO, J.; ELIAS, F. Surto de hemoncose em bovinos de corte no Sudoeste Paranaense. *Archives of Veterinary Science*, v. 18, n. 3, p. 178-180, 2013.

IDOATE, I.; VANDER LEY, B.; SCHULTZ, L.; HELLER, M. Acute phase proteins in naturally occurring respiratory disease of feedlot cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v. 163, n. 3-4, p. 221-226, 2015.

JARRETT, W. F. H.; MCINTYRE, W. I. M.; URQUHART, G. M. The pathology of experimental bovine parasitic bronchitis. *The Journal of Pathology and Bacteriology*, v. 73, n. 1, p. 183-193, 1957.

JARRETT, W. F. H.; JENNINGS, F. W.; MCINTYRE, W. I. M.; MULLIGAN, W.; THOMAS, B. A. C.; URQUHART, G. M. Immunological studies on *Dictyocaulus viviparus* infection. The immunity resulting from experimental infection. *Immunology*, v. 2, n. 3, p. 252-261, 1959.

JØRGENSEN, R. J.; RØNNE, H.; HELSTED, C.; ISKANDER, A. R. Spread of infective *Dictyocaulus viviparus* larvae in pasture and to grazing cattle: experimental evidence of the role of *Pilobolus fungi*. *Veterinary Parasitology*, v. 10, n. 4, 331-339, 1982.

KANEKO, J. J. Serum proteins and the dysproteinemias. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical biochemistry of domestic animals*, 5th Edition, 1997, chap. 5, p. 117-138.

KRAMER, J. W.; HOFFMANN, W. E. Clinical Enzimology. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical biochemistry of domestic animals*, 5th Edition, 1997, chap. 12, p. 303-325.

LANDIM, V. J. C.; COSTA, A. J.; COSTA, G. H. N.; ROCHA, U. F.; BARBOSA, O. F.; MORAES, F. R. Parasitic nematodes in weaned calves from the north-east region of São Paulo State, Brazil. *Ars Veterinária*, v. 17, n. 1, p. 42-50, 2001.

LASSEN, B.; BANGOURA, B.; LEPIK, T.; ORRO, T. Systemic acute phase proteins response in calves experimentally infected with *Eimeria zuernii*. *Veterinary Parasitology*, v. 212, n. 3-4, p. 140-146, 2015.

LAWTON, D. E. B.; REYNOLDS, G. W.; HODGKINSON, S. M.; POMROYT, W. E.; SIMPSON, H. V. Infection of sheep with adult and larval *Ostertagia circumcincta*: effects on abomasal pH and serum gastrin and pepsinogen. *International Journal for Parasitology*, v. 26, n. 10, p. 1063-1074, 1996.

LEE, D. L. Life cycles. In: _____. *The biology of nematodes*, CRC Press, 2002. chap. 3, p. 65.

LEVY, A. P.; ASLEH, R.; BLUM, S.; LEVY, N. S.; MILLER-LOTAN, R.; KALET-LITMAN, S.; ANBINDER, Y.; LACHE, O.; NAKHOUL, F. M.; ASAF, R.; FARBSTAIN, D.; POLLAK, M.; SOLOVEICHNIK, Y. Z.; STRAUSS, M.; ALSHIEK, J.; LIVSHITS, A.; SCHWARTZ, A.; AWAD, H.; JAD, K.; GOLDENSTEIN, H. Haptoglobin: basic and clinical aspects. *Antioxidants & Redox Signaling*, v. 12, n. 2, p. 293-304, 2010.

LIMA, W. S. Seasonal infection pattern of gastrointestinal nematodes of beef cattle in Minas Gerais State - Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 74, n. 2-4, 203-214, 1998.

LYONS, E. T.; DRUDGE, J. H.; TOLLIVER, S.C. *Strongyloides* larvae in milk of sheep and cattle. *Modern Veterinary Practice*, v. 51, n. 5, p. 65-68, 1970. [resumo]

MELO, H. J. H. Evidência preliminar de "Hipobiose" ou "Desenvolvimento Interrompido" de Nematódeos gastrintestinais em bezerros zebus criados extensivamente em zona de cerrado de Mato Grosso. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 12, n. único, 197-204, 1977.

MIYAMOTO, T.; TAKAHASHI, Y.; OOHASHI, T.; SATO, K.; OIKAWA, S. Bovine paraoxonase 1 activities in serum and distribution in lipoproteins. *Journal of Veterinary Medical Science*, v. 67, n. 3, p. 243-248, 2005.

MICHEL, J. F. Studies on host resistance to *Dictyocaulus* Infection: II. Re-infection Experiments with *D. Filaria* in sheep. *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*, v. 66, n. 3, p. 241-248, 1956.

MORRIS, D. D.; JOHNSTON, J. K. Alterações nas proteínas do sangue. In: SMITH, B. P. *Medicina Interna de Grandes Animais*. 3ª ed. Manole, Barueri, 2006. cap. 26, p. 427-433.

MOHRI, M.; SHARIFI, K.; EIDI, S. Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: age related changes and comparison with blood composition in adults. *Research in Veterinary Science*, v. 83, n. 1, p. 30-39, 2007.

MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *The Veterinary Journal*, v. 168, n. 1, p. 28-40, 2004.

NAZIFI, S.; RAZAVI, S. M.; ESMAILNEJAD, Z.; GHEISARI, H. Study on acute phase proteins (haptoglobin, serum amyloid A, fibrinogen, and ceruloplasmin) changes and their diagnostic values in bovine tropical theileriosis. *Parasitology Research*, v. 105, n. 1, p. 41-46, 2009.

NAZIFI, S.; RAZAVI, S. M.; KAVIANI, F.; RAKHSHANDEHROO, E. Acute phase response in cattle infected with *Anaplasma marginale*. *Veterinary Microbiology*, v. 155, n. 1-2, p. 267-271, 2012.

NUTTING, D. F. et al. Serum amylase activity and calcium and magnesium concentrations in young cattle grazing fescue and Bermuda grass pastures. *American Journal of Veterinary Research*, v. 53, n. 5, p. 834-839, 1992.

O'CONNOR, L. J.; WALKDEN-BROWN, S. W.; KAHN, L. P. Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. *Veterinary Parasitology*, v. 142, n. 1-2, p. 1-15, 2006.

PANUSKA, C. Lungworms of ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v. 22, n. 3, p. 583-593, 2006.

PARDÍO, V. T.; IBARRA, N.; RODRÍGUEZ, M. A.; WALISZEWSKI, K. N. Use of cholinesterase activity in monitoring organophosphate pesticide exposure of cattle produced in tropical areas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, n. 12, p. 6057-6062, 2001.

PETERSEN, H. H.; NIELSEN, J. P.; HEEGAARD, P. M. H. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Veterinary Research*, v. 35, n. 2, p. 163-187, 2004.

PICCIONE, G.; CASELLA, S.; PENNISI, P.; GIANNETTO, C.; COSTA, A.; CAOLA, G. Monitoring of physiological and blood parameters during perinatal and neonatal period in calves. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 62, n. 1, p. 1-12, 2010.

PLOEGER, H. W. *Dictyocaulus viviparus*: re-emerging or never been away?. *Trends in Parasitology*, v. 18, n. 8, p. 329-332, 2002.

RODRIGUES, R. R.; GENNARI, S. M.; GUERRA, J. L.; CONTIERI, M. B.; ABDALLA, A. L.; VITTI, D. M. S. S Histopathological changes during experimental infections of calves with *Cooperia punctata*. *Journal of Helminthology*, v. 78, n. 2, p. 167-171, 2004.

ROSOL, T. J.; CAPEN, C. C. Calcium-Regulating Hormones and Diseases of Abnormal Mineral (Calcium, Phosphorus, Magnesium) Metabolism In: KANEKO,

J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 5th Edition, 1997, chap. 23, p. 619-702.

ROSS, J. G.; PURCELL, D. A.; DOW, C.; TODD, J. R. Experimental infections of calves with *Trichostrongylus axei*; the course and development of infection and lesions in low level infections. *Research in Veterinary Science*, v. 8, n. 2, p. 210 - 206, 1967. [resumo]

RUSSELL, K. E.; ROUSSEL, A. J. Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v. 23, n. 3, p. 403-426, 2007.

SANDHU, G. S.; GREWAL, A. S.; SINGH, A.; KONDAL, J. K.; SINGH, J.; BRAR, R. S. Haematological and biochemical studies on experimental *Theileria annulata* infection in crossbred calves. *Veterinary Research Communications*, v. 22, n. 5, p. 347-354, 1998.

SANTOS, R. L.; TSOLIS, R. M.; BÄUMLER, A. J.; ADAMS, L. G. Hematologic and serum biochemical changes in *Salmonella* ser Typhimurium-infected calves. *American Journal of Veterinary Research*, v. 63, n. 8, p. 1145-1150, 2002.

SANTOS, T. R.; LOPES, W. D. Z.; BUZULINI, C.; BORGES, F. A.; SAKAMOTO, C. A. M.; LIMA, R. C. A.; OLIVEIRA, G. P.; COSTA, A. J. Helminth fauna of bovines from the Central-Western region, Minas Gerais State, Brazil. *Ciência Rural*, v.40, n. 4, p. 934-938, 2010.

SATRIJA, F.; NANSEN, P. Experimental concurrent infections with *Ostertagia ostertagi* and *Cooperia oncophora* in the calf. *Research in Veterinary Science*, v. 55, n. 1, p. 92-97, 1993.

SCHWERTZ, C. I.; DO CARMO, G. M.; BOTTARI, N. B.; DA SILVA, E. S.; GABRIEL, M. E.; LUCCA, N. J.; GUARDA, N. S.; MORESCO, R. N.; MACHADO, G.; MORSCH, V.M.; SCHETINGER, M. R. C.; STEFANI, L. M.; MENDES, R. E.; DA SILVA, A. S. Relationship Between Pathological Findings and Cholinesterase Activity and Nitric Oxide Levels in Cattle Infected Naturally by *Eurytrema coelomaticum*. *Journal of Comparative Pathology*, v. 154, n. 2-3, p. 150-156, 2016.

SEPPÄ-LASSILA, L.; ORRO, T.; LEPAGE, J. P.; SOVERI, T. Reference values for acute phase proteins in calves and its clinical application. *Veterinary Record*, v. 173, n. 13, p. 319, 2013.

SILVA, M. C.; BARROS, R. R.; GRAÇA, D. L. Surto de dictiocaulose em bovinos no município de Santa Maria, RS, Brasil. *Ciência Rural*, v. 35, n. 3, p. 629-632, 2005.

SIMPSON, H. V.; LAWTON, D. E. B.; SIMCOCK, D. C.; REYNOLDS, G.; POMROY, W. E. Effects of adult and larval *Haemonchus contortus* on abomasal secretion. *International Journal for Parasitology*, v. 27, n. 7, p. 825-831, 1997.

SINGH, A.; SINGH, J.; GREWAL, A. S.; BRAR, R. S. Studies on some blood parameters of crossbred calves with experimental *Theileria annulata* infections. *Veterinary Research Communications*, v. 25, n. 4, p. 289-300, 2001.

SHARMA, S. P.; TRIPATHI, H. C. Observations on erythrocytic acetylcholinesterase activity in experimentally induced anaplasmosis in calves. *Veterinary Parasitology*, v. 17, n. 3, p. 251-254, 1985.

STROMBERG, B.; GASBARRE, L. C.; WAITE, A.; BECHTOL, D. T.; BROWN, M. S.; ROBINSON, N. A.; OLSON, E. J.; NEWCOMB, H. *Cooperia punctata*: effect on cattle productivity?. *Veterinary Parasitology*, v. 183, n. 3 - 4, p. 284 - 291, 2012.

SURYNEK, J. Development of serum lipase activity in calves in the early post-natal period. *Veterinarni Medicina*, v. 19, n. 2, p. 91-95, 1974 [resumo].

SURYNEK, J. Lipase activity in the calf serum under different types of feeding. *Veterinarni Medicina*, v. 20, n. 5, p. 277-281, 1975 [resumo].

TAIRA, N.; URA, S. Sudden death in calves associated with *Strongyloides papillosus* infection. *Veterinary Parasitology*, v. 39, n. 3-4, p. 313-319, 1991.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. *Parasitologia Veterinária*. 3. Ed. Guanabara-Koogan, 2010. 742p.

THRALL, M.A. Anemia arregenerativa ou não regenerativa. In: THRALL, M. A. [et al.] *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*, Editora Roca, 2007. cap. 7, p. 84-89.

TÓTHOVÁ, C.; NAGY, O.; SEIDEL, H.; KOVÁČ, G. Acute phase proteins in relation to various inflammatory diseases of calves. *Comparative Clinical Pathology*, v. 21, n. 5, p. 1037-1042, 2012.

TRAPANI, F.; PACIELLO, O.; PAPPARELLA, S.; RINALDI, L.; CRINGOLI, G.; MAIOLINO, P. Histopathological, histochemical and immunohistochemical findings of the small intestine in goats naturally infected by *Trichostrongylus colubriformis*. *Veterinary Parasitology*, v. 191, n. 3-4, p. 390-393, 2013.

TURK, R.; JURETIĆ, D.; GEREŠ, D.; TURK, N.; REKIĆ, B.; SIMEON-RUDOLF, V.; ROBIĆ, M.; SVETINA, A. Serum paraoxonase activity in dairy cows during pregnancy. *Research in Veterinary Science*, v. 79, n. 1, p. 15-18, 2005.

TURNER, J. H.; SHALKOP, W. T.; WILSON, G. I. Experimental strongyloidiasis in sheep and goats. IV. Migration of *Strongyloides papillosus* in lambs and

accompanying pathologic changes following percutaneous infection. *American Journal of Veterinary Research*, v. 21, n. 83, p. 536-546, 1960. [resumo]

ULUTAŞ, P. A.; VOYVODA, H.; ULUTAŞ, B.; AYPAK, S. Miks Helmint Enfeksiyonlu Keçilerde Haptoglobin, Serum Amiloid-A ve Seruloplazmin Konsantrasyonları. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, v. 32, n. 3, p. 229-233, 2008.

VATTA, A. F.; KRECEK, R. C.; LETTY, B. A.; VAN DER LINDE, M. J.; GRIMBEEK, R. J.; DE VILLIERS, J. F.; MOTSWATSWE, P. W.; MOLEBIEMANG, G. S.; BOSHOFF, H. M.; HANSEN, J. W. Incidence of *Haemonchus* spp. and effect on haematocrit and eye colour in goats farmed under resource-poor conditions in South Africa. *Veterinary Parasitology*, v. 103, n. 1-2, p. 119-131, 2002.

VICENTE, J. J.; RODRIGUES, H. O.; GOMES, D. C.; PINTO, R. M. Nematóides do Brasil. Parte V: Nematóides de mamíferos. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 14, p. 1-452, 1997.

VINEY, M. E.; LOK, J. B. *Strongyloides* spp. *WormBook: the online review of C. elegans Biology*, Published online: 1–15. doi:10.1895/wormbook.1.141.1, 2007.

WELLS, B.; INNOCENT, G. T.; ECKERSALL, P. D.; MCCULLOCH, E.; NISBET, A. J.; BURGESS, S. T. Two major ruminant acute phase proteins, haptoglobin and serum amyloid A, as serum biomarkers during active sheep scab infestation. *Veterinary Research*, v. 44, p. 103, 2013.

WOOD, I. B.; AMARAL, N. K.; BAIRDEN, K.; DUNCAN, J. L.; KASSAI, T.; MALONE JR, J. B.; PANKAVICH, J. A.; REINECKE, R. K.; SLOCOMBE, O.; TAYLOR, S. M.; VERCRUYSE, J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). *Veterinary Parasitology*, v. 58, n. 3, p. 181-213, 1995.

ZIOMKO, I. Experimental invasion of *Strongyloides papillosus* (Wedl, 1856) in sheep. *Bulletin-Veterinary Institute in Pulawy*, v. 44, n. 2, p. 179-186, 2000.

ZIOMKO, I. Pathological and histochemical alterations in the small intestine of sheep in the course of experimental infection with *Strongyloides papillosus*. *Bulletin-Veterinary Institute in Pulawy*, v. 47, p. 471-477, 2003.

CAPÍTULO 1

*Neste capítulo consta o artigo de revisão “**Epidemiologia dos endoparasitas em bovinos: uma visão do Brasil e do mundo**”, que foi submetido para publicação no periódico: Pesquisa Veterinária Brasileira. Normas de publicação no anexo.*

Epidemiologia dos endoparasitas em bovinos: uma visão do Brasil e do mundo

Marcela C. Cezaro¹, Raphaela M. Oliveira¹, Gilson A. Providelo¹, Viviana H. V. Aristizabal¹, Henry D. M. García¹, João C. P. Ferreira¹, Elizabeth M. S. Schmidt^{1*}

ABSTRACT.- Cezaro M.C., Oliveira R.M., Providelo G.A., Aristizabal V.H.V., García H.D.M., Ferreira J.C.P. & Schmidt E.M.S. 2016. **[Epidemiology of endoparasites in bovines: a view of Brazil and of the world.]** Epidemiologia dos endoparasitas em bovinos: uma visão do Brasil e do mundo. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 0(0):0-0. Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), UNESP, Rua Prof. Walter Mauricio Correa, s/n, Bairro UNESP, câmpus de Botucatu, CEP 18.618-681, Cx Postal 560, Botucatu, SP, Brasil. E-mail: bethschmidt@fmvz.unesp.br

In bovines, parasitic diseases cause significant economic and productivity damage. Furthermore, they compromise animal health and well-being. In the more specific case of endoparasites, one aggravating factor is the insidious presentation of the disease that renders it underdiagnosed and/or neglected. For this reason, epidemiological studies of parasites serve as useful tools for the identification of species of helminths, and for evaluating their prevalences and degrees of infection in animals. These data enable better delineation of preventive and prophylactic measures. Despite the relevance of these types of studies, recent updated results on the situation of bovine herds exposed to parasitism are scarce. Thus, the present work aimed to perform a retrospective survey of epidemiological studies examining endoparasites in different regions of Brazil, which also included international data, with countries categorized according to climates (tropical, subtropical and temperate).

INDEX TERMS: bovine, Brazil, epidemiology, nematodes, parasites

RESUMO.- Em bovinos, as enfermidades parasitárias causam prejuízos econômicos e produtivos significativos. Além disso, comprometem a saúde e o bem-estar animal. Tratando-se mais especificamente dos endoparasitas, um fator agravante é a apresentação insidiosa da doença, e assim, são subdiagnosticados e/ou negligenciados. Por isso, a realização de estudos epidemiológicos de parasitas são ferramentas úteis para a identificação das espécies de helmintos, bem como para avaliar as suas prevalências e os graus de infecção nos animais. Com base nessas informações, medidas de profilaxia e prevenção podem ser mais bem delineadas. Apesar da relevância destes tipos de estudos, há escassez de resultados recentes e atualizados sobre a situação de rebanhos bovinos frente ao parasitismo. Desta maneira, objetivou-se realizar um levantamento retrospectivo de estudos epidemiológicos versando sobre endoparasitas nas diferentes regiões do Brasil, que também incluiu dados mundiais, sendo os países categorizados de acordo com os climas (tropical e subtropical, e temperado).

TERMOS DE INDEXAÇÃO: bovinos, Brasil, epidemiologia, nematódeos, parasitas

INTRODUÇÃO

No Brasil, estudos epidemiológicos regionalizados com o objetivo de conhecer as infecções helmínticas em bovinos foram realizados a partir das décadas de 1970 e 1980, nos estados de São Paulo (SP) (Oliveira & Matsudo 1985, Oliveira 1988), Rio de Janeiro (RJ) (Duarte et al. 1982), Minas Gerais (MG) (Furlong et al. 1985a), Goiás (GO) (Carneiro et al. 1979), Mato Grosso (MT) (Grisi e Nuernberg, 1971), Mato Grosso do Sul (MS)

(Melo & Biachin, 1977; Catto & Ueno, 1981; Catto & Furlong, 1983), Bahia (BA) (Santana et al. 1989) e Piauí (PI) (Girão et al. 1985). A partir do ano 2000, Landim et al. (2001), Bresciani et al. (2001) e Borges et al. (2001) realizaram pesquisas epidemiológicas no estado de SP, Pimentel Neto & Fonseca (2002) no RJ, e Santos et al. (2010) em MG (Quadro 1).

Em linhas gerais, esses estudos objetivaram a identificação e o fornecimento de informações sobre a fauna helmintológica em bovinos, bem como o comportamento estacional dos parasitas relacionados aos elementos climáticos das respectivas regiões avaliadas.

Com base na literatura nacional, observa-se que há uma escassez de informações atualizadas em relação à epidemiologia das helmintoses em bovinos. Além disso, diversas regiões brasileiras foram pouco estudadas ou ainda não exploradas. Entretanto, sabe-se que as enfermidades parasitárias geram significativos prejuízos econômicos, bem como perdas de potencial produtivo, que não devem ser negligenciadas, pois estão aquém de ser um problema solucionado nos rebanhos (Grisi et al. 2014).

Isto posto, o objetivo desta revisão foi a realização de um levantamento retrospectivo a partir de investigações epidemiológicas sobre as infecções helmínticas, com ênfase nos parasitas nematódeos, que acometem os bovinos nas diferentes regiões do Brasil e também no mundo, sendo proposta uma visão geral das endoparasitoses caracterizando os países de acordo com os climas (tropical e subtropical, e temperado).

1 Epidemiologia dos endoparasitas em bovinos no Brasil

1.1 Região Sudeste

No estudo epidemiológico de Oliveira e Matsudo (1985) no município de São Carlos, estado de SP, com bezerros mestiços (oito a 20 meses de idade), os helmintos recuperados foram: *C. punctata*, *C. pectinata*, *H. contortus*, *H. similis*, *O. radiatum*, *T. axei*, *T. discolor*, *B. phlebotomum*, *A. wryburgi* e *D. viviparus*. Além do trematódeo *E. coelomaticum*. Resultados similares foram apresentados posteriormente por Oliveira (1988) neste mesmo município, e por Landim et al. (2001) na região nordeste do estado.

Borges et al. (2001), na região de Jaboticabal, SP, realizaram a eutanásia de 42 bezerros (oito a 14 meses de idade), e constataram uma ampla fauna helmintológica, com a presença de 17 espécies de parasitas. Do total de helmintos recuperados, 15 eram nematódeos. Ademais, foi observada a presença do cestódeo *M. benedeni* e do trematódeo *E. coelomaticum*, ambos com prevalência de 4,76%. A carga parasitária média global foi de 10.804 helmintos por animal. Este foi o único trabalho realizado no estado de SP em que a prevalência do gênero *Haemonchus* spp. foi maior do que o gênero *Cooperia* spp., divergindo dos resultados de Oliveira & Matsudo (1985), Oliveira (1988) e Landim et al. (2001), que observaram o gênero *Cooperia* spp. como o mais prevalente. No entanto, o fato de um parasita apresentar alta prevalência não significa necessariamente que este seja responsável pela maior carga parasitária no hospedeiro, pois Borges et al. (2001) observaram que *H. placei* e *C. punctata* apresentaram prevalência de 97,62% e 92,86%, respectivamente. Em contrapartida, a intensidade média de infecção parasitária foi de 1.961 e 8.109, respectivamente. Este também foi o único relato de ocorrência de duas espécies de *Ostertagia* spp.: *O. ostertagi* e *O. lyrata*, com prevalência de 7,14 e 4,76%, respectivamente. Apesar de Taylor et al. (2010) terem mencionado que *O. ostertagi* e *O. lyrata* são sinônimos, tratando-se da mesma espécie de parasita.

Em relação ao *Haemonchus* spp., observou-se que nos trabalhos realizados no estado de SP, na década de 1980, Oliveira & Matsudo (1985) e Oliveira (1988) relataram

a ocorrência das espécies *H. contortus* e *H. similis*, sendo a primeira espécie encontrada com prevalências superiores a 90%. Posteriormente, a partir do ano 2000, com exceção de Landim et al. (2001), esta espécie não foi encontrada por Bresciani et al. (2001) e Borges et al. (2001), e, de acordo com os resultados desses autores, a espécie mais prevalente foi *H. placei*, seguido de *H. similis*. Segundo Amarante (2011), há possibilidade de que diversos estudos tenham identificado erroneamente as espécies de *Haemonchus* spp., e que vários relatos de *H. contortus* poderiam se tratar, na verdade, de *H. placei*. Além disso, com base na literatura, *H. contortus* parece ser uma espécie melhor adaptada aos pequenos ruminantes (Amarante et al. 1997, Achi et al. 2003).

Em relação à sazonalidade e os efeitos climáticos, ao se avaliar o comportamento dos nematódeos, Oliveira (1988), em estudo epidemiológico realizado no município de São Carlos, SP, relatou que a ocorrência dos parasitas pareceu estar fortemente relacionada com a estação das chuvas, pois os resultados de OPG demonstraram aumentos a partir de novembro, e a maior incidência de parasitas recuperados nas necropsias foi observada no final do verão, sendo esses períodos correspondentes ao início e ao final da estação chuvosa, respectivamente. Adicionalmente, outro achado relevante, foi a presença de formas imaturas (L4) de *Haemonchus* spp. em hipobiose observadas nos meses de maio, julho e agosto, demonstrando que na estação seca as condições climáticas foram desfavoráveis ao desenvolvimento e sobrevivência das fases de vida livre deste nematódeo. Na coprocultura, foram recuperadas larvas de terceiro estágio (L3) de *Haemonchus* spp., *Cooperia* spp., e *Oesophagostomum* spp.

Bresciani et al. (2001) realizaram um estudo na região noroeste do estado de SP com 48 bovinos em idade de abate (24 a 30 meses). Os parasitas encontrados em ordem de prevalência foram: *C. punctata*, *H. placei*, *H. similis*, *O. radiatum* e *C. pectinata*. Os autores obtiveram informações relevantes em relação à associação da prevalência e sazonalidade para *Haemonchus* spp. e *O. radiatum*. *Haemonchus* spp. foi mais prevalente no outono (20,8%) e nas outras estações apresentou menor prevalência: 12,5% no verão, 8,3% na primavera e 2,1% no inverno. *O. radiatum* foi mais prevalente na primavera (16,7%), seguido do outono (14,6%), verão (8,3%) e inverno (2,1%). Em contrapartida, para o gênero *Cooperia* spp. não houve associação entre prevalência e estação do ano. Assim, possivelmente, isso pode ser atribuído à boa adaptabilidade do parasita às condições climáticas durante o ano.

Pereira (2011) realizou uma investigação em relação a práticas de controle e prevalência de helmintos gastrintestinais parasitas de bovinos leiteiros em 40 propriedades rurais de Pindamonhangaba, SP. Foram avaliados 706 animais, sendo 356 bezerros (três a 12 meses) e 350 vacas em lactação, que foram submetidos ao exame de OPG. Os resultados demonstraram que 50,7% (358/706) dos animais foram positivos para ovos de estrongilídeos. Quanto à faixa etária, os bezerros apresentaram as maiores contagens de OPG quando comparados aos animais adultos.

Neves et al. (2014) realizaram uma investigação sobre a resistência anti-helmíntica em bovinos de corte (2,5 a 13 meses de idade) provenientes de 10 fazendas nos municípios de Jaú, Avaré e Botucatu, SP. De maneira geral, as L3 presentes nas coproculturas foram: *Cooperia* spp., *H. placei*, *H. similis*, *Oesophagostomum* spp. e *Trichostrongylus* spp.

Cezaro et al. (2016) investigaram os nematódeos gastrintestinais e pulmonares em amostras de fezes de 86 bezerros mestiços com dois a 24 meses de idade, em propriedades nos municípios de Botucatu e Manduri, SP. Nas coproculturas, os gêneros observados foram similares a Neves et al. (2014). Ademais, 19 amostras apresentaram larvas de primeiro estágio (L1) de *D. viviparus* por meio da modificação da técnica de Baermann.

A fim de contribuir para o conhecimento da fauna helmintológica presente no estado do RJ, Duarte et al. (1982), no município de Cantagalo, estudaram a prevalência e a intensidade do parasitismo em 35 bezerros naturalmente infectados. Foram recuperados os seguintes nematódeos: *H. contortus*, *T. axei*, *C. punctata*, *C. pectinata*, *B. phlebotomum*, *S. papillosus*, *O. radiatum*, *Trichuris* spp., *T. discolor*, *A. wryburgii*, *D. viviparus*, além do cestódeo *M. benedeni*. As espécies mais prevalentes foram *C. punctata* e *H. contortus*, estando de acordo com os achados de Oliveira & Matsudo (1985) e Oliveira (1988) no estado de SP, na mesma década.

Posteriormente, Pimentel Neto & Fonseca (2002) estudaram as helmintoses em bezerros mestiços na região da baixada fluminense, e os resultados corroboraram com os achados de Duarte et al. (1982) em Cantagalo, com exceção do gênero *Haemonchus* spp. No primeiro estudo relatou-se somente a ocorrência de *H. contortus*, enquanto que Pimentel Neto & Fonseca (2002) descreveram *H. placei* como a única espécie parasitando os animais do estudo. Como sugerido por Amarante (2011), a classificação das espécies de *Haemonchus* spp. pode ter sido feita de forma equivocada, sendo os exemplares de *H. placei* erroneamente identificados como *H. contortus*.

Nesta mesma investigação na região da baixada fluminense, foram obtidas informações quanto à ocorrência dos parasitas em relação às estações do ano. Os principais parasitas recuperados com base na prevalência e intensidade parasitária foram *Cooperia* spp., *H. placei* e *O. radiatum*, durante todo o ano, sendo as menores cargas parasitárias recuperadas no verão, fenômeno que poderia estar associado às temperaturas elevadas sobre as larvas na pastagem, bem como o bom estado nutricional dos animais nesta época do ano, devido a grande oferta de alimentos (Pimentel Neto & Fonseca, 2002).

Uma investigação conduzida por Abidu-Figueiredo et al. (2011) no município de Paty dos Alferes, RJ, consistiu no diagnóstico de L1 de nematódeos gastrintestinais em bezerros de três a 12 meses de idade por meio da técnica coproparasitológica utilizando-se filtro de Visser. Esta técnica identificou L1 de seis gêneros diferentes de nematódeos. Os gêneros encontrados, em ordem de maior ocorrência, foram: *Cooperia* spp. (54%), *Haemonchus* spp. (50,6%), *Trichostrongylus* spp. (48,7%), *Strongyloides* spp. (21,6%) e *Bunostomum* spp. (12,7%). Em relação à média de L1 recuperadas, observou-se que os gêneros *Cooperia* spp. e *Haemonchus* spp. apresentaram os maiores valores médios, 812 e 489, respectivamente. Os autores ainda comentaram que uma das maiores vantagens observadas na execução desta técnica foi a rapidez na obtenção dos resultados em comparação às técnicas usualmente utilizadas, como é o caso da coprocultura, pois a diferenciação dos gêneros foi feita em até 24 horas.

A prevalência e o controle das parasitoses gastrintestinais em bezerros foram estudadas no município de Alegre, ES, por Repossi Junior et al. (2006) por meio de OPG e coprocultura. Para isso, foram utilizados 222 bezerros com idades que variaram de um a 18 meses, provenientes de 12 propriedades. Os resultados obtidos nos OPG demonstraram que do total de bezerros estudados, 66% apresentaram ovos de estrongilídeos. Além disso, 57,3% foram positivos para oocistos de coccídeos, 8,2% para ovos de *Trichuris* spp., 7,8% para ovos de *S. papillosus* e 1,8% para ovos de *Moniezia* spp. Os dados de coprocultura apresentaram a predominância de *Cooperia* spp. (64%) e *Haemonchus* spp. (53,75%).

Junior et al. (2008) conduziram um estudo em bovinos leiteiros na microrregião do Caparaó, ES. Foram utilizados 359 animais, sendo 186 vacas e 173 bezerros pertencentes a 51 propriedades. Os resultados demonstraram que do total de animais estudados, 196 (54,6%) foram positivos para o OPG. Em relação aos ovos e oocistos de parasitas, constataram que 92 (25,62%) animais apresentaram ovos de estrongilídeos, 45 (12,53%) apresentaram oocistos de coccídeos, 55 (15,32%) apresentaram infecção mista

por ovos de estrongilídeos e oocistos de coccídeos, nove (2,50%) foram positivos para ovos de *Moniezia* spp. e sete (1,94%) apresentaram ovos de *Trichuris* spp. Aparentemente os bezerros foram mais afetados pelo parasitismo ao se avaliar os resultados de OPG, o que está de acordo com os resultados de Pereira (2011) em Pindamonhangaba, SP.

Em relação aos bezerros, Junior et al. (2008) verificaram uma prevalência de 69,36% (120/173) de animais positivos. Somente ovos de estrongilídeos e oocistos de coccídeos foram observados, com prevalência de 85,83% e 69,16%, respectivamente. Na coprocultura, houve a predominância de larvas infectantes de *Haemonchus* spp. em 54,9% das propriedades, além disso, larvas de *Cooperia* spp., *Oesophagostomum* spp. e *Trichostrongylus* spp. também foram identificadas.

Furlong et al. (1985a), em Coronel Pacheco na zona da Mata, MG, estudaram o comportamento estacional de nematódeos gastrintestinais por meio de bezerros traçadores eutanasiados mensalmente durante dois anos. Os parasitas observados foram: *C. punctata*, *C. spatulata*, *H. contortus*, *H. similis*, *O. radiatum*, *T. axei*, *T. colubriformis*, *B. phlebotomum*, *Agriostomum* spp., e *Trichuris* spp. Na pastagem, ao avaliar cada gênero e sua relação com a estação do ano, o clima dessa região se mostrou favorável durante o ano todo para o desenvolvimento desses parasitas. O gênero *Cooperia* spp. apresentou larvas durante todas as estações do ano. Em contrapartida, *Haemonchus* spp. apresentou maior prevalência nas pastagens durante a primavera e o verão. Por fim, as larvas de *Oesophagostomum* spp. e *Trichostrongylus* spp. foram mais prevalentes nas pastagens durante a primavera.

Neste mesmo ano, Furlong et al., (1985b), em investigação paralela, em Coronel Pacheco na zona da Mata, MG, avaliaram o comportamento estacional do nematódeo pulmonar *D. viviparus* por meio de bezerros traçadores eutanasiados mensalmente durante dois anos. De maneira geral, as condições climáticas permitiram o desenvolvimento e sobrevivência das larvas no ambiente durante todo o período experimental. No entanto, observaram que o índice de recuperação dos nematódeos pulmonares foi aumentando conforme a temperatura foi diminuindo, com aumento no início do outono, atingindo ascendência máxima no inverno, seguido de diminuição na primavera e no verão.

Lima (1998) avaliou a sazonalidade e a dinâmica das infecções de parasitas gastrintestinais em bovinos de corte no município de Governador Valadares situado na região do Vale do Rio Doce, MG. Foram selecionadas 30 vacas com seus bezerros que foram alocados em um piquete até o momento do desmame (sete meses de idade). A partir desse momento, os bezerros permaneceram no mesmo piquete até completarem 24 meses. Mensalmente, dois bezerros traçadores eram alojados nesse piquete e posteriormente eutanasiados para a recuperação dos helmintos. Os bezerros traçadores foram susceptíveis às infecções durante todos os meses do ano. No entanto, as maiores cargas parasitárias recuperadas foram observadas na estação chuvosa. As espécies de helmintos identificadas foram: *C. punctata*, *C. spatulata*, *C. pectinata*, *H. similis*, *H. placei*, *O. radiatum*, *T. colubriformis*, *T. axei*, *B. phlebotomum* e *T. discolor*. *Cooperia* spp. foi a espécie mais prevalente (74,4%), seguida de *Haemonchus* spp. (19,2%) e *Oesophagostomum* spp. (4,5%). Ademais, este mesmo autor observou que em relação ao OPG dos bezerros, ovos de *Strongyloides* spp. foram os primeiros a serem encontrados nos animais mais jovens. Além disso, até os três meses de idade, os bezerros apresentaram baixas contagens de OPG, com um aumento gradativo até os 12 meses de idade. Houve diminuição do OPG até os 19 meses de vida, que permaneceu baixo até o final do experimento. A contagem de ovos aumentou principalmente nos meses de setembro a fevereiro, coincidindo com o período que compreendeu o desmame de bezerros e a estação das chuvas.

Araujo & Lima (2005), no município de Carandaí, localizado na região de Campo das Vertentes, MG, avaliaram as infecções helmínticas em um rebanho leiteiro por meio de bezerros traçadores a fim de verificar o efeito sazonal da contaminação das pastagens. O maior número de parasitas foi recuperado durante o período chuvoso e foi observada a presença de *D. viviparus* em um bezerro traçador nos meses de junho e julho. O gênero *Cooperia* spp. foi o mais prevalente, com as espécies *C. punctata* e *C. spatulata*, seguido de *Haemonchus* spp. sendo recuperadas as espécies *H. contortus* e *H. similis*, estando de acordo com Furlong et al. (1985a) no mesmo estado, e Oliveira & Matsudo (1985) e Oliveira (1988) no estado de SP. Paralelamente, Araujo & Lima (2005) realizaram o OPG das vacas e bezerros da propriedade onde foram mantidos os bezerros traçadores. Observaram que o OPG dos bezerros refletiu o número de helmintos recuperados nos bezerros traçadores, ou seja, com resultados altos de OPG durante a estação chuvosa. Em relação ao OPG das vacas, manteve-se baixo durante o período experimental, quando comparado aos bezerros. Porém, um discreto aumento do OPG foi observado na estação seca nas vacas. Outra diferença observada entre vacas e bezerros foi em relação às prevalências de nematódeos nas coproculturas. Nas vacas, foram observadas larvas de *Haemonchus* spp. seguida de *Trichostrongylus* spp. e *Cooperia* spp. Entretanto, nos bezerros, foram recuperadas larvas de *Cooperia* spp., *Haemonchus* spp., *Trichostrongylus* spp. e *Oesophagostomum* spp.

Na microrregião de Formiga, região Centro-Oeste de MG, Santos et al. (2010) realizaram um trabalho epidemiológico em bezerros (oito a 12 meses de idade) em que 16 espécies de helmintos foram recuperadas. Dentre os animais avaliados, houve uma carga parasitária média de 11.558 helmintos por bovino, sendo *C. punctata* e *H. placei* responsáveis por 58,3 e 35,1% da carga parasitária média total, respectivamente, com 100% de prevalência. Ademais, este estudo relatou pela primeira vez a ocorrência de *O. lyrata* e *O. trifurcata* no Estado de MG.

1.2 Região Sul

Em Londrina, Paraná (PR), Bricarello et al. (2007) investigaram a resistência natural ao parasitismo gastrointestinal de 100 bovinos da raça nelore com 11 a 12 meses de idade. A fim de verificar a carga parasitária e identificar as espécies de nematódeos presentes, 20 animais foram necropsiados. As espécies de parasitas observadas foram: *H. placei*, *H. similis*, *C. punctata*, *C. pectinata*, *C. spatulata*, *O. radiatum*, *T. globulosa* e *T. discolor*.

Ribeiro et al. (2014) avaliaram os aspectos epidemiológicos e a dinâmica das infecções gastrintestinais por helmintos em vacas e novilhas holandesas e girolandas, provenientes da mesorregião do sudoeste paranaense. As médias de OPG para novilhas e vacas foram de 306 e 29, respectivamente. Além disso, nas coproculturas, foram observadas larvas dos gêneros *Haemonchus* spp. (65,1%), *Trichostrongylus* spp. (34,9%), *Ostertagia* spp. (30,1%), *Cooperia* spp. (21,75%) e *Oesophagostomum* spp. (3,6%).

Cardoso et al. (2012), em Monte Castelo, Santa Catarina (SC) avaliaram a resistência natural de bovinos jovens naturalmente infectados por nematódeos gastrintestinais. Além dos ovos de estrongilídeos, foram observados, ovos de *Toxocara* spp., *Moniezia* spp., e oocistos de *Eimeria* spp. As coproculturas demonstraram a presença dos gêneros *Haemonchus* spp., *Ostertagia* spp., *Trichostrongylus* spp., *Cooperia* spp., e *Oesophagostomum* spp. Adicionalmente, os achados de necropsia revelaram que os animais estavam parasitados por: *T. axei*, *C. punctata*, *O. ostertagi*, *H. placei*, *O. radiatum*, *Trichuris* spp. e pelo cestódeo *Moniezia* spp.

Santiago et al. (1975), nos municípios de Santa Maria e Itaqui, Rio Grande do Sul (RS), por meio de necropsias mensais, estudaram a prevalência de helmintos em bovinos

(seis a oito meses de idade) e ovinos criados em mesma pastagem. Os nematódeos recuperados no intestino delgado e grosso dos bovinos foram: *C. punctata*, *C. curticei*, *C. pectinata*, além das espécies *C. oncophora* e *C. surnabada*, relatadas somente neste estado. Foram também observados exemplares de *T. colubriformis*, *N. spathiger*, *B. phlebotomum*, *C. bovis* e *O. radiatum*. Nos abomasos investigados, verificaram-se a presença de *Haemonchus* spp., *H. similis*, *T. axei* e três espécies de *Ostertagia*: *ostertagi*, *lyrata* e *circuncincta*.

A ocorrência do nematódeo pulmonar *D. viviparus* também foi descrita no RS, mais especificamente no município de Santa Maria, relatada em um surto de dictiocaulose em 15 bezerros de corte, com cinco a sete meses de idade (Silva et al. 2005).

1.3 Região Centro-Oeste

Carneiro et al. (1979), na bacia leiteira de Goiânia, GO, a fim de verificar a prevalência e a intensidade parasitária de helmintos, realizaram a necropsia de 20 bezerros na faixa etária de quatro a 12 meses. Foram recuperadas nove espécies de nematódeos gastrintestinais: *C. punctata*, *C. pectinata*, *H. similis*, *H. contortus*, *T. axei*, *O. radiatum*, *B. phlebotomum*, *A. wryburgi*, *S. papillosus*, e do cestódeo *M. benedeni*. Os parasitas mais prevalentes foram *Cooperia* spp., *Haemonchus* spp., *Oesophagostomum* spp. e *Trichuris discolor*, estando de acordo com os resultados encontrados por Pimentel Neto & Fonseca (2002) no RJ, e Santos et al. (2010) em MG.

No MT, Grisi & Nuernberg (1971) relataram a incidência de nematódeos gastrintestinais em 65 bovinos com idades variadas, provenientes de 13 municípios. Os resultados demonstraram que *Cooperia* spp. apresentou 61,5% de prevalência, sendo *C. punctata* a mais frequente em relação a *C. pectinata*, 82,4 e 17,6%, respectivamente. O segundo gênero mais prevalente foi *Haemonchus* spp., com 53,8%, sendo *H. similis* mais frequente em relação à *H. contortus* (76,1 e 23,9% de prevalência, respectivamente). Os demais parasitas observados foram: *O. radiatum*, *B. phlebotomum*, *T. discolor* e *T. axei*.

Na investigação conduzida por Melo & Biachin (1977) em uma área de cerrado distante 30 km de Campo Grande, MS, foram avaliados três grupos de bezerros. Um grupo era composto por animais naturalmente contaminados por endoparasitas e não tratados. Outro grupo era composto por bovinos traçadores e um terceiro grupo de animais foi subdividido em não tratados e tratados estrategicamente conforme os resultados de OPG e necropsia dos bovinos traçadores. Em relação às espécies recuperadas a partir da necropsia dos animais traçadores, foram observados: *C. punctata*, *C. pectinata*, *H. similis*, *H. contortus*, *T. axei*, *O. radiatum*, *B. phlebotomum* e achados esporádicos de *T. discolor*.

Estes mesmos autores relataram que as maiores cargas parasitárias foram recuperadas na estação seca nos animais necropsiados e não tratados. No entanto, a partir dos bovinos traçadores, observaram que neste período, a presença de larvas infectantes na pastagem foi baixa. Possivelmente, as altas cargas parasitárias encontradas nos animais não tratados poderiam ter ocorrido pela hipobiose ou “desenvolvimento interrompido” das larvas mediante condições climáticas adversas, e/ou devido à escassez de alimentos neste período crítico. Assim, a consequente subnutrição dos animais poderia ter um efeito adicional na parasitose. Em relação ao OPG do terceiro grupo do experimento, observaram dois picos de produção de ovos no início (setembro – outubro) e em meados (janeiro – fevereiro) da estação chuvosa.

No Pantanal Sul Mato-grossense, Catto & Ueno (1981) conduziram um estudo sobre os nematódeos gastrintestinais em 45 bezerros divididos em lactentes e desmamados. Observaram que as prevalências das espécies mais comuns e importantes para os bovinos estavam de acordo com os estudos de Grisi & Nuernberg (1971) e Melo

& Biachin (1977) descritas em estudos epidemiológicos nos estados do MT e MS, respectivamente, e não diferiram entre o grupo de lactentes quando comparado aos desmamados.

Em contrapartida, as intensidades médias de infecção parasitária demonstraram resultados distintos, pois foram recuperados 3.729 e 9.857 helmintos por animal, para lactentes e desmamados, respectivamente, demonstrando que a infecção parasitária aumentou à medida que os animais passaram a utilizar o pasto em maior proporção como fonte de alimento. Ademais, a presença dos parasitas *Toxocara vitulorum* e *S. papillosus* foi encontrada apenas em um bezerro necropsiado com seis semanas de idade (Catto & Ueno, 1981).

Em desacordo aos achados de Melo & Biachin (1977), os graus de infecção nos bezerros desmamados foram mais importantes na estação chuvosa. Além disso, a fim de obter informações referentes à relação entre o número de OPG e a percentagem de L3 na coprocultura *versus* a recuperação total de parasitas adultos, foram coletadas fezes diretamente da ampola retal desses animais no momento da necropsia, mas, os resultados foram contraditórios. Houve maior recuperação de larvas infectantes de *Haemonchus* spp. nas coproculturas, porém *Cooperia* spp. foi o gênero mais abundante recuperado nas necropsias. Para *Oesophagostomum* spp. e *Trichostrongylus* spp. as percentagens obtidas estiveram de acordo com o esperado. Ademais, o OPG foi razoável para demonstrar o efeito estacional e as mudanças nas populações de parasitas adultos (Catto & Ueno, 1981).

1.4 Região Nordeste

Santana et al. (1989) avaliaram a ocorrência e a variação estacional de helmintos parasitas de bovinos em quatro fazendas na região de Itaju do Colônia, na BA, por meio de bezerros infectados naturalmente que nunca receberam qualquer tratamento anti-helmíntico. *C. punctata*, *H. similis* e *O. radiatum*, foram as espécies mais comuns recuperadas a partir das necropsias, representando 90% do total de parasitas. A intensidade média de infecção parasitária foi de 5.193 helmintos por animal. Em relação ao efeito estacional, nos bezerros provenientes de dois locais de estudo, os graus de infecção foram baixos durante os meses de abril a setembro, coincidindo com o período de menor precipitação. Em contrapartida, nas outras duas fazendas, não foram observados quaisquer efeitos climáticos nos graus de infecção. Possivelmente devido à presença de aguadas (artificiais) existentes nessas propriedades, houve condições propícias para a sobrevivência das larvas durante a estação seca. O *D. viviparus* foi recuperado em 32% das necropsias, sendo mais evidente nos meses de julho a outubro.

Estes mesmo autores, ao avaliar o comportamento estacional dos nematódeos nas coproculturas, observaram uma predominância de *Cooperia* spp. seguido de *Haemonchus* spp. em todos os meses do experimento, *Oesophagostomum* spp. apresentou picos de prevalência quando a precipitação e a temperatura foram mais baixas, mas, mesmo em percentagens menores, esteve presente em quase todo o período experimental. No entanto, *Trichostrongylus* spp. ocorreu durante todo o período, mas demonstrou maior prevalência quando houve maior precipitação.

Ademais, neste mesmo estudo, houve uma predominância da espécie *H. similis* em relação a *H. contortus*. O mesmo foi verificado nos estudos epidemiológicos de Grisi & Nuernberg (1971) no estado do MT, e de Melo & Biachin (1977) e Catto & Ueno (1981) no estado do MS.

Em estudo conduzido por Girão et al. (1985), no estado do PI, as prevalências, intensidades de infecção e a variação estacional de helmintos foram avaliadas por meio de necropsias mensais, OPG e coprocultura em animais portadores de infecções naturais, divididos em duas faixas etárias (nove a 12 meses e 20 a 24 meses). Observaram que os

bovinos estiveram parasitados durante todo o ano. Os helmintos recuperados foram: *C. punctata*, *C. pectinata*, *C. curticei*, *H. contortus*, *H. similis*, *T. axei*, *T. colubriformis*, *O. radiatum*, *B. phlebotomum*, *C. bovis*, *S. papillosus*, *T. discolor*, *Setaria cervi*, *Paramphistomum* spp. e *M. benedeni*. *Cooperia* spp., *Haemonchus* spp., *T. axei* e *O. radiatum* foram os mais importantes em prevalência e intensidade. Observaram que a carga parasitária de *Cooperia* spp. foi mais intensa nos animais de nove a 12 meses. Em contrapartida, *H. similis* e *T. axei* foram mais prevalentes nos animais de 20 a 24 meses. Ademais, nesta última faixa etária, 12% dos animais estavam parasitados por *D. viviparus*.

Não houve diferença significativa na prevalência e intensidade média de infecção parasitária entre as faixas etárias e período estacional. No entanto, as contagens de OPG estiveram aumentadas na estação chuvosa, fato também observado por Melo & Biachin (1977) em área de cerrado na região do MS. Em relação às coproculturas, o gênero predominante foi *Haemonchus* spp., porém, o maior número de parasitas adultos recuperados nas necropsias pertenciam ao gênero *Cooperia* spp., o que está de acordo com os resultados encontrados por Catto e Ueno (1981) no MS (Girão et al. 1985). Esta discrepância entre a recuperação de parasitas adultos e larvas infectantes pode ter ocorrido pelo potencial de postura diária da fêmea parasita, pois as fêmeas do gênero *Haemonchus* spp. podem eliminar diariamente de 5.000-10.000 ovos, enquanto as fêmeas do gênero *Cooperia* spp. produzem cerca de 100-200 ovos (Ueno & Gonçalves 1998).

A fim de verificar quais os gêneros de helmintos que parasitavam os bovinos leiteiros no município de Fortaleza, Ceará (CE), Cardoso et al. (1979) avaliaram amostras de fezes de 755 animais jovens e adultos para OPG e coproculturas. Os resultados demonstraram que 443 (59%) dos animais foram positivos para ovos de helmintos gastrintestinais. O percentual de infecção parasitária nos animais jovens foi de 71%, contrastando com 46% observado nos animais adultos. Além disso, foram observados ovos de *Moniezia* spp. e *Toxocara* spp. Em relação à identificação das larvas infectantes, foram observadas L3 de *Haemonchus* spp., *Cooperia* spp., *Trichostrongylus* spp., *Oesophagostomum* spp., *Bunostomum* spp. e *Strongyloides* spp.

2 Epidemiologia dos endoparasitas em bovinos no mundo

2.1 América Central

No México, uma investigação demonstrou os parasitas que acometiam bovinos entre seis a oito meses de idade. Os helmintos recuperados a partir destes animais foram: *H. contortus*, *H. similis*, *O. radiatum*, *T. ovis*, *C. punctata*, e raros exemplares de *B. phlebotomum* (Prats et al. 2004).

Na Costa Rica, Jiménez et al. (2010) determinaram a prevalência de nematódeos gastrintestinais e pulmonares em bezerros com quatro a 12 meses de idade provenientes de cinco diferentes áreas do país. Pelo OPG, as médias das prevalências de ovos de parasitas encontrados variaram entre: ovos de estrongilídeos (62,1 a 77,9%), *S. papillosus* (4,1 a 20,4%), *Trichuris* spp. (7,8 a 14,5%), *M. benedeni* (1 a 1,7%) e *Eimeria* spp. (36,9 a 90,2%). Pela técnica de Baermann, L1 de *D. viviparus* foram observadas (0 a 2,3%). As coproculturas demonstraram que o gênero de maior prevalência foi *Haemonchus* spp., seguido de *Cooperia* spp., *Trichostrongylus* spp., *M. digitatus*, *Ostertagia* spp. e *Oesophagostomum* spp.

Neste mesmo país, Jimenez et al. (2008) em uma investigação soro epidemiológica (ELISA indireto), detectaram 93% fazendas com positividade para anticorpos anti *D. viviparus*. Em relação as amostras totais de soro, os dados demonstraram uma

prevalência de 17,5%. Além disso, o número médio ($\pm$ desvio-padrão) de animais positivos por fazenda foi $5,9 \pm 2,5$ e a média de idade foi $4 \pm 0,98$ anos.

2.2 América do Norte

Nos Estados Unidos da América (EUA), mais especificamente na região nordeste do estado do Mississippi, caracterizada por verões quentes e invernos amenos, Couvillion et al. (1996) investigaram a epidemiologia de nematódeos gastrintestinais em bovinos. Nas coproculturas foram observados cinco gêneros: *Cooperia* spp., *Ostertagia* spp., *Trichostrongylus* spp., *Oesophagostomum* spp. e *Nematodirus* spp. Em vacas, houve predominância de *Ostertagia* spp. e *Trichostrongylus* spp., e nos bezerros foi observado maior número de larvas de *Ostertagia* spp. e *Cooperia* spp. Em relação aos parasitas adultos recuperados a partir dos bovinos traçadores, observaram a presença de: *H. placei*, *O. ostertagi*, *T. axei*, *C. oncophora*, *C. punctata*, *C. surnabada*, *N. helvetianus*, *S. papillosus*, *O. radiatum*, *B. phlebotomum* e *T. ovis*. Além disso, houve predominância de exemplares de *O. ostertagi* e *Cooperia* spp.

No Estado de Oregon, nos EUA, Rickard e Zimmermann (1992) investigaram os nematódeos em bovinos. Nas necropsias, foram encontrados oito gêneros: *Ostertagia* spp., *Cooperia* spp., *Nematodirus* spp., *Trichostrongylus* spp., *Trichuris* spp., *Oesophagostomum* spp., *Haemonchus* spp. e *Capillaria* spp.

Ranjan et al. (1992), no Canadá (Quebec), realizaram uma investigação epidemiológica dos nematódeos gastrintestinais e pulmonares em bovinos. As coproculturas demonstraram que *Ostertagia* spp. e *Cooperia* spp. foram os gêneros mais prevalentes, seguidos, em menor proporção, de larvas de *Trichostrongylus* spp., *Oesophagostomum* spp., *Haemonchus* spp. e *Bunostomum* spp. Às necropsias, *Ostertagia* spp., *Cooperia* spp. e *Nematodirus* spp. foram os gêneros de maior prevalência. Além disso, foram recuperados, em menor número, exemplares de *Trichuris* spp., *Haemonchus* spp., *Strongyloides* spp., *Trichostrongylus* spp., *Bunostomum* spp. e *D. viviparus*.

Recentemente, Stromberg et al. (2015) investigaram a prevalência de endoparasitas em bovinos de corte com seis a 18 meses de idade em 24 estados dos EUA, no período entre 2007-2008. No total, 1772 amostras de fezes foram avaliadas pelas técnicas de Wisconsin modificada e centrifugo-flutuação dupla de Wisconsin para a presença de ovos e oocistos de parasitas. Os resultados demonstraram 85,6% amostras positivas para ovos de estrongilídeos, 18% para *Nematodirus* spp., 7,1% para *Trichuris* spp., 13,7% para *Moniezia* spp. e 59,9% para oocistos de coccídeos. Adicionalmente, as amostras contendo mais de 30 ovos de estrongilídeos foram selecionadas para a identificação dos gêneros por meio de reação da cadeia de polimerase (PCR), com alíquotas feitas a partir de *pool* de amostras (dois a seis animais). Os gêneros identificados foram: 91% *Cooperia* spp., 79% *Ostertagia* spp., 53% *Haemonchus* spp., 38% *Oesophagostomum* spp., 18% *Nematodirus* spp., 7% *Trichuris* spp., e 3% *Trichostrongylus* spp.

2.3 África

Keyyu et al. (2005), na República Unida da Tanzânia, determinaram a prevalência, distribuição e intensidade dos nematódeos gastrintestinais em bovinos jovens e adultos. Nas necropsias, houve predominância geral do gênero *Cooperia* spp. (51,6%), seguido de *O. radiatum* (35,7%) e *H. placei* (10,2%). Adicionalmente, exemplares de *O. ostertagi* foram recuperados, sendo descritos pela primeira vez na Tanzânia. No exame fecal, além dos ovos de estrongilídeos, foram observados ovos de *T. vitulorum* e *Strongyloides* spp. somente em bezerros, mas, ovos de *Moniezia* spp. estavam presentes nas fezes de

alguns animais nas diferentes faixas etárias. Em relação aos gêneros de larvas infectantes recuperados na pastagem, foram observados: *Cooperia* spp., *Oesophagostomum* spp. e *Haemonchus* spp.

Na República do Zimbábue, Pfukenyi et al. (2007) avaliaram o grau de parasitismo por nematódeos gastrintestinais, cestódeos e coccídeos em amostras fecais de bovinos em diferentes faixas etárias. Os resultados demonstraram que 43% das amostras foram positivas para ovos de estrongilídeos. As culturas das larvas infectantes demonstraram prevalência de 36,2% de *Cooperia* spp., 28,4% de *Haemonchus* spp., 23,7% de *Trichostrongylus* spp. e 9,6% de *Oesophagostomum* spp. As L3 de *S. papillosus* foram observadas somente nos bezerros. Ademais, ovos de *T. vitulorum* foram encontrados em alguns bezerros e *Trichuris* spp. em animais adultos. Em relação aos oocistos de coccídeos, houve uma prevalência de 19,8% de animais positivos. Por fim, o único cestódeo recuperado foi *M. benedeni* com uma prevalência de 4,8%.

Na República do Máli, Wymann et al. (2007) investigaram os parasitas gastrintestinais que acometiam os bezerros de 0 a 13 meses de idade, por meio de necropsia e exames coproparasitológicos. Foram observadas 15 espécies de parasitas, sendo 11 nematódeos, três cestódeos e um protozoário. A prevalência de animais positivos foi de 73%. O parasita mais recuperado nos animais foi *H. placei* (41%), seguido de *C. pectinata* (27%), *C. punctata* (24%) e *Moniezia* spp. (24%). Os demais helmintos observados foram: *T. axei* (6%), *Ostertagia* spp. (10%), *C. curticei* (4%), *B. phlebotomum* (8%), *O. radiatum* (6%), *S. papillosus* (2%), *Trichuris* spp. (2%), *T. vitulorum* (4%), *Stilesia* spp. (8%), e *Avitellina* spp. (2%). No OPG, 69% dos animais foram positivos para ovos de estrongilídeos, *S. papillosus* e oocistos de coccídeos.

2.4 Ásia

Holland et al. (2000) realizaram um estudo epidemiológico em bovinos no norte do Vietnã, a partir de OPG e da recuperação de parasitas de animais traçadores. Os animais positivos para ovos de estrongilídeos, *S. papillosus* e *T. vitulorum* demonstraram uma prevalência de 68%, 14,8% e 35,1%, respectivamente. As coproculturas demonstraram quatro gêneros, sendo: *Haemonchus* spp., *Trichostrongylus* spp., *Cooperia* spp., e *Oesophagostomum* spp. Os parasitas identificados a partir da necropsia dos bovinos traçadores, foram: *C. punctata*, *C. pectinata*, *C. oncophora*, *O. radiatum*, *T. axei* e *T. colubriformis*. O gênero *Cooperia* spp. foi o mais prevalente.

No Camboja, Dorny et al. (2011) estudaram a prevalência dos helmintos gastrintestinais em bovinos de diferentes idades, pelo OPG e cultura de larvas. A prevalência de animais positivos para nematódeos gastrintestinais foi de 52% em bezerros (1 a 6 meses), 44% em bovinos jovens (7 a 24 meses) e 37% em bovinos adultos (com mais de 24 meses). Nas coproculturas, *Cooperia* spp. foi o gênero mais prevalente (superior a 60%), seguido de *Oesophagostomum* spp. (15%), *Haemonchus* spp. (11%), *Trichostrongylus* spp. (10%), *Mecistocirrus* spp. (1%), e *Bunostomum* spp. (0,3%).

Em Taiwan, Huang et al. (2014) estimaram a prevalência de helmintos e protozoários em gado leiteiro por meio de exames coproparasitológicos. Houve uma prevalência global de 86,9% de animais positivos. Foram identificados oocistos de protozoários, ovos de nematódeos, cestódeos e trematódeos, nas prevalências de 81,3%, 7,9%, 1,6% e 0,6%. Em relação aos ovos de nematódeos, 5,8% eram de estrongilídeos, 2,6% eram de *T. globulosa*, 0,4% eram de *S. papillosus* e 0,2% de *Capillaria bovis*.

Lat-Lat et al. (2010) na Malásia, investigaram o parasita pulmonar *D. viviparus* por meio da técnica de Baermann e inspeção visual cuidadosa de pulmões oriundos de abatedouros. Os resultados demonstraram uma prevalência de 4,7% e 1,1% de casos positivos nas fezes e nos pulmões, respectivamente.

2.5 Europa

Na Bélgica, Agneessens et al. (2000) demonstraram uma prevalência de 94% de bovinos leiteiros adultos parasitados. Na avaliação do abomaso dos animais positivos, exemplares de *O. ostertagi* foram encontrados em 100% dos animais. Ademais, *T. axei* e *Haemonchus* spp., foram recuperados em 54 e 12% dos bovinos, respectivamente. Em contraste, no OPG, somente 14% das amostras foram positivas para ovos de estrongilídeos. Nas coproculturas, 64% foram positivas e os gêneros parasitas observados foram: *Ostertagia* spp. (100% das culturas), *Trichostrongylus* spp. (42%), *Oesophagostomum* spp. em (32%) *Haemonchus* spp. (29%) e *Cooperia* spp. (16%). Na pesquisa de anticorpos anti *D. viviparus*, houve uma prevalência de 7%.

Na Holanda, Borgsteede et al. (2000) em estudo similar ao de Agneessens et al. (2000), obtiveram resultados semelhantes. Em relação às análises dos abomasos dos bovinos adultos, houve uma prevalência de 95,6% de animais positivos. *O. ostertagi* estava presente em 100% dos abomasos, seguido por *T. axei* (43,5%). Além disso, as coproculturas revelaram que o gênero mais prevalente foi *Ostertagia* spp. (97%), seguido por *Trichostrongylus* spp. (29%), *Oesophagostomum* spp. (23%), *C. punctata* (20%), *C. oncophora* (4%), *H. contortus* (2%) e *B. phlebotomum* (1%). Nas amostras de fezes, 88,5% apresentaram ovos de nematódeos.

Na Espanha, Nogareda et al. (2006) avaliaram as infecções causadas por nematódeos gastrintestinais por meio de bovinos traçadores a partir dos três meses de idade. Em relação às larvas infectantes recuperadas a partir das culturas, foram observadas: *Ostertagia* spp., *Cooperia* spp., *Trichuris* spp., *Haemonchus* spp., *Trichostrongylus* spp., *Nematodirus* spp., *Bunostomum* spp., *Oesophagostomum* spp. e *Strongyloides* spp. A carga parasitária recuperada dos animais necropsiados foi composta por: *O. ostertagi* (98,5%) e *O. lyrata* (1,48%) no abomaso, *C. oncophora* (97,9%), *C. macmasteri* (1,9%) e *C. punctata* (0,2%) no intestino delgado. *M. benedeni* e *Bunostomum* spp., foram encontrados em pequena quantidade no intestino delgado. Além disso, *T. ovis*, foi o único parasita observado no intestino grosso.

Piekarska et al. (2013) avaliaram vacas leiteiras oriundas de 20 propriedades na Polônia. A infecção por parasitas gastrintestinais demonstrou ocorrer de forma frequente, com uma prevalência de 46,5% de animais positivos. As L3 obtidas pela coprocultura foram identificadas por meio de PCR, e três espécies foram observadas: *O. ostertagi*, *C. oncophora* e *O. radiatum*.

Em relação ao *D. viviparus*, Höglund et al. (2004), na Suécia, realizaram uma investigação sorológica em bezerros após a primeira estação de pastoreio para determinar a prevalência deste parasita. Os resultados demonstraram que 11,9% dos animais foram positivos para anticorpos anti *D. viviparus* e a prevalência de rebanhos positivos foi de 39,4%, com pelo menos um animal infectado.

CONCLUSÃO

A partir do levantamento de estudos proposto por esta revisão, no Brasil, de maneira geral, observou-se que houve uma predominância dos gêneros *Cooperia* spp. e *Haemonchus* spp. O nematódeo mais prevalente e com maior intensidade parasitária encontrado foi *C. punctata*. Para *Haemonchus* spp. foram identificadas as espécies: *H. similis*, *H. contortus* e *H. placei*. *O. radiatum* foi relatado nas investigações em todas as regiões. Ademais, *T. axei* pareceu ter ocorrido de forma mais frequente do que *T. colubriformes* e *T. longyspicularis*. Os demais nematódeos como *B. phlebotomum*, *A. wryburgi*, *C. bovis*, *S. papillosus*, *T. discolor*, *N. spathiger* e *Ostertagia* spp. também foram relatados. Por fim, o parasita de pulmão, *D. viviparus* foi identificado nos estudos do estado de SP, RJ, RS e BA.

Adicionalmente, em linhas gerais, observou-se que várias regiões do Brasil apresentam um clima caracterizado por dois períodos delimitados, que em alguns estudos, pareceu interferir substancialmente no comportamento dos parasitas: estação das chuvas (outubro a abril), com presença de pastagens abundantes, e estação de seca (maio a setembro), período crítico para os animais devido à escassez de alimento.

Em relação à epidemiologia no mundo, nos países de climas tropical e subtropical os achados foram semelhantes aos do Brasil, porém, com a presença de uma espécie de nematódeo diferente: *Mecistocirrus* spp. na Ásia. Nos países de clima temperado, houve predominância do parasita *Ostertagia* spp., bem como uma maior ocorrência de *C. oncophora*, que se caracterizam por apresentar maior adaptabilidade ao frio.

Concluiu-se com base na literatura atual, com ênfase principalmente na realidade brasileira, a necessidade de continuidade e/ou interesse por parte da comunidade científica para a realização de novos e/ou constantes estudos epidemiológicos de endoparasitas em bovinos, para que seja possível compreender a ocorrência das enfermidades parasitárias e verificar o estado atual dos rebanhos. Essas endoparasitoses não podem e tampouco devem ser negligenciadas e, ademais, estratégias de controle e prevenção são relevantes para potencializar a produtividade, diminuir custos econômicos e garantir o bem-estar dos animais de rebanho.

Agradecimentos: À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado.

REFERÊNCIAS²

- Abidu-Figueiredo M. Pires M.S., Sanavria A. & Reinecke R.K. 2011. Diagnóstico de larvas de primeiro estágio de nematóides gastrintestinais de bezerros leiteiros do município de Paty do Alferes-RJ. Semina: Ciências Agrárias, Londrina 32: 313-318.
- Achi Y.L., Zinsstag J., Yao K., Yeo N., Dorchies P. & Jacquet P. 2003. Host specificity of *Haemonchus* spp. for domestic ruminants in the savanna in northern Ivory Coast. Veterinary Parasitology. 116: 151-158.
- Agneessens J., Claerebout E., Dorny P., Borgsteede F.H. & Vercruysse J. 2000. Nematode parasitism in adult dairy cows in Belgium. Veterinary Parasitology 90: 83-92.
- Amarante A.F.T. 2011. Why is it important to correctly identify *Haemonchus* species? Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária 20: 263-268.
- Amarante A.F.T., Bagnola Junior J., Amarante M.R.V. & Barbosa M.A. 1997. Host specificity of sheep and cattle nematodes in Sao Paulo State, Brazil. Veterinary Parasitology 73: 89-104.
- Araujo R.N. & Lima W.S. 2005. Infecções helmínticas em um rebanho leiteiro na região Campo das Vertentes de Minas Gerais. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 57: 186-193.
- Borges F.A., Silveira D.M., Graminha E.B.N., Castagnolli K.C., Soares V.E., Nascimento A.A. & Costa A.J. 2001. Fauna helmintológica de bovinos da região de Jaboticabal, Estado de São Paulo, Brasil. Semina: Ciências Agrárias 22: 49-53.
- Borgsteede F.H., Tibben J., Cornelissen J.B., Agneessens J., & Gaasenbeek C.P. 2000. Nematode parasites of adult dairy cattle in the Netherlands. Veterinary Parasitology 89: 287-296.
- Bresciani K.D.S., Nascimento A.A., Costa A.J., Amarante A.F.T., Perri S.H.V. & Lima L.G.F. 2001. Frequência e intensidade parasitária de helmintos gastrintestinais em bovinos abatidos em frigorífico da região noroeste do Estado de São Paulo, SP, Brasil. Semina: Ciências Agrárias 22: 93-97.
- Bricarello P.A., Zaros L.G., Coutinho L.L., Rocha R.A., Kooyman F.N.J., De Vries E., Gonçalves J.R.S., Lima L.G., Pires A.V. & Amarante, A.F.T. 2007. Field study on nematode resistance in Nelore-breed cattle. Veterinary Parasitology 148: 272-278.
- Cardoso S.B., Girão R.N., Girão E.S. & Murta, J.L.C. 1979. Levantamento helmintológico em bovinos leiteiros de Fortaleza, Ceará. Revista do Centro de Ciências Rurais 9: 387-390.
- Cardoso C.P., Silva B.F., Trinca L.A. & Amarante A.F.T. 2013. Resistance against gastrointestinal nematodes in Crioulo Lageano and crossbred Angus cattle in southern Brazil. Veterinary Parasitology 192: 183-191.
- Carneiro J.R., Pereira E., Panicalli E., Mascarenhas J.R. & Jardim J.H.V. 1979. Ocorrência de helmintos gastrintestinais em bovinos na bacia leiteira de Goiânia. Revista de Patologia Tropical 8: 137-139.

² Elaboração das referências de acordo com as normas para publicação no periódico Pesquisa Veterinária Brasileira. Em anexo.

- Catto J.B. & Furlong J. Nematodioses gastrintestinais em bezerros Zebus no Pantanal Mato-grossense. III. Sub-região dos Paiaguás. 1983. Pesquisa Agropecuária Brasileira 18: 1265-1271.
- Catto J.B. & Ueno H. Nematodioses gastrintestinais em bezerros zebus no Pantanal Matogrossense I. Prevalência, intensidade de infecção e variação estacional. 1981. Pesquisa Agropecuária Brasileira 16: 129-140.
- Cezaro M.C., Tvarijonaviciute A., Tecles F., Céron J.J., Eckersall D.P., Ferreira J.C., & Schmidt, E. M.S. 2016. Changes in biochemical analytes in calves infected by nematode parasites in field conditions. Veterinary Parasitology 219:1-6.
- Couvillion C.E., Siefker C. & Evans, R.R. 1996. Epidemiological study of nematode infections in a grazing beef cow-calf herd in Mississippi. Veterinary Parasitology 64: 207-218.
- Dorny P., Stoliaroff V., Charlier J., Meas S., Sorn S., Chea B., Holl D., Aken D.V. & Vercruysse J. 2011. Infections with gastrointestinal nematodes, *Fasciola* and *Paramphistomum* in cattle in Cambodia and their association with morbidity parameters. Veterinary Parasitology 175: 293-299.
- Duarte M.J.F., Gomes P.A.C. & Sant'Anna D.B. 1982. Prevalência e intensidade de infecção helmíntica em bezerros de Cantagalo, RJ, Brasil. Pesquisa Agropecuária Brasileira 17: 1521-1524.
- Furlong J., Abreu H.G.L. & Verneque R.S. 1985a. Parasitoses dos bovinos na região da zona da mata de Minas Gerais I. Comportamento estacional de nematódeos gastrintestinais. Pesquisa Agropecuária Brasileira 20: 143-153.
- Furlong J., Novas J.C.V. & Cardoso Filho J.B. 1985b. Parasitoses dos bovinos na região da zona da mata de Minas Gerais II. Incidência estacional de nematódeos pulmonares. Pesquisa Agropecuária Brasileira 20: 1409-1413.
- Girão E.S., Girão R.N. & Medeiros L. P. 1985. Prevalência, intensidade de infecção e variação estacional de helmintos em bovinos no Estado do Piauí. Pesquisa Agropecuária Brasileira 20: 889-897.
- Grisi L. & Nuernberg, S. 1971. Incidência de nematódeos gastro-intestinais de bovinos, no Estado de Mato Grosso. Pesquisa Agropecuária Brasileira 6: 145-149.
- Grisi L., Leite R.C., Martins J.R.D.S., Barros A.T.M.D., Andreotti R., Cançado P.H.D., León A.A.P., Pereira J.B. & Villela, H. S. 2014. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária 23: 150-156.
- Höglund J., Viring S. & Törnqvist M. 2004. Seroprevalence of *Dictyocaulus viviparus* in first grazing season calves in Sweden. Veterinary Parasitology 125: 343-352.
- Holland W.G., Luong T.T., Nguyen L.A., Do T.T. & Vercruysse J. 2000. The epidemiology of nematode and fluke infections in cattle in the Red River Delta in Vietnam. Veterinary Parasitology 93: 141-147.
- Huang C.C., Wang L.C., Pan C.H., Yang C.H. & Lai C.H. 2014. Investigation of gastrointestinal parasites of dairy cattle around Taiwan. Journal of Microbiology, Immunology and Infection 47: 70-74.

- Jiménez A.E., Fernández A., Dolz G., Vargas B., Epe C. & Schnieder T. 2008. *Dictyocaulus viviparus* seroprevalence and epidemiology in Costa Rican dairy cattle. *Veterinary Parasitology* 154: 294-299.
- Jiménez A.E., Fernández A., Alfaro R., Dolz G., Vargas B., Epe C. & Schnieder T. 2010. A cross-sectional survey of gastrointestinal parasites with dispersal stages in feces from Costa Rican dairy calves. *Veterinary Parasitology* 173: 236-246.
- Junior P.I.F., Demoner L.C., Avelar B.R., Nunes L.C., Donatele D.M. & Martins L.V.F. 2008. Estudo parasitológico em bovinos leiteiros da microrregião do Caparaó, Espírito Santo, Brasil. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias* 103: 151-156.
- Keyyu J.D., Kyvsgaard N.C., Monrad J. & Kassuku A.A. 2005. Epidemiology of gastrointestinal nematodes in cattle on traditional, small-scale dairy and large-scale dairy farms in Iringa district, Tanzania. *Veterinary Parasitology* 127: 285-294.
- Landim V.J.C., Costa A.J., Costa G.H.N., Rocha U.F., Barbosa O.F. & Moraes, F.R. 2001. Parasitic nematodes in weaned calves from the north-east region of São Paulo State, Brazil. *Ars Veterinária* 17: 42-50.
- Lat-Lat H., Sani R.A., Hassan L., Sheikh-Omar A.R., Jeyabalan S., Hishammfariz M., Rohani K., Azlan E. & Ramli, P. 2010. Lungworm of cattle in Malaysia. *Tropical Biomedicine* 27: 236-240.
- Lima W.S. 1998. Seasonal infection pattern of gastrointestinal nematodes of beef cattle in Minas Gerais State—Brazil. *Veterinary Parasitology* 74: 203-214.
- Melo H.J.H. & Bianchin I. 1977. Estudos epidemiológicos de infecções por nematódeos gastrintestinais de bovinos de corte em zona de cerrado de Mato Grosso. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 12: 205-216.
- Neves J.H., Carvalho N., Rinaldi L., Cringoli G., & Amarante A. F. T. 2014. Diagnosis of anthelmintic resistance in cattle in Brazil: a comparison of different methodologies. *Veterinary Parasitology* 206:216-226.
- Nogareda C., Mezo M., Uriarte J., Lloveras J. & Cordero del Campillo, M. 2006. Dynamics of infestation of cattle and pasture by gastrointestinal nematodes in an Atlantic temperate environment. *Journal of Veterinary Medicine* 53: 439-444.
- Oliveira G.P. & Matsumoto, T. 1985. Prevalência e intensidade de infecção por helmintos em bovinos da bacia leiteira de São Carlos, São Paulo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 20: 1415-1418.
- Oliveira G.P. 1988. Epidemiologia dos nematódeos gastrintestinais de bovinos leiteiros no município de São Carlos, Estado de São Paulo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 23: 189-195.
- Pereira, J.R. 2011. Práticas de controle e prevalência de helmintos gastrintestinais parasitos de bovinos leiteiros em Pindamonhangaba, São Paulo, Brasil. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, Lages 10: 16-22.
- Piekarska J., Płoneczka-Janeczko K., Kantyka M., Kuczaj M., Gorczykowski M. & Janeczko K. 2013. Gastrointestinal nematodes in grazing dairy cattle from small and medium-sized farms in southern Poland. *Veterinary Parasitology* 198: 250-253.

- Pimentel Neto M. & Fonseca A.H. 2002. Epidemiologia das helmintoses pulmonares e gastrintestinais de bezerros em região de baixada do Estado do Rio de Janeiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 22: 148-152.
- Prats V.M.V., Crespo J.F., Valencia C.S., Rodríguez D.H., Franquez A.P., Hernández E.L. & Ortega A.P. 2004. Frecuencia de nemátodos gastroentéricos em bovinos de tres áreas de clima subtropical húmedo de México. *Técnica Pecuária em México* 42: 237-245.
- Pfukenyi D.M., Mukaratirwa S., Willingham A.L., & Monrad J. 2007. Epidemiological studies of parasitic gastrointestinal nematodes, cestodes and coccidia infections in cattle in the highveld and lowveld communal grazing areas of Zimbabwe. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 74: 129-142.
- Ranjan S., Trudeau C., Prichard R.K., Piché C. & Bauck S. 1992. Epidemiological study of parasite infection in a cow-calf beef herd in Quebec. *Veterinary Parasitology* 42: 281-293.
- Repossi Junior, P.F., Barcellos M.P., Trivilin L.O., Martins I.V.F. & Silva P.C.A.R. 2006. Prevalência e controle das parasitoses gastrintestinais em bezerros de propriedades leiteiras no município de Alegre, Espírito Santo. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 15: 147-150.
- Ribeiro C.M., Silva A.V., Pinzon D., Cassol P.C., Pizzi E., Machado T.R. & Katagiri S. 2014. Susceptibilidade à infecção por helmintos gastrintestinais em bovinos leiteiros da mesorregião do Sudoeste Paranaense, Brasil. *Veterinária e Zootecnia* 21: 154-159.
- Rickard L.G. & Zimmerman G.L. 1992. The epizootiology of gastrointestinal nematodes of cattle in selected areas of Oregon. *Veterinary Parasitology* 43: 271-291.
- Santana J.C.R., Barbosa S.J., Neto R.B. & da Luz, E.A.T. 1989. Ocorrência e variação estacional de helmintos parasitos de bovinos na região de Itaju do Colônia. *Agrossistema pastoril de Itapetinga. Pesquisa Agropecuária Brasileira* 24: 1235-1240.
- Santiago M.A.M., da Costa U.C. & Benevenga S.F. 1975. Estudo comparativo da prevalência de helmintos em ovinos e bovinos criados na mesma pastagem. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 10: 51-56.
- Santos T.R., Lopes W.D.Z., Buzulini C., Borges F.A., Sakamoto C.A.M., Lima R.C.A., Oliveira G.P. & Costa A. J. 2010. Helminth fauna of bovines from the Central-Western region, Minas Gerais State, Brazil. *Ciência Rural* 40: 934-938.
- Silva M.C., Barros R.R. & Graça D.L. 2005. Surto de dictiocaulose em bovinos no município de Santa Maria, RS, Brasil. *Ciência Rural* 35: 629-632.
- Stromberg B.E., Gasbarre L.C., Ballweber L.R., Dargatz D.A., Rodriguez J.M., Koprál C.A., & Zarlenga, D. S. 2015. Prevalence of internal parasites in beef cows in the United States: Results of the National Animal Health Monitoring System's (NAHMS) beef study, 2007-2008. *Canadian Journal of Veterinary Research* 79: 290-295.
- Wymann M.N., Bonfoh B., Traore K., Tembely S. & Zinsstag J. 2007. Species diversity and acquisition of gastrointestinal parasites in calves aged 0–13 months in periurban livestock production in Mali. *Veterinary Parasitology* 143: 67-73.

Quadro 1 – Levantamento retrospectivo de prevalência e intensidade média de infecção parasitária em bovinos naturalmente infectados por nematódeos gastrintestinais e pulmonares em estudos necroscópicos realizados em diversas Unidades Federativas do Brasil, no período de 1971 a 2010.

UF		SP ¹	SP ²	SP ³	SP ⁴	SP ⁵	RJ ⁶	RJ ⁷	MG ⁸	MG ⁹	GO ¹⁰	MT ¹¹	MS ¹²	MS ¹³	MS ¹⁴	BA ¹⁵	PI ¹⁶
Número de animais		74	40	55	48	42	35	98	50	76	20	65	24	45	12	48	50
Idade (meses)		8-20	8-18	8-10	24-30	8-14	2-12	6-9	7-9	8-12	4-12	-	-	1-24	9-12	4-5	9-24
Gênero	Espécie	P (IM)	P (IM)	P (IM)	P (IM)	P (IM)	P (IM)	P (IM)	P (IM)	P (IM)	P (IM)	P (IM)	P (IM)	P (IM)	P (IM)	P (IM)	P (IM)
<i>Haemonchus</i>	spp.	-	100 (1.223)	-	-	-	-	-	19,2	-	70 (237)	53,8	20	-	-	-	-
	<i>placei</i>	-	-	-	33,3	97,6 (2.009)	-	99 (1.055)	37,8	100 (3.895)	-	-	-	-	-	-	-
	<i>similis</i>	43,2 (115)	9,8	50,9 (186)	33,3	21,4 (174)	-	-	62,2	29 (159)	-	71,6	-	87,1 (1.527)	86,9 (1.923)	81,2 (483)	94 (952)
	<i>contortus</i>	100 (988)	90,1	94,5 (2.675)	-	-	71,4 (956)	-	-	-	-	23,9	-	69,6 (90)	60,8 (54)	72,9 (493)	90 (1.341)
<i>Ostertagia</i>	<i>ostertagi</i>	-	-	-	-	7,14 (12)	-	-	-	2,6 (3)	-	-	-	-	-	-	-
	<i>lyrata</i>	-	-	-	-	4,76 (3,5)	-	-	-	2,6 (1)	-	-	-	-	-	-	-
	<i>trifurcata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1,3	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cooperia</i>	spp.	-	100 (4.231)	-	-	-	-	100 (9361)	74,4	-	85 (633)	61,5	71	-	-	-	-
	<i>punctata</i>	100 (3.649)	81,1	100 (3.161)	54,2	92,8 (8.733)	80 (6.061)	-	93,3	100 (5.595)	-	82,4	-	88,6 (3.988)	95,6 (2.873)	95,8 (3.905)	98 (6.655)
	<i>pectinata</i>	44,6 (1.039)	18,9	70,9 (497)	2	19 (1.042)	11,4 (1.350)	-	3	34,2 (1.010)	-	17,6	-	49,6 (505)	47,8 (153)	8,3 (15)	74 (2.581)
	<i>curticei</i>	-	-	-	-	-	40 (2.019)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20 (260)
	<i>spatulata</i>	-	-	29 (51)	-	14,3 (769)	-	-	3,7	32,9 (137)	-	-	-	-	-	-	-
<i>Trichostrongylus</i>	spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>colubriformis</i>	-	-	-	-	2,38 (20)	-	-	-	10,5 (10)	-	-	-	-	-	8,3 (15)	28 (315)
	<i>longyspicularis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	2,6	-	-	-	22,3 (37)	-	-	-
	<i>axei</i>	24,3 (65)	11,1 (16)	69 (110)	-	26,2 (466)	11,4 (270)	§	-	69,7 (239)	20 (37)	6,1	4	42 (395)	13 (7)	8,3 (82)	88 (2.172)

<i>Strongyloides</i>	<i>papillosus</i>	-	-	-	-	2,38 (10)	31,4 (230)	§	-	1,3	5 (5)	-	-	12,5 (31)	-	-	-
<i>Bunostomum</i>	spp.	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>phlebotomum</i>	9,4 (33)	-	60 (32)	-	16,6 (53)	22,8 (100)	§	-	2,6	45 (29)	23	1	26,4 (4)	21,7 (11)	52 (32)	36 (5)
<i>Agriostomum</i>	<i>wryburgi</i>	2,7 (8)	-	-	-	-	2,86 (20)	-	-	-	5 (5)	-	-	-	-	16,6 (3)	-
<i>Capillaria</i>	<i>bovis</i>	-	-	3,6 (1)	-	11,9 (46)	-	-	-	9,2 (1)	-	-	-	-	-	-	-
<i>Oesophagostomum</i>	<i>radiatum</i>	86,5 (159)	100 (578)	98 (348)	41,7	73,8 (294)	31,4 (167)	89 (116)	4,5	94,7 (470)	40 (125)	26,1	4	82,9 (174)	73,9 (130)	79,1 (75)	94 (315)
<i>Trichuris</i>	spp.	-	-	-	-	-	2,8 (13)	64,2 (22)	-	-	-	-	-	-	-	47,9 (66)	-
	<i>discolor</i>	21,6 (34)	11,1 (5)	56,3 (47)	-	38,1 (66)	60 (114)	-	-	47,4 (32)	40 (255)	7,6	§	35,6 (38)	26 (51)	-	30 (4)
<i>Dictyocaulus</i>	<i>viviparus</i>	13,5 (382)	13,8 (86)	9,1	-	16,6 (21)	20	§	-	-	-	-	-	-	-	31,2 (24)	-
IM Total		6.472	6.139	7.109	-	13.718	11.300	10.554	-	11.558	1326	-	-	6.789	5.202	5.193	14.599

Oliveira & Matsudo 1985¹, Oliveira 1988², Landim et al. (2001)³, Bresciani et al. (2001)⁴, Borges et al. (2001)⁵, Duarte et al. (1982)⁶, Pimentel Neto & Fonseca, (2002)⁷, Lima (1998)⁸, Santos et al. (2010)⁹, Carneiro et al. (1979)¹⁰, Grisi & Nuernberg 1971¹¹, Melo & Biachin 1977¹², Catto & Ueno, 1981¹³, Catto & Furlong, 1983¹⁴, Santana et al. (1989)¹⁵, Girão et al. (1985)¹⁶.

UF: Unidade Federativa

spp.: espécies

P: Prevalência (%)

IM: Intensidade média parasitária

§ Achado esporádico

CAPÍTULO 2

*Neste capítulo consta o artigo “**Nematódeos gastrintestinais e pulmonares em bezerros naturalmente infectados nos municípios de Botucatu e Manduri, estado de São Paulo**”, que será enviado para publicação no periódico: *Veterinary Parasitology*. Normas de publicação no anexo.*

**Gastrointestinal and pulmonary nematodes in calves naturally infected in the cities
of Botucatu and Manduri, in the Brazilian state of São Paulo**

**Marcela C. Cezaro^a, José H. Neves^a, José R. L. M. Cury^a, Felipe M. Dalanezi^b,
Raphaela M. Oliveira^a, João C. P. Ferreira^b, Elizabeth M. S. Schmidt^{a,*}**

^aDepartment of Veterinary Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine and
Animal Science, São Paulo State University (FMVZ -UNESP), *campus* of Botucatu,
Botucatu, SP, Brazil.

^b Department of Animal Reproduction and Veterinary Radiology, School of Veterinary
Medicine and Animal Science, São Paulo State University (FMVZ -UNESP), *campus* of
Botucatu, Botucatu, SP, Brazil.

^{a,*} Corresponding author: Present Address: Elizabeth M.S. Schmidt, Department of
Veterinary Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine and Animal Science, São
Paulo State University (FMVZ -UNESP), *campus* of Botucatu. Rua Prof. Dr. Walter
Maurício Correa s/n, Bairro UNESP, 18.618-681, Cx Postal 560, Botucatu, SP, Brazil.

Phone: 0055 1438802052.

E-mail address: bethschmidt@fmvz.unesp.br

24 ABSTRACT

25 This study aimed to determine the occurrence of gastrointestinal and pulmonary
26 parasites in calves and to evaluate the seasonal influence and parasitism age. For this,
27 we used 140 clinically healthy crossbred calves (two to 12 months old) that belonged to
28 two private farms in the municipalities of Botucatu (n=53) and Manduri (n=87), São
29 Paulo state, Brazil. The calves were monitored for 12 months (from September 2014 to
30 August 2015). Fecal samples were collected directly from the rectum every three
31 months. Fecal egg counts were determined using the modified McMaster technique with
32 a sensitivity of 50 eggs per gram of feces (EPG). Coproculture was performed on
33 pooled samples to identify Strongylida infective larvae. First-stage larvae of
34 *Dictyocaulus viviparus* were identified by a modified Baermann method. The data
35 showed non-normal distribution (Shapiro-Wilk) and the nonparametric Kruskal-Wallis
36 test was employed to evaluate the EPG data by seasons and age groups. Dunn's post-
37 test was used for multiple comparisons ($P < 0.05$). The calves from Manduri farm
38 showed a significant increase in the fecal egg counts ($P < 0.0001$) in the winter when
39 compared to other seasons. Age groups of Botucatu farm calves differed significantly,
40 with young calves (2 – 3 months old) showing a higher EPG than old calves (8 – 12
41 months) ($P = 0.01$). The prevalence and overall mean of animals positive for
42 Strongylida type-eggs were 81.1% and 340 in Botucatu, respectively, versus 83.9% and
43 854 in Manduri, respectively. Furthermore, we found *Strongyloides* spp., *Moniezia* spp.,
44 and *Trichuris* spp. eggs and *Eimeria* spp. oocysts. The prevalent genera in all
45 coprocultures in decreasing order were: *Cooperia* spp., *Haemonchus* spp.,
46 *Oesophagostomum* spp., and *Trichostrongylus* spp. First-stage larvae of *Dictyocaulus*
47 *viviparus* were found only in Botucatu farm samples throughout the year, except in the
48 spring.

49 **Key words:** cattle, Brazil, *Dictyocaulus viviparus*, gastrointestinal nematodes.

50 1. Introduction

51 In Brazil, the epidemiology of parasitic infections in bovines was assessed by
52 several authors, in diverse states, including in São Paulo (SP) (Oliveira and Matsudo,
53 1985; Oliveira, 1988; Landim et al., 2001; Bresciani et al., 2001; Borges et al., 2001),
54 Minas Gerais (MG) (Furlong et al., 1985; Lima, 1998; Araujo and Lima, 2005; Santos
55 et al., 2010) and Rio de Janeiro (RJ) (Duarte et al. 1982; Pimentel Neto and Fonseca,
56 2002). Dealing more specifically with gastrointestinal and pulmonary nematodes, in
57 general, the genera and/or species observed were: *Cooperia* spp., *Haemonchus* spp.,
58 *Trichostrongylus* spp., *Oesophagostomum* spp., *Bunostomum* spp., *Agriostomum*
59 *wryburgi*, *Capillaria bovis*, *Strongyloides papillosus*, *Trichuris discolor*, and less
60 commonly *Ostertagia* spp. and *Dictyocaulus viviparus*.

61 Epidemiological studies of parasites supply relevant data. In addition to mapping
62 parasites that occur in a determinate region, it is possible to investigate and comprehend
63 changes that occur across time such as: adaptations, the appearance and/or
64 disappearance of species, emergence of resistance to anthelmintics, and, principally, the
65 development of strategies that aid in the control and prevention of these infections.

66 Thus, the present work aimed to investigate and supply epidemiological data on
67 gastrointestinal and pulmonary parasites in naturally infected calves, by means of
68 coproparasitological analyses, and to observe whether the parasitic infections can
69 present a behavior that is seasonal, and/or age-based.

70

71

72

73

2. Material and methods

The present study was approved by the Committee for the Ethical Use of Animals (protocol 18/2015 - CEUA) of FMVZ, UNESP - *campus* of Botucatu (Annex).

2.1 Locations of the study

The field works were conducted on two dairy farm properties located in the municipality of Botucatu (latitude south 22°91'46''; longitude west 48°35'25''), and Manduri (latitude south 23°02'51''; longitude west 49°18'42''), in the state of São Paulo, Brazil.

The climatic data referent to mean temperature (T°C) and accumulated rainfall (mm) for the Botucatu property, were obtained at the Environmental Sciences Area in the Department of Natural Resources, at the School of Agronomic Sciences, UNESP, *campus* of Botucatu, located 22.5 km from this property. The data for Manduri were obtained via the Agrometeorological and Hydrological Portal for the state of São Paulo from the meteorological station located at Ataliba Leonel Farm, at the edge of the urban zone of this municipality, belonging to the Coordinator of Integral Technical Assistance (CATI), of the Secretary of Agriculture and Food Distribution for the state of São Paulo, three km from the study location.

2.2 Animals

The 140 clinically healthy calves utilized were crossbred (Holstein x Gir), divided into 56 males and 84 females, aged from two to 12 months. The animals were

vaccinated against foot-and-mouth disease and females (from three to eight months) were immunized against brucellosis in accord with current law in relation to the National Program for Animal Health in Brazil (Brazil, 2009).

The managements of calves were similar between the two properties. The animals were weaned gradually at approximately six months of age and they were maintained in a pasture of *Brachiaria* spp. On the Botucatu property, the animals were supplemented with concentrate throughout the year. However, in Manduri, the calves received supplementation of corn silage only in winter.

In relation to anthelmintic use, the properties did not follow a deworming protocol. In the period prior to the collections (30 days) and during the study there was no treatment of the animals.

2.3 Coproparasitological collections and analyses

Four collections of feces were carried out on each property during a 12-month period: between the spring of 2014 and the winter of 2015. Each procedure was performed in one season of the year, as indicated in Table 1.

The collection of feces from each animal was made directly from the rectum with identified plastic bags. The samples were conditioned in a Styrofoam box with ice and sent to the Laboratory of Animal Parasitic Diseases at the Veterinary Teaching Hospital of Faculty of Veterinary Medicine (FMVZ), UNESP, *campus* of Botucatu for analysis.

The modified McMaster technique (Gordon and Whitlock, 1939) was employed for the counting of Strongylida type-eggs per gram of feces (EPG) with sensitivity of 50 EPG. When eggs and/or oocysts from other parasites were encountered, their presence was indicated. The coprocultures (Roberts and O'Sullivan, 1950) were accomplished in

a *pool* of samples, by property, in each collection. Approximately 2g of feces was collected from each animal and was mixed with samples from other animals in a plastic receptacle with a lid. The *pool* of samples was macerated with distilled water and mixed with sterilized wood shavings, at the approximate proportion of two parts of wood shavings per one part of feces. The receptacles were filled with the mixture to $\frac{3}{4}$ of their capacity. The coprocultures were maintained at 27°C for seven days and when necessary were humidified. Through this period, the larvae (L₃) were collected. The L₃ were identified according to the genus/specie based on the morphological and morphometric characteristics, namely: format of the cranial and caudal extremities, format of the esophagus and measurement of the total length of the larva and of the sheath tail (Ueno and Gonçalves, 1998; Amarante, 2011; van Wyk and Mayhew, 2013). In the case of the genus *Haemonchus*, the L₃ were differentiated in *H. placei* and *H. similis*, according to the measurement (mean $\pm$ standard error) of the total larval length (784.6 $\pm$ 2.3 μ m; 611.1 $\pm$ 5.4 μ m, respectively) and of the sheath tail (99.2 $\pm$ 0.7 μ m; 57.3 $\pm$ 0.8 μ m, respectively) (Santiago, 1968; Amarante, 2011). The modified Baermann method, described by Rugai, Mattos and Brisola (1954) was utilized for detecting the larvae in the first stage (L₁) of pulmonary nematodes by term and hydrotropism. The first-stage larvae of *D. viviparus* were identified according morphological characteristics, namely: slightly tapered tails with rounded ends. Additionally, the intestinal cells of the larvae are packed with nutrient granules (Anderson, 2000). When positive, the result was given as the quantity of larvae per field (objective 10x).

2.4 Statistical analyses

The statistical analysis was performed via the software GraphPad Prism version 6 for Windows (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). The EPG results of animals from the properties of Botucatu and Manduri were analyzed according to the season of the year (spring, summer, autumn, and winter) and age group (two to three, four to seven, and eight to 12 months old) of the calves. The descriptive analysis of the data was interpreted through medians, interquartile intervals (25% - 75%) and minimum and maximum values.

All variables were first assessed for normality using the Shapiro-Wilk test. The nonparametric Kruskal–Wallis test was used to compare the data. Dunn’s post-test was used for multiple comparisons as the data was not normally distributed. Statistical significance was set at $P < 0.05$ for all analyses.

3. Results

The mean temperature and monthly accumulated rainfall that were observed during the study period are presented in Figures 1 and 2. The global temperature means for Botucatu and Manduri were 21 and 20.3°C, respectively. For Botucatu and Manduri, the highest and lowest mean temperatures were registered in the months of January (25.4 and 25.1 °C) and July (17.6 and 16.3°C), respectively. In relation to monthly accumulated precipitation, the global mean was 135.7 mm for Botucatu and 103.7 mm for Manduri. The highest precipitations were observed in the month of September of 2014 in Manduri and between November of 2014 and March of 2015 in both.

The results of EPG counts from calves infected naturally by gastrointestinal nematodes in the four seasons of the year, on the properties in Botucatu and Manduri, SP, are presented in Figure 3. On the Botucatu property there was no significant difference ($P = 0.16$) in EPG counts in relation to the four seasons of the year. The same did not occur on the Manduri property, since it was observed that in winter there was a peak in the EPG count with significant increase ($P = 0.0006$) in relation to the other seasons.

The data were also analyzed according to age group of calves on the Botucatu and Manduri properties, and the results are presented in Figure 4. In the municipality of Botucatu, the animals aged up to three months presented EPG results significantly higher than those from calves eight to 12 months of age ($P = 0.01$). On the other hand, the EPG count from calves belonging to the Manduri property did not differ significantly in relation to age ($P = 0.89$).

The prevalences (%) of EPG positive animals observed in Botucatu and Manduri, SP, in different seasons of the year, are presented in Table 2. As to the degree of infection observed in animals, when divided into low EPG (≤ 200) and high EPG (>200) according to the threshold proposed by Vercruysse and Claerebout (2001), the respective prevalences observed in Botucatu were 56.6 and 43.4%. Meanwhile in Manduri, the prevalences were 41.4% and 58.6% for low and high EPG, respectively. When the EPG infection degree was categorized into one additional class, namely low (≤ 200), moderate (> 200 and ≤ 700) and high (> 700), as described by Pfukenyi et al. (2007), the respective observed prevalences in Botucatu were 56.6, 20.75, and 22.6%, while those in Manduri were: 41.4, 25.3, and 33.3%. In general lines, the global EPG mean of found throughout the experimental period on the Botucatu property was 340, whereas the EPG count in Manduri was 854.

The *Strongyloides* spp. eggs were counted separately, revealing a significant age difference in which the Botucatu property presented a higher number of eggs in the younger animals (two to three months old) when compared to animals from the other age groups ($P = 0.001$) (Figure 5). However, the same was not observed on the Manduri property, where the number of *Strongyloides* spp. eggs was relatively low throughout the period, given that of the 87 animals evaluated, only four animals presented eggs of this parasite, and did not differ significantly in relation to the age ($P = 0.51$).

Eggs from other parasites, such as: *Moniezia* spp., *Trichuris* spp., and oocysts from *Eimeria* spp. were observed by the modified McMaster technique. The prevalences for the Botucatu and Manduri properties are presented in Table 3.

The results of reading and identification of L_3 are presented in Tables 4 and 5. The predominant genera in all the coprocultures from the Botucatu and Manduri properties were *Cooperia* spp., followed by *H. placei*, *Oesophagostomum* spp. and *Trichostrongylus* spp. *H. similis* was identified only on the Manduri site, at a prevalence of 1% in autumn and in winter. On the Botucatu property, in the coproculture performed in winter, the presence of *Strongyloides* spp. L_3 was observed. The springtime coproculture accomplished in Manduri presented excessive fungal growth, which may have provoked the degeneration of larvae, thus precluding their successful recovery and identification.

The presence of L_1 from *D. viviparus* was observed only on the Botucatu property. When the fecal sample quantity was limited, preference was given to the EPG exam; therefore, in the summer season in Botucatu, out of a total of 11 animals, only seven were evaluated by a modified Baermann method. The same occurred on the Manduri property, given that only 73 of the 87 animals evaluated were tested for the study of L_1 from *D. viviparus* in feces, but all the animals presented negative results.

The prevalences in relation to seasons of the year in Botucatu showed that the presence of *D. viviparus* occurred through the entire year, except spring, in low levels of infection (rare to two specimens per field at 10x objective). In autumn there was a 50% prevalence (5/10) of positive animals, in winter 35% (7/20), and in summer 28.5% (2/7) of animals presented larvae of the pulmonary parasite. The age group of positive animals ranged from three to 11 months.

4. Discussion

The conditions of temperature and rainfall observed during the period were adequate for the survival and development of infective larvae of parasites throughout the year. Furthermore, in a general manner, the rainfall delimited two distinct periods, one characterized by abundant rains in the hotter months and the other with less precipitation in the colder months. In the same manner, in the state of MG, similar climatic conditions also enabled the development of larvae in the environment and the contamination of bovines by infective third-stages throughout the year (Lima 1998; Araujo and Lima 2005).

According to the observations of Oliveira (1988) in the city of São Carlos, state of SP, of Lima (1998) in the municipality de Governador Valadares, and of Araujo and Lima (2005) in the municipality of Carandaí, both in MG, the highest EPG counts in calves were obtained in the rainy season. However, to the contrary, on the Manduri property, there was a significant EPG peak in the winter, a season characterized by lower precipitation. Despite the supplementation of animals with corn silage in winter, this EPG peak may have been attributable to the unfavorable nutritional conditions of this season, when there is a scarcity and reduced quality of pasture available to the animals. In Camboja, Dorny et al. (2011) observed a significant relation in bovines that

presented high EPG, which was associated with a poorer score on body condition in the dry season. In addition, Amarante and Amarante (2016) commented that inadequate nutrition is frequently associated with an increase of EPG in ruminants in Brazil.

As to age group, on the Botucatu property, possibly the animals aged two to three months that presented significantly higher EPG counts, when compared to calves aged eight to 12 months, were exposed to a pasture highly contaminated with infective larvae at the same time they also had begun to use pasture as a food source. Nevertheless, these findings are in disagreement with Lima (1998) in the state of MG, who observed that the EPG of beef cattle extensively raised presented a gradual increase starting from three months until one year of age. Additionally, in Mato Grosso do Sul, Catto and Ueno (1981) when evaluating suckling and weaned bovines, observed that parasitism was more important in weaned animals, becoming more evident as the bovines came to utilize the pasture as the principal food source.

The same calves from two to three months of age, from the Botucatu property, presented *Strongyloides* spp. egg counts significantly higher in relation to the other age groups and, according to the investigation of Lima (1998) in MG, the *Strongyloides* spp. eggs are the first to be encountered in young animals, with a peak at two months of age. Keyyu et al. (2005) and Pfukenyi et al. (2007) when evaluating young and adult bovines, verified that eggs and L₃ of *Strongyloides* spp. were identified only in samples from calves. This fact may be attributed to the transmammary transmission capacity of L₃ from this parasite (Anderson, 2000).

In general, in EPG, besides Strongylida type-eggs, were identified eggs from *Moniezia* spp., *Trichuris* spp., *Strongyloides* spp. and oocysts from *Eimeria* spp., which also were observed in investigations by Repossi Junior et al. (2006) and Junior et al.

(2008) in the state of Espírito Santo, Brazil, Pfukenyi et al. (2007) in the Republic of Zimbabwe, Jimenéz et al. (2010) in Costa Rica and Huang et al. (2014) in Taiwan. The L₃ from *Cooperia* spp., *Haemonchus* spp., *Oesophagostomum* spp. and *Trichostrongylus* spp. identified in coprocultures, are in accord with Neves et al. (2014) in an investigation also carried out in the state of SP, and Araujo and Lima (2005) in the state of MG. Furthermore, they are in agreement with Holland et al. (2000) in Vietnam and Pfukenyi et al. (2007) in the Republic of Zimbabwe.

The use of the modified Baermann method proposed in this study demonstrated it is useful for diagnosing L₁ of *D. viviparus* in the patent phase. *D. viviparus* had been identified previously in the state of SP (Oliveira and Matsudo, 1985; Oliveira, 1988; Landim et al. 2001; Borges et al. 2001), RJ (Duarte et al., 1982; Pimentel Neto e Fonseca, 2002) and MG (Furlong et al., 1985) by means of necropsies of young bovines. Additionally, in the state of RS, there was an outbreak of dictyocaulosis in 15 beef calves, aged five to seven months. The death of two of these animals demonstrates the importance of this parasitism in Brazil (Silva et al., 2005). Moreover, Jimenéz et al. (2010) in Costa Rica and Lat-Lat et al. (2010) in Malaysia also identified L₁ from *D. viviparus* via the Baermann technique.

4. Conclusion

The animals from the properties of Botucatu and Manduri were contaminated with L₃ present in a pasture throughout the year, demonstrating that the climatic conditions were adequate for the survival and development of parasites in the environment. The results of the EPG count elevated in winter demonstrated a possible association with an unfavorable nutritional state in this season of the year. The presence of eggs from *Strongyloides* spp. appeared to be more important in younger animals, which may be related to the transmammary transmission of this parasite. As to the

identification of L₁ from *D. viviparus*, the method utilized was found to be not only useful but also inexpensive and easy to execute; observations exhibited a need for greater emphasis on coproparasitological exams to diagnose this parasite in bovines in Brazil.

Conflict of interest statement

None of the authors of this article has a financial or personal relationship with other people or organizations that could inappropriately influence or bias the content of the paper.

Acknowledgements

Marcela Cristina de Cezaro gratefully acknowledges the financial support of CAPES/Brazil. We are also grateful to Viviana H. V. Aristizabal, Henry D. M. García, Nadino Carvalho and Prof. Dr. Alessandro F. T. Amarante for the help in the sample collection, laboratory analyses and collaboration during this study.

320 **References**

- 321 Amarante, A.F.T., 2011. Why is it important to correctly identify *Haemonchus* species?
322 Rev. Bras. Parasitol. Vet. 20, 263-268.
- 323 Amarante, A.F.T., Amarante, M., R., V., 2016. Advances in the diagnosis of the
324 gastrointestinal nematode infections in ruminants. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 53: 127-
325 137.
- 326 Anderson, R.C., 2000. Nematode parasites of vertebrates: their development and
327 transmission. CABI, 650p.
- 328 Araujo, R.N., Lima, W.S., 2005. Infecções helmínticas em um rebanho leiteiro na
329 região Campo das Vertentes de Minas Gerais. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 57, 186-
330 193.
- 331 Borges, F.A., Silveira, D.M., Graminha, E.B.N., Castagnolli, K.C., Soares, V.E.,
332 Nascimento, A.A., Costa, A.J., 2001. Fauna helmintológica de bovinos da região de
333 Jaboticabal, Estado de São Paulo, Brasil. Semina: Ci. Agrárias. 22, 49 - 53.
- 334 Brasil., 2009. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Manual de
335 Legislação. Programas Nacionais de Saúde Animal do Brasil. Brasília, DF. 440p.
- 336 Bresciani, K.D.S., Nascimento, A.A., Costa, A.J., Amarante, A.F.T., Perri, S.H. V.,
337 Lima, L.G.F., 2001. Frequência e intensidade parasitária de helmintos gastrintestinais
338 em bovinos abatidos em frigorífico da região noroeste do Estado de São Paulo, SP,
339 Brasil. Semina: Ci. Agrárias. 22, 93-97.

- 340 Catto, J.B., Ueno, H., 1981. Nematodioses gastrintestinais em bezerros zebus no
341 Pantanal Matogrossense I. Prevalência, intensidade de infecção e variação estacional.
342 Pesq. Agropec. Bras. 16, 129-140.
- 343 Dorny, P., Stoliaroff, V., Charlier, J., Meas, S., Sorn, S., Chea, B., Holl, D., Aken, D.V.,
344 Vercruysse, J., 2011. Infections with gastrointestinal nematodes, *Fasciola* and
345 *Paramphistomum* in cattle in Cambodia and their association with morbidity
346 parameters. Vet. Parasitol. 175, 293-299.
- 347 Duarte, M.J.F., Gomes, P.A.C., Sant'anna, D.B., 1982. Prevalência e intensidade de
348 infecção helmíntica em bezerros de Cantagalo, RJ, Brasil. Pesq. Agropec. Bras. 17,
349 1521-1524.
- 350 Furlong, J., Novas, J.C.V., Cardoso Filho, J.B., 1985. Parasitoses dos bovinos na região
351 da zona da mata de Minas Gerais II. Incidência estacional de nematódeos pulmonares.
352 Pesq. Agropec. Brasileira 20: 1409-1413.
- 353 Gordon, H.McL., Whitlock, H.V. 1939. A new technique for counting nematode eggs in
354 sheep faeces. J. Commonw. Sci. Ind. Organ. 12, 50-52.
- 355 Holland, W.G., Luong, T.T., Nguyen, L.A., Do, T.T., Vercruysse, J., 2000. The
356 epidemiology of nematode and fluke infections in cattle in the Red River Delta in
357 Vietnam. Vet. Parasitol. 93, 141-147.
- 358 Huang, C.C., Wang, L.C., Pan, C.H., Yang, C.H., Lai, C. H., 2014. Investigation of
359 gastrointestinal parasites of dairy cattle around Taiwan. J. Microbiol. Immunol. Infect.
360 47, 70-74.

- 361 Jiménez, A.E., Fernández, A., Alfaro, R., Dolz, G., Vargas, B., Epe, C., Schnieder, T.,
362 2010. A cross-sectional survey of gastrointestinal parasites with dispersal stages in
363 feces from Costa Rican dairy calves. *Vet. Parasitol.* 173, 236-246.
- 364 Junior, P.I. F., Demoner, L.C., Avelar, B.R., Nunes, L.C., Donatele, D.M., Martins,
365 I.V.F., 2008. Estudo parasitológico em bovinos leiteiros da microrregião do Caparaó,
366 Espírito Santo, Brasil. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, v. 103, p. 151 –
367 156, 2008.
- 368 Keyyu, J.D., Kyvsgaard, N.C., Monrad, J., Kassuku, A.A., 2005. Epidemiology of
369 gastrointestinal nematodes in cattle on traditional, small-scale dairy and large-scale
370 dairy farms in Iringa district, Tanzania. *Vet. Parasitol.* 127, 285-294.
- 371 Landim, V.J.C., Costa, A.J., Costa, G.H.N., Rocha, U.F., Barbosa, O.F., Moraes, F. R.,
372 2001. Parasitic nematodes in weaned calves from the north-east region of São Paulo
373 State, Brazil. *Ars Veterinária*. 17, 42 - 50.
- 374 Lat-Lat, H., Sani, R.A., Hassan, L., Sheikh-Omar, A.R., Jeyabalan, S., Hishammfariz,
375 M., Rohani, K., Azlan, E., Ramli, P., 2010. Lungworm of cattle in Malaysia. *Trop.*
376 *Biomed.* 27, 236-240.
- 377 Lima, W.S., 1998. Seasonal infection pattern of gastrointestinal nematodes of beef
378 cattle in Minas Gerais State—Brazil. *Vet. Parasitol.* 74, 203-214.
- 379 Neves J.H., Carvalho N., Rinaldi L., Cringoli G., Amarante A. F. T., 2014. Diagnosis of
380 anthelmintic resistance in cattle in Brazil: a comparison of different methodologies. *Vet.*
381 *Parasitol.* 206, 216-226.

- 382 Oliveira, G.P., Matsudo, T., 1985. Prevalência e intensidade de infecção por helmintos
383 em bovinos da bacia leiteira de São Carlos, São Paulo. *Pesq. Agropec. Bras.* 20, 1415-
384 1418.
- 385 Oliveira, G. P., 1988. Epidemiologia dos nematódeos gastrintestinais de bovinos
386 leiteiros no município de São Carlos, Estado de São Paulo. *Pesq. Agropec. Bras.* 23,
387 189-195.
- 388 Pfukenyi, D.M., Mukaratirwa, S., Willingham, A.L., Monrad, J., 2007. Epidemiological
389 studies of parasitic gastrointestinal nematodes, cestodes and coccidia infections in cattle
390 in the highveld and lowveld communal grazing areas of Zimbabwe. *Onderstepoort J.*
391 *Vet. Res.* 74, 129–142.
- 392 Pimentel Neto, M., Fonseca, A. H., 2002. Epidemiologia das helmintoses pulmonares e
393 gastrintestinais de bezerros em região de baixada do Estado do Rio de Janeiro. *Pesq.*
394 *Vet. Bras.* 22, 148-152.
- 395 Portal Agrometeorológico e Hídrológico do Estado de São Paulo. Available in:
396 <<http://ciiagro.org.br/diario/cperiodo>>. Accessed in: 27 de janeiro de 2016.
- 397 Repossi Junior, P.F., Barcellos, M.P., Trivilin, L.O., Martins, I.V.F., Silva, P.C.A.R.,
398 2006. Prevalência e controle das parasitoses gastrintestinais em bezerros de
399 propriedades leiteiras no município de Alegre, Espírito Santo. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*
400 15, 147 – 150.
- 401 Roberts, F.H.S., O'Sullivan, P.J., 1950. Methods for egg counts and larval cultures for
402 strongyles infesting the gastro-intestinal tract of cattle. *Crop. Past. Sci.* 1: 99-102.
- 403 Rugai, E., Mattos, T., Brisola, A.P., 1954. Nova técnica para isolar larvas de nematóides
404 das fezes - Modificação do Método de Baermann. *Rev. Inst. Adolfo Lutz.* 14, 5-8.

- 405 Santiago, M.A.M., 1968. *Haemonchus* Cobb, 1898 (Nematoda: Trichostrongylidae).
406 Contribuição ao estudo da morfologia, biologia e distribuição geográfica das espécies
407 parasitas de ovinos e bovinos no Rio Grande do Sul. 89 f. Tese (Livre-Docência)-
408 Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- 409 Santos, T.R., Lopes, W.D.Z., Buzulini, C., Borges, F.A., Sakamoto, C.A.M., Lima,
410 R.C.A., Oliveira, G.P., Costa, A.J., 2010. Helminth fauna of bovines from the Central-
411 Western region, Minas Gerais State, Brazil. *Ciência Rural*. 40, 934 - 938.
- 412 Silva, M.C., Barros, R., Graça, D.L., 2005. Surto de dictiocaulose em bovinos no
413 município de Santa Maria, RS, Brasil. *Ciência Rural*. 35, 629-632.
- 414 Ueno, H., Gonçalves, P.C., 1998. Manual para diagnóstico das helmintoses de
415 ruminantes. Japan International Cooperation Agency. Tokyo, Japan. 140p.
- 416 van Wyk, J.A., Mayhew, E., 2013 Morphological identification of parasitic nematode
417 infective larvae of small ruminants and cattle: A practical lab guide. Onderstepoort J.
418 Vet. Res. 80, 1 - 14.
- 419 Vercruysse, J., Claerebout, E., 2001. Treatment vs non-treatment of helminth infections
420 in cattle: defining the threshold. *Vet. Parasitol.* 98, 195–214.
- 421
- 422
- 423
- 424
- 425
- 426

Table 1 - Collections of feces realized in crossbred calves according to seasons of the year (spring of 2014 – winter of 2015) on Botucatu and Manduri properties, state of São Paulo, Brazil

Collection	Seasons	Botucatu (n)	Manduri (n)
1	Spring	12	9
2	Summer	11	38
3	Autumn	10	25
4	Winter	20	15
Overall		53	87

n: number of animals

Table 2 - Prevalence (%) of calves positive in egg count per gram of feces (EPG) in different seasons of the year in dairy farm properties located in the municipalities of Botucatu and Manduri, SP, Brazil, in the period from September of 2014 to August of 2015

	Botucatu (%)	Manduri (%)
Spring	91.6 (11/12)	66.6 (6/9)
Summer	91 (10/11)	79 (30/38)
Autumn	80 (8/10)	88 (22/25)
Winter	70 (14/20)	100 (15/15)
Overall	81.1 (43/53)	83.9 (73/87)

(positive animals/total animals)

440 Table 3 - Prevalence (%) of eggs and oocysts of parasites in calves evaluated in
 441 different seasons of the year in dairy farm properties located in the municipalities of
 442 Botucatu and Manduri, SP, Brazil, in the period spanning September of 2014 to August
 443 of 2015

		<i>Moniezia</i> spp. (%)	<i>Trichuris</i> spp. (%)	<i>Eimeria</i> spp. (%)
Spring	Botucatu	8.3	0	83.3
	Manduri	11.1	11.1	0
Summer	Botucatu	36.3	0	54.5
	Manduri	7.9	0	47.3
Autumn	Botucatu	0	0	20
	Manduri	8	0	76
Winter	Botucatu	5	0	80
	Manduri	13.3	6.6	33.3
Overall mean	Botucatu	11.3	0	64.1
	Manduri	9.2	2.3	48.3

444

445 Table 4 - Prevalence (%) of infective larvae (L₃) from gastrointestinal nematodes
 446 recovered from coprocultures accomplished in a *pool* of samples from calves naturally
 447 infected by season of the year on the Botucatu, SP, Brazil, dairy farm property in the
 448 period from September of 2014 to August of 2015

Infective larvae (L₃)					
Seasons	<i>Cooperia</i> spp. (%)	<i>H. placei</i> (%)	<i>H. similis</i> (%)	<i>Oesophagostomum</i> spp. (%)	<i>Trichostrongylus</i> spp. (%)
Spring	60	39	-	-	1
Summer	94	3	-	3	-
Autumn	93	6	-	1	-
Winter	63	21	-	14	2

449

Table 5 - Prevalence (%) of infective larvae (L₃) from gastrointestinal nematodes recovered from coprocultures accomplished in a *pool* of samples from calves naturally infected by season of the year on the Manduri, SP, Brazil, dairy farm property in the period from September of 2014 to August of 2015

Seasons	Infective larvae (L ₃)				
	<i>Cooperia</i> spp. (%)	<i>H. placei</i> (%)	<i>H. similis</i> (%)	<i>Oesophagostomum</i> spp. (%)	<i>Trichostrongylus</i> spp. (%)
Spring	-	-	-	-	-
Summer	88	10	-	2	-
Autumn	58	27	1	13	1
Winter	76	20	1	2	1

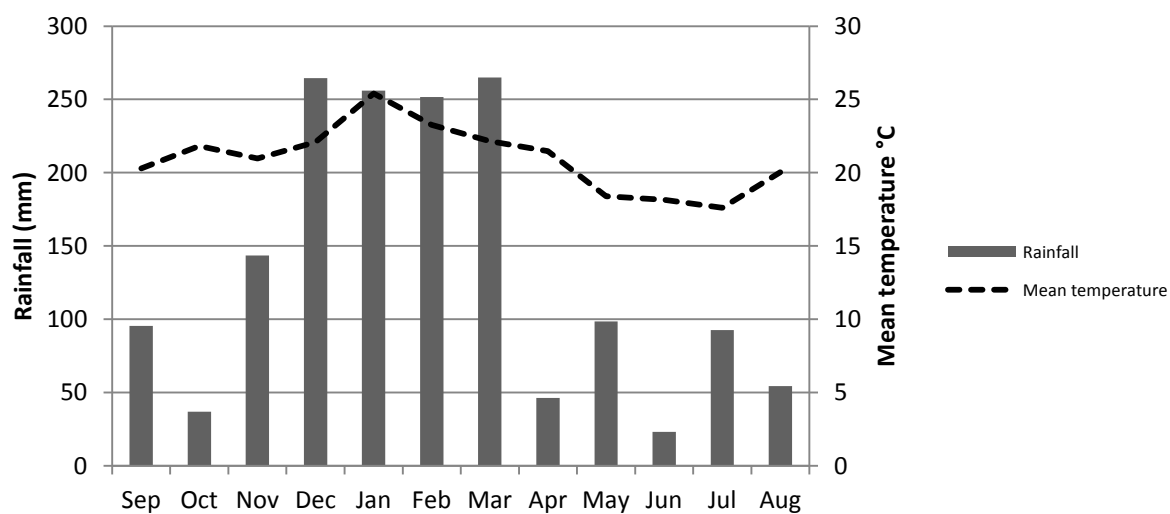
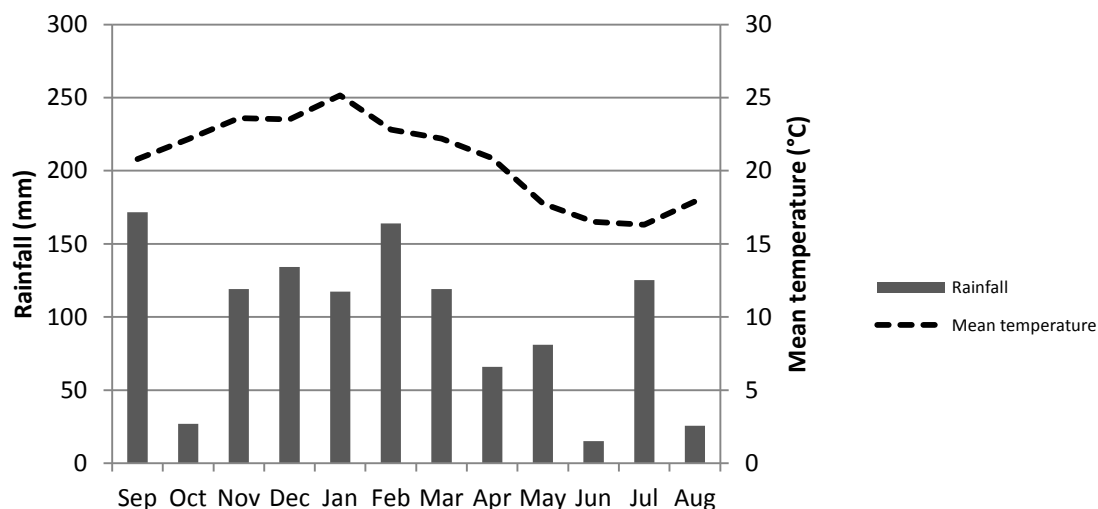
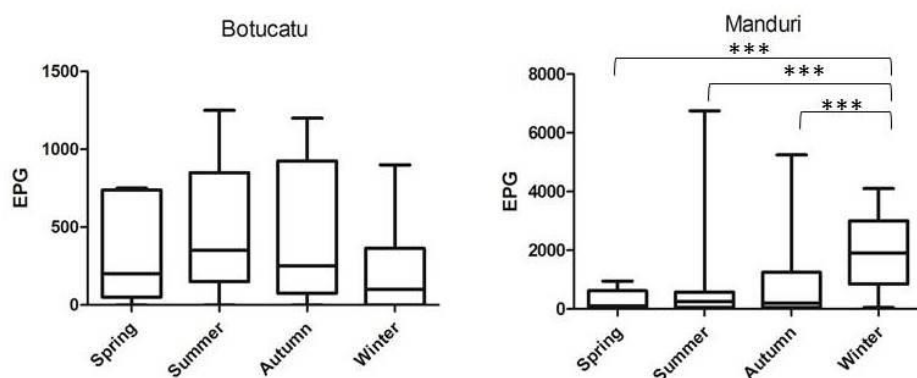


Figure 1 - Mean temperature and accumulated monthly rainfall in the municipality of Botucatu, SP, Brazil, during the experimental period, comprising the period between September of 2014 to August of 2015



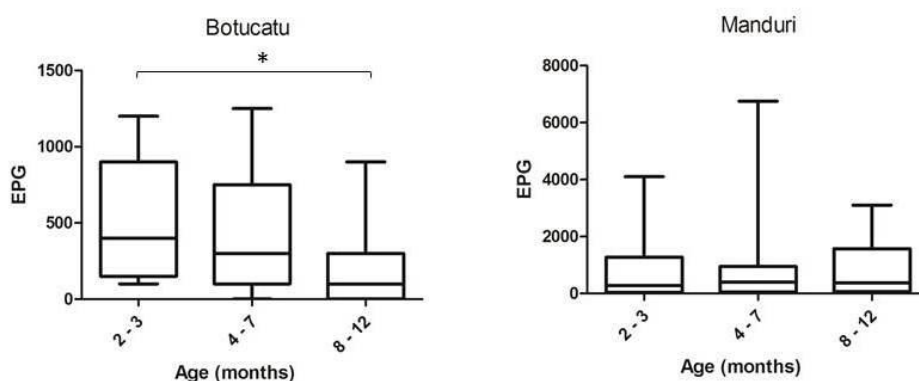
460

461 Figure 2 - Mean temperature and accumulated monthly rainfall in the municipality of
 462 Manduri, SP, Brazil, during the experimental period, comprising the period between
 463 September of 2014 to August of 2015



464

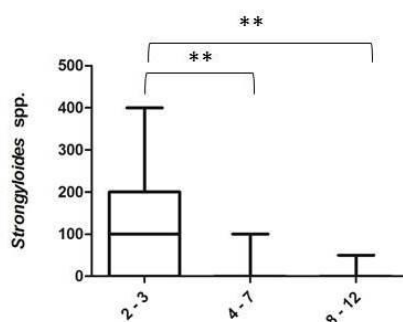
465 Figure 3 - Count of eggs per gram of feces (EPG) in calves naturally infected in
 466 different seasons of the year on a dairy farm properties located in the municipalities of
 467 Botucatu and Manduri, SP, Brazil, between September of 2014 and August of 2015.
 468 Horizontal lines represent the median and interquartile intervals. *** $P < 0.0001$



469

470 Figure 4 - Count of eggs per gram of feces (EPG) in naturally infected calves divided
 471 into age groups on a dairy farm properties located in the municipalities of Botucatu and
 472 Manduri, SP, Brazil, in the period spanning September of 2014 to August of 2015.
 473 Horizontal lines represent the median and interquartile intervals. * $P = 0.01$

474



475

476 Figure 5 - Count of *Strongyloides* spp. eggs per gram of feces (EPG) in naturally
 477 infected calves divided into age groups on a property in Botucatu, SP, Brazil, in the
 478 period spanning September of 2014 to August of 2015. Horizontal lines represent the
 479 median and interquartile intervals. ** $P = 0.001$

480

CAPÍTULO 3

*Neste capítulo consta o artigo “**Changes in biochemical analytes in calves infected by nematode parasites in field conditions**”, que está publicado no periódico: *Veterinary Parasitology*, v. 219, p. 1 – 6, 2016.*



Contents lists available at ScienceDirect

Veterinary Parasitology

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

Changes in biochemical analytes in calves infected by nematode parasites in field conditions[☆]



Marcela C. de Cezaro^a, Asta Tvarijonaviciute^b, Fernando Tecles^b, José J. Céron^b,
David P. Eckersall^c, João C.P. Ferreira^d, Elizabeth M.S. Schmidt^{a,*}

^a Department of Veterinary Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University (FMVZ–UNESP), Campus of Botucatu, SP, Brazil

^b Interdisciplinary Laboratory of Clinical Pathology, Interlab-UMU, Campus of Excellence Mare Nostrum, University of Murcia, Spain

^c Institute of Biodiversity, Animal Health and Comparative Medicine, College of Medical, Veterinary and Life Sciences, University of Glasgow, UK

^d Department of Animal Reproduction and Radiology, School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University (FMVZ–UNESP), Campus of Botucatu, SP, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 26 November 2015

Received in revised form 19 January 2016

Accepted 21 January 2016

Keywords:

Haptoglobin
Acetylcholinesterase
Cholesterol
Cooperia spp.
Dictyocaulus viviparus
Nematodes

ABSTRACT

Parasitic infections caused by nematodes are a major problem in bovines that resulting in losses in animal health and production. Thus, the aim of this study was to evaluate alterations in selected serum biochemical analytes in calves naturally infected with gastrointestinal (GI) and pulmonary nematodes without clinical signs. For this, samples of feces and blood of 86 calves were collected. Fecal egg counts (FEC) were determined using the modified McMaster technique with a sensitivity of 50 eggs per gram of feces (EPG). Positive nematode FEC was processed for coproculture using pooled samples to identify Strongylidae infective larvae (L3). First stage-larvae (L1) of *Dictyocaulus viviparus* were identified by a modified Baermann method. The biochemical analytes determined were: acute phase proteins such as haptoglobin and paraoxonase type 1; the enzymes acetylcholinesterase; butyrylcholinesterase; the lipid profile (triglycerides and total, HDL, and LDL-cholesterol); serum iron profile (iron and unsaturated iron-binding capacity); total protein and albumin; pancreatic profile (amylase and lipase); and minerals (phosphorus and calcium). The calves were divided into four groups according to the results of EPG and the modified Baermann method. Group 1: healthy control animals ($n = 16$); Group 2: calves with only GI parasites ($n = 51$). This group was sub-divided into sub-groups according to the EPG threshold: 2a—GI parasites with low EPG ($n = 23$), and 2b—GI parasites with high EPG ($n = 28$). Group 3: animals with only lungworms ($n = 5$), and Group 4: calves with lung + GI parasites ($n = 14$). The more prevalent genera in all coprocultures were: *Cooperia* spp., *Haemonchus* spp., *Oesophagostomum* spp., and *Trichostrongylus* spp. The nonparametric Kruskal–Wallis test was used to compare the groups and Dunn's post-test was used for multiple comparisons as the data was not normally distributed ($P < 0.05$). The haptoglobin concentration increased in calves with GI and pulmonary parasites. A significant increase in acetylcholinesterase was observed in calves infected with lungworms. Cholesterol, triglycerides, HDL, and LDL concentrations decreased but lipase concentration increased in calves with GI parasites. Therefore, this paper provides an overview of the biochemical effects produced by nematode parasites in calves in field conditions. These findings in calves without any evident clinical signs of disease could provide an indication of GI parasites and lungworm infection, especially in an endemic area for these parasites.

© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.

[☆] The data regarding the nematode parasites prevalence was originally presented at the 42nd Brazilian Congress of Veterinary Medicine: Cezaro, M.C., Cury, J.R.L.M., Oliveira, R.M., Schmidt, E.M.S., 2015. Ocorrência de infecção por *Dictyocaulus viviparus* em bezerros no município de Botucatu, SP. In: 42º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária e 1º Congresso Sul-Brasileiro da ANCLIVEPA, Curitiba, 0204–0208 PR, Brazil.

* Corresponding author. Present address: Department of Veterinary Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University (FMVZ–UNESP), Campus of Botucatu, Distrito de Rubião Jr, s/n. 13.618-000, Botucatu, SP, Brazil.

E-mail addresses: bethschmidt@fmvz.unesp.br, schmidt.beth@gmail.com (E.M.S. Schmidt).

1. Introduction

Parasitic infections caused by nematodes in cattle are a major health problem around the world. Disease caused by nematodes both in clinical and subclinical presentations result in major losses to animal health and production (Charlier et al., 2009). In Brazil, the distribution of these parasites is favored by the predominance of tropical and subtropical climates. Estimated economic losses caused by gastrointestinal (GI) nematodes are around 7.11 billion dollars/year in Brazil (Grisi et al., 2014).

The most frequent GI nematodes in cattle in São Paulo State in southeastern Brazil are: *Haemonchus* spp. and *Ostertagia* spp., parasites of the abomasum; *Cooperia* spp., *Trichostrongylus* spp., and *Strongyloides* spp., parasites of the small intestine and *Oesophagostomum* spp., parasite of the large intestine. Additionally, the lung nematode *Dictyocaulus viviparus* has been reported in ruminants in São Paulo State (Oliveira, 1988; Gonçalves et al., 2000; Borges et al., 2001; Landim et al., 2001). These species of gastrointestinal nematodes are reported to be present worldwide (Keyyu et al., 2005; Holland et al., 2000; Jiménez et al., 2010), while, *D. viviparus* is most frequently described in temperate climates (Ploeger, 2002; Wapenaar et al., 2007; Lat-Lat et al., 2010). For all these parasites, the definitive host is infected by ingestion of infective larvae (L3) from contaminated pasture (Anderson, 2000) with the infection, in general being caused by mixed nematode species.

A variety of pathological effects occur during infection with these parasites such as anemia, weight loss, anorexia, dehydration, diarrhea, and submandibular edema (bottle jaw) among others (Taylor et al., 2007; Hogg et al., 2010), and when the lung parasite is also present, there could be coughing and tachypnea (Anderson, 2000; Silva et al., 2005). The clinical presentations of cattle with these parasitic infections differ by multiples factors, including the age of the animal. Calves are highly susceptible, because of the immature immune system, thus, in their first grazing season they commonly display clinical signs (Höglund et al., 2001). However, in many cases, individuals with a high parasite burden may not show any clinical signs. These subclinically infected calves are potential contaminators of pasture for the other animals (Taylor et al., 2007). Additionally, there is a decrease in production and weight gain, resulting in delayed development and furthermore this condition also adversely affects the animal's welfare (Gibbs, 1992).

We hypothesized that calves infected with GI and/or pulmonary nematodes but without clinical signs have changes in selected biochemical analytes related to inflammation, lipid and iron metabolism, pancreatic function and Ca-P metabolism, which could be used as tools to raise the possibility of infection despite the absence of clinical signs. Therefore, the aim of this study was to evaluate a panel of various serum analytes in calves naturally infected with GI and pulmonary nematode but without clinical signs. For this purpose the concentrations of selected acute phase proteins: haptoglobin (Hp), and paraoxonase-1 (PON-1), the enzymes acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE), a lipid profile (cholesterol, triglycerides, HDL, and LDL), a serum iron profile: iron and unsaturated iron-binding capacity (UIBC), total protein and albumin, a pancreatic profile (amylase and lipase) and minerals (phosphorus and calcium) were determined.

2. Material and methods

2.1. Animals

The study population comprised 86 crossbreed (Holstein × Girolanda) calves from 2 to 24 months old. The animals belonged to two small private farms in the municipalities of Botucatu and Manduri, São Paulo State, in the southeastern region of

Brazil. The calves were monitored for 12 months (from September 2014 to August 2015). Blood and feces samples were collected every three months during the same week for both farms. This study was approved by the Faculty's Animal Experimentation Ethics Committee of the São Paulo State University—FMVZ, UNESP, Botucatu (18/2015—CEUA).

The calves were monitored clinically in both farms by weekly veterinary inspections, including a general visual inspection, evaluation of body condition score, oral mucous membranes examination, feces visual inspection, and rectal temperatures measurements. The animals were considered to be healthy if they did not show any evident clinical signs at the inspection and had rectal temperatures less than 39.5 °C. The animals were vaccinated for foot and mouth disease, and brucellosis according to current legislation in the Animal Health National Programs in Brazil (MAPA, 2009).

2.2. Fecal testing

Samples of feces were collected directly from the rectum of each animal and stored in a labeled plastic bag. Feces were transported at 4 °C to the Laboratory of Animal Parasitic Diseases of the Veterinary Teaching Hospital of the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science (FMVZ), Botucatu, São Paulo State, Brazil for analysis. Fecal egg counts were determined using the modified McMaster technique with a sensitivity of 50 eggs per gram of feces (EPG) (Gordon and Whitlock, 1939). Depending on the EPG results, the animals were divided into subgroups, according to the threshold defined by Vercruyse and Claerebout (2001) and Antonello et al. (2010). Positive nematode egg feces were processed for coproculture (Roberts and O'Sullivan, 1950). In brief, coprocultures were prepared by mixing approximately 2 g of feces from each EPG positive animal to make farm pools which were macerated with distilled water, sterilized wood shavings, and incubated at 27 °C for seven days. One hundred larvae were counted under a microscope and the results were expressed as the proportion (%) of L3 recovered. Identification of Strongylidae infective larvae (L3) and the percentage of L3 were determined according to Ueno and Gonçalves (1998), Amarante, (2011) and Van Wyk and Mayhew (2013), using pooled samples. Fecal first larval stage (L1) of *D. viviparus* was determined by a modified Baermann method described by Rugai et al. (1954).

2.3. Blood analysis

Blood samples were collected from the jugular vein in plain tubes with gel separators, which were allowed to clot at room temperature for 30 min. After centrifugation (1500 × g for 5 min) sera were stored in Eppendorf microtubes at −20 °C.

2.3.1. Biochemical profile

Serum haptoglobin concentrations were measured via a hemoglobin binding assay previously validated for use in bovine (Eckersall et al., 1999). Serum PON-1 was determined using p-nitrophenyl acetate as substrate in an automated clinical chemistry analyzer (Olympus AU2700, Olympus Diagnostica GmbH) using an adaptation of a previously described assay (Tvarijonavičiute et al., 2012).

The AChE and BChE concentrations were determined using previously described method (Tecles and Cerón, 2001) adapted to an automated analyser (Olympus AU400, Olympus Diagnostica GmbH).

Total serum cholesterol, triglycerides, HDL and LDL; total protein, albumin; amylase, lipase, calcium, and phosphorus were measured using an automated analyzer (Olympus AU600, Olympus Diagnostica GmbH), following the instructions of the manufacturer using Olympus commercial kits.

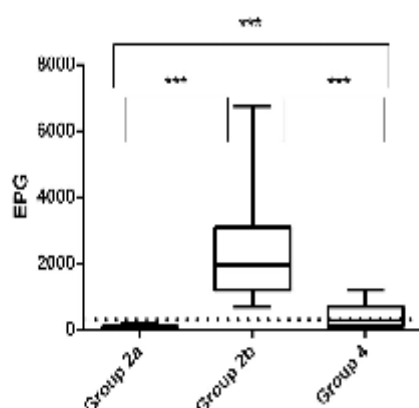


Fig. 1. Fecal egg counts (eggs per gram of feces—EPG) among calves naturally infected by GI parasites (Groups 2a and 2b), and with lung + GI parasites (Group 4). Horizontal dotted line (200 EPG threshold). *** $P < 0.0001$. Groups 1 and 3 are not included (EPG = 0).

Serum iron (Iron OSR6186, Beckman Coulter), and the unsaturated iron-binding capacity (UIBC) (UIBC OSR6124, Beckman Coulter) concentrations were determined via quantitative assays with an automated analyzer (Olympus AU2700, Olympus Diagnostica GmbH).

All the intra and inter-assays showed a within run variation of less than 10%.

2.4. Statistical analysis

Statistics were performed using the statistical software (GraphPad Prism Version 6 for Windows, GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Data are reported as median, percentiles (25 and 75%), and range (minimum and maximum) unless otherwise stated. All variables were first assessed for normality using the Shapiro–Wilk test. The nonparametric Kruskal–Wallis test was used to compare the groups and Dunn's post-test was used for multiple comparisons as the data was not normally distributed. Statistical significance was set at $P < 0.05$ for all analyses.

3. Results

The calves were divided into four groups according to the results of the EPG and by modified Baermann method. Group 1 consisted of 16 healthy control animals (negative EPG, and negative modified Baermann); Group 2 consisted of 51 calves with only GI parasites (EPG positive and negative modified Baermann). This group was sub-divided into sub-groups: 2a—GI parasites with low EPG ($n = 23$) and 2b—GI parasites with high EPG ($n = 28$) according to the EPG threshold (Group 2a: < 200 ; Group 2b: > 200) (Vercruysse and Claerebout, 2001; Antonello et al., 2010). Group 3 consisted of five animals with only lungworms (EPG negative and positive Baermann method), and Group 4 consisted of 14 calves with lung + GI parasites (positive EPG and positive Baermann method) (Fig. 1). First larval stage of *D. viviparus* was identified in calves of groups 3 and 4, and the more prevalent genera in all coprocultures were: *Cooperia* spp., *Haemonchus placet*, *Oesophagostomum* spp. and *Trichostrongylus* spp., respectively, for all animals of groups 2a, 2b, and 4. Both farms showed the same prevalent genera of GI nematodes and were small dairy properties with very similar hygiene sanitary system.

Biochemistry analytes in healthy and infected calves are presented in Fig. 2. The groups with GI parasites with high EPG (Group 2b), lungworm only (Group 3) and lung + GI parasites (Group 4) had

significant higher concentrations of haptoglobin than the healthy control group. In addition, the groups with lungworms had significant higher AChE concentrations compared with the healthy group and groups with only GI parasites (Group 2).

The group of GI parasites with high EPG (Group 2b) showed a significant decrease of the lipid profile analytes: triglycerides (1.2× fold decrease), total cholesterol (1.5× fold decrease), HDL (1.4× fold decrease), and LDL (1.1× fold decrease) compared with the control and the lung + GI parasites (Group 4) groups. In addition, in the animals with GI parasites, the group with high EPG had lower total cholesterol (1.6× fold decrease) and LDL-cholesterol concentrations (1.3× fold decrease) than the low EPG GI parasites group (2a).

The groups of GI parasites (2a and 2b) showed significant higher concentrations of lipase than the control and the lung + GI parasites groups (Group 4).

Iron, UIBC, total protein, albumin, amylase, phosphorus, calcium, PON-1, and BChE concentrations were not significantly different among the groups (Table 1).

4. Discussion

The GI parasites genera found in our study were *Cooperia* spp., *Haemonchus* spp., *Trichostrongylus* spp. and *Oesophagostomum* spp. The lung parasite identified in our study was *D. viviparus*. These parasites were also the most prevalent observed in previous reports from different parts of Brazil: São Paulo, Rio de Janeiro, and Minas Gerais State (Oliveira, 1988; Gonçalves et al., 2000; Borges et al., 2001; Landim et al., 2001; Neto and Fonseca, 2002; Bruhn et al., 2012), as well in other countries with similar climates, characterized by two well-defined periods: a rainy season (summer) and a dry season (winter), such as in Costa Rica (Jiménez et al., 2010), and Vietnam (Holland et al., 2000).

In our study, Hp increased in all the groups of animals with parasites except the group with low amount of GI parasites. This would indicate that the parasites, when presented in high amounts, could produce an inflammatory status in calves, since Hp is a major acute phase protein in ruminants (Cecilian et al., 2012). In the case of GI parasites, the cause of increases in Hp could be the damage caused to the GI tract, whereas in the lung parasites the increases in Hp could reflect subclinical chronic parasitic bronchitis and pneumonia caused by *D. viviparus* infection (Radostits et al., 2007). Increased Hp concentrations in calves were described in experimental *D. viviparus* and *Eimeria zuernii* infections (Gånheim et al., 2004; Lassen et al., 2015).

In *D. viviparus* experimental infection, the Hp concentration showed a peak 14 days after inoculation with L3 larvae, and although the animals had clinical signs of the infection (Gånheim et al., 2004), the Hp concentration was similar to our findings. These results were also similar to experimental infection with oocysts of *Eimeria zuernii* in calves, as Hp concentration peaked at 24 days after inoculation (Lassen et al., 2015), reaching similar Hp concentrations that were found in the group of GI parasites, demonstrating an inflammatory response caused by the effect of nematode and protozoan parasites in the small intestine mucosae.

The increased AChE concentrations found in calves with pulmonary parasites in the present study could reflect the secretion of AChE by the parasites, as *D. viviparus* and GI parasites such as *Oesophagostomum* spp., *Trichostrongylus* spp. which are known to secrete this enzyme (Lee, 1996; McKeand et al., 1994). The release of AChE by the parasites is influenced by various factors such as: species, life cycle, and gender of the parasite (Lee, 1996). A hypothesis explaining why animals with pulmonary parasites present higher serum AChE activity compared with GI parasites, would be that *D. viviparus* has close contact with the pulmonary

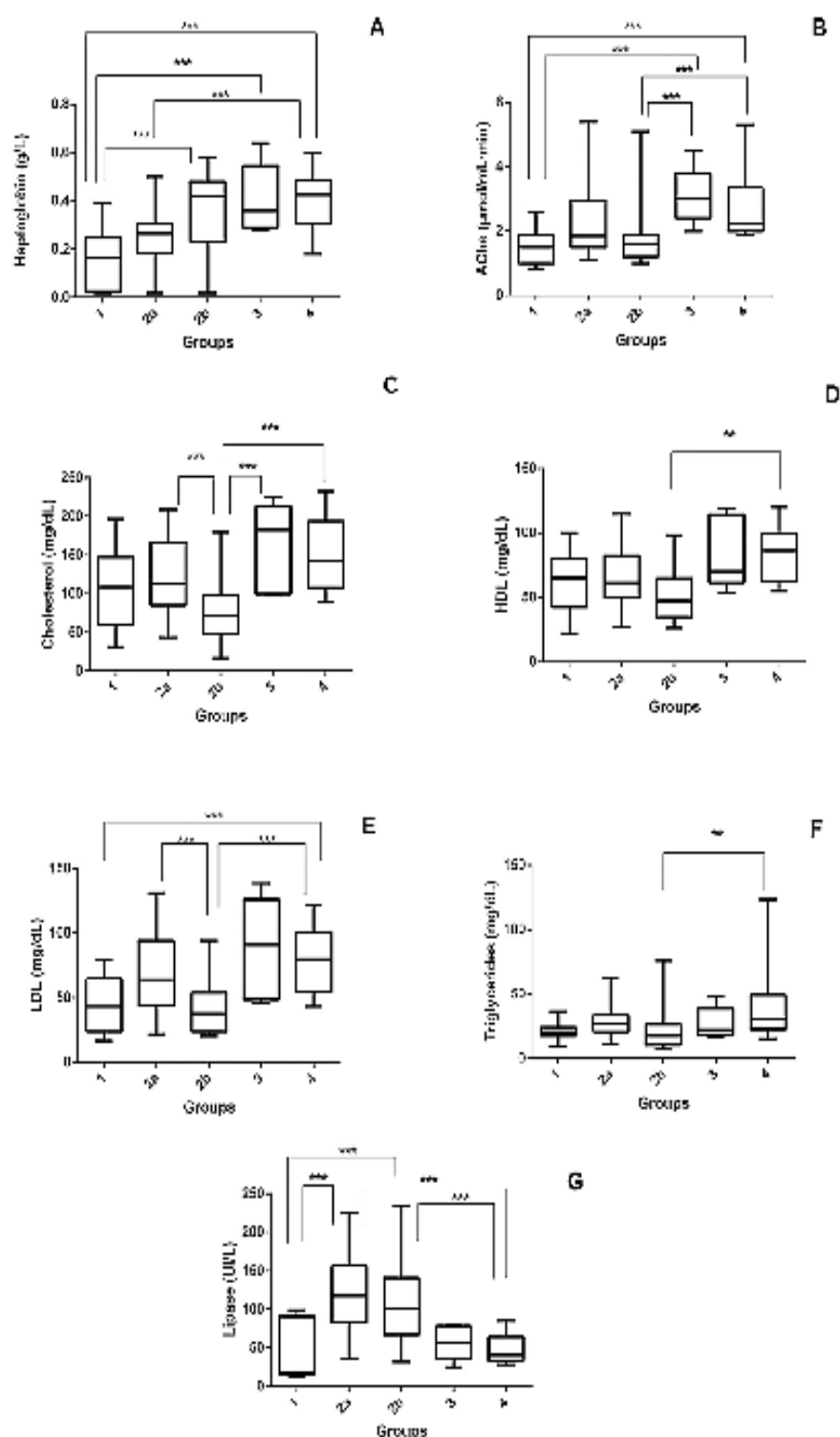


Fig. 2. Biochemical analytes concentrations in healthy calves (Group 1); calves with GI parasites with low EPG (Group 2a); and with GI parasites with high EPG (Group 2b); calves with only lungworm (Group 3) and calves with lung+GI parasites (Group 4). Horizontal lines represent the median and interquartile ranges. (A) Haptoglobin; (B) AChE; (C) Cholesterol; (D) HDL; (E) LDL; (F) Triglycerides; (G) Lipase. * $P < 0.01$, ** $P < 0.001$, *** $P < 0.0001$.

Table 1

Biochemical analytes concentrations in healthy calves (Group 1); calves with GI parasites with low EPG (Group 2a); and with GI parasites with high EPG (Group 2b); calves with only lungworm (Group 3) and calves with lung + GI parasites (Group 4).

	Group 1	Group 2a	Group 2b	Group 3	Group 4
Iron (µg/dL)	160.5 [111.8–178]	132.7 [97.63–161.0]	126.9 [95.7–169.7]	111.6 [105.9–161.4]	147.5 [113–169]
UIBC (µg/dL)	194.1 [171.1–248.3]	202.6 [143.8–259.9]	209.7 [151.3–239.7]	232.7 [172.3–287.4]	207.5 [181.2–272.3]
Total protein (g/dL)	6.31 [5.97–6.99]	6.8 [6.44–7.15]	6.93 [6.03–7.26]	6.7 [5.88–7.22]	6.64 [6.35–7.06]
Albumin (g/dL)	2.88 [2.54–3.0]	2.77 [2.64–3.02]	2.87 [2.64–3.1]	2.74 [2.61–3.01]	2.93 [2.75–2.98]
Amylase (U/L)	110.5 [83.63–135.2]	107.1 [77.05–132.6]	105.9 [77.4–129.8]	99.4 [75.6–139.7]	101.6 [89–121.3]
Phosphorus (mg/dL)	7.78 [7.04–8.95]	7.64 [7.03–8.59]	7.27 [6.47–8.4]	6.9 [6.46–7.54]	8.3 [7.75–8.98]
Calcium (mg/dL)	12.06 [11.73–12.59]	11.99 [11.74–12.53]	11.78 [11.22–12.2]	12.02 [11.43–12.11]	12.02 [11.75–12.35]
PON-1 (U/mL)	6.81 [5.25–9.26]	7.35 [5.46–8.75]	6.19 [3.9–7.05]	8.76 [5.93–9.38]	7.86 [4.55–9.69]
BChE (mmol/mL)	0.55 [0.4–0.7]	0.6 [0.4–0.7]	0.5 [0.4–0.6]	0.7 [0.55–0.8]	0.6 [0.5–0.62]

alveoli allowing direct transfer of AChE secreted by the parasite to the animal systemic circulation, while AChE secreted by GI parasites would have to transfer across the less permeable GI barrier.

The analytes of the lipid profile decreased in our study in the calves with a high burden of GI parasites. This could indicate impairment in intestinal absorption of lipids, and diminished appetite and low digestibility of food mainly caused by the damage to the intestinal mucosae with villus flattening, and widespread loss of the superficial epithelium, produced by the GI nematodes (Hoste et al., 2010; Trapani et al., 2013). Lipase concentrations were higher in the calves with GI parasites; which could indicate a pancreatic involvement or damage as previously described in horses infected with *Strongylus edentatus* (Strongyloidea (*Strongylus edentatus* and *Strongylus edentatus*)) GI parasites (Petty et al., 1992).

It is known that there could be changes in serum analytes in animals with clinical signs of disease; however, in our study the calves did not show clinical signs of parasitism. Visual inspection did not detect coughing or any respiratory signs, weight loss or pale oral mucous membrane, and feces were regular in color and consistency.

No changes in iron and UIBC were found, although hematophagous parasites such as *Haemonchus* spp. could produce changes in iron and UIBC (Cennari et al., 1991). In addition total protein, albumin and globulin did not change in the parasitized animals. These information suggest that the GI parasites affected mainly lipid absorption or metabolism but they did not produce significant GI blood loss which would be detected by iron or UIBC or GI protein losses or malabsorption. Phosphorus concentration did not change between groups; this could indicate that the parasites affecting respiratory system (*D. viviparus*) in our study conditions would not produce enough respiratory dysfunction for inducing changes in phosphorus due to respiratory alkalosis. No changes were detected in PON-1 between the groups; indicating that despite the influence that inflammation has in PON-1 (Silveira et al., 2015) in our study this enzyme has shown a lower sensitivity to detect inflammation produced by the parasites studied in calves compared to Hp. Ideally individual experimental infections with different concentrations of each of the parasites found could be made in order to properly characterize the biochemical effects produced by each species of parasites, as well the influence of the parasite burden in analytes. However, this paper provides an overview of the biochemical effects produced by nematode parasites in calves in field conditions.

5. Conclusions

In this study, calves were subclinically infected by low and high burdens of GI nematode parasites, by lungworm parasites alone and by concurrent infection with lungworm and GI nematodes. Both GI and pulmonary parasites increased haptoglobin concentrations, lungworms caused increases in acetylcholinesterase and only GI parasites caused decreases in the lipid profile but an increase in lipase. These findings in calves without any evident clinical signs of disease could provide an indication of GI parasites and lungworm infection, which should be considered in differential diagnosis, especially in an endemic area for these parasites.

Conflict of interest

None of the authors of this article has a financial or personal relationship with other people or organizations that could inappropriately influence or bias the content of the paper.

Acknowledgements

Marcela Cristina de Cezaro gratefully acknowledges the financial support of CAPES/Brazil. Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt would like to thank CNPq/Brazil (PD 203241/2014-2). The authors would like to thank the Interdisciplinary Laboratory of Clinical Pathology, (INTERLAB), Campus of Excellence Mare Nostrum—University of Murcia, Spain for the laboratory analyses. We are also grateful to Raphaela Moreira de Oliveira, José Henrique das Neves, José Renato Laino Martinelli Cury, and Felipe Morales Dalanezi for the help in the sample collection and laboratory analyses.

References

- Amarante, A.F.T., 2011. Why is it important to correctly identify *Haemonchus* species? Rev. Bras. Parasitol. Vet. 20, 263–268.
- Anderson, R.C., 2000. Nematode Parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission. CABI, 87–109 p.
- Antonello, A.M., Cezar, A.S., Sangioni, L.A., Vogel, F.S.F., 2010. Eggs per gram of feces counting for anthelmintic control in dairy cattle of distinct age groups. Ciência Rural 40, 1227–1230.
- Borges, F.A., da Silveira, D.M., Graminha, E.B.N., Castagnoli, K.C., Soares, V.E., Nascimento, A.A., Costa, A.J., 2001. Fauna helmintológica de bovinos da região de Jaboticabal, Estado de São Paulo, Brasil. Semina: Ciênc. Agrár. 22, 49–53.
- Bruhn, F.R.P., Silva Júnior, F.A., Carvalho, A.H.O., Orlando, D.R., Rocha, C.M.B.M., Calmarles, A.M., 2012. Occurrences of *Elmoria* spp. and gastrointestinal nematodes in dairy calves in southern Minas Gerais, Brazil. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 21, 171–175.

- Cecilian, F., Ceron, J.J., Eckersall, P.D., Sauerwein, H., 2012. Acute phase proteins in ruminants. *J. Proteomics* 75, 4207–4231.
- Charlier, J., Höglund, J., von Samson-Himmelstjerna, G., Dorny, P., Vercruysse, J., 2009. Gastrointestinal nematode infections in adult dairy cattle: impact on production, diagnosis and control. *Vet. Parasitol.* 164, 70–79.
- Eckersall, P.D., Duthie, S., Saff, S., Moffatt, D., Horadagoda, N.U., Doyle, S., Parton, R., Bennett, D., Fitzpatrick, J.L., 1999. An automated biochemical assay for haptoglobin: prevention of interference from albumin. *Comp. Haematol. Int.* 9, 117–124.
- Gänheim, C., Höglund, J., Waller, K.P., 2004. Acute phase proteins in response to *Dictyocaulus viviparus* infection in calves. *Acta Vet. Scand.* 45, 79–86.
- Gemari, S.M., Bressan, M.V., Rogero, J.R., MacLean, J.M., Duncan, J.L., 1991. Pathophysiology of *Haemonchus placei* infection in calves. *Vet. Parasitol.* 38, 163–172.
- Gibbs, H.C., 1992. The effects of subclinical disease on bovine gastrointestinal nematodiasis. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.* 14, 669–677.
- Gonçalves, R.C., Lisboa, J.A.N., Sousa, M.V., Almeida, C.T., Kuchembuck, M.R.G., Chiacchio, S.B., 2000. Aspectos clínicos e epidemiológicos da broncopneumonia dos bezerros em Botucatu, SP. *Rev. Bras. Ci. Vet.* 7, 144–147.
- Gordon, H.McI., Whitlock, H.V., 1939. A new Technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *J. Commonw. Sci. Ind. Organ.* 12, 50–52.
- Grisi, L., Leite, R.C., Martins, J.R.S., Barros, A.T.M., Andreotti, R., Cançado, P.H.D., León, A.A.P., Pereira, J.B., Villela, H.S., 2014. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 23, 150–156.
- Höglund, J., Svensson, C., Hesse, A., 2001. A field survey on the status of internal parasites in calves on organic dairy farms in southwestern Sweden. *Vet. Parasitol.* 90, 113–128.
- Holland, W.G., Luong, T.T., Nguyen, L.A., Do, T.T., Vercruysse, J., 2000. The epidemiology of nematode and fluke infections in cattle in the Red River Delta in Vietnam. *Vet. Parasitol.* 93, 141–147.
- Hogg, R., Whitaker, K., Collins, R., Holmes, P., Mitchell, S., Ancombe, J., Redman, L., Gilleard, J., 2010. Haemonchosis in large ruminants in the UK. *Vet. Rec.* 166, 373–374.
- Hoste, H., Sotiraki, S., Landau, S.Y., Jackson, F., Beveridge, I., 2010. Goat–nematode interactions: think differently. *Trends Parasitol.* 26, 376–381.
- Jiménez, A.E., Fernández, A., Alfaro, R., Dolz, G., Vargas, B., Epe, C., Schnieder, T., 2010. A cross-sectional survey of gastrointestinal parasites with dispersal stages in feces from Costa Rican dairy calves. *Vet. Parasitol.* 173, 236–246.
- Keyyu, J.D., Kyvsgaard, N.C., Monrad, J., Kassuku, A.A., 2005. Epidemiology of gastrointestinal nematodes in cattle on traditional, small-scale dairy and large-scale dairy farms in Iringa district, Tanzania. *Vet. Parasitol.* 127, 285–294.
- Landim, V.J.C., Costa, A.J., Costa, G.H.N., Rocha, U.F., Barbosa, O.F., Moraes, F.R., 2001. Parasitic nematodes in weaned calves from the north-east region of São Paulo State, Brazil. *ARS Vet.* 17, 42–50.
- Lassen, B., Bangoura, B., Lepik, T., Orru, T., 2015. Systemic acute phase proteins response in calves experimentally infected with *Elmeria zuernii*. *Vet. Parasitol.* 212, 140–146.
- Lat-Lat, H., Sani, R.A., Hassan, I., Sheikh-Omar, A.R., Jeyabalan, S., Hishammifariz, M., Rohani, K., Azlan, E., Ramli, P., 2010. Lungworm of cattle in Malaysia. *Trop. Biomed.* 27, 236–240.
- Lee, D.J., 1996. Why do some nematode parasites of the alimentary tract secrete acetylcholinesterase? *Int. J. Parasitol.* 26, 499–508.
- McKeand, J.B., Knox, D.P., Duncan, J.L., Kennedy, M.W., 1994. The immunogenicity of the acetylcholinesterases of the cattle lungworm *Dictyocaulus viviparus*. *Int. J. Parasitol.* 24, 501–510.
- Neto, M.P., Fonseca, A.H., 2002. Epidemiologia das helmintoses pulmonares e gastrointestinais de bezerros em região de baixada do Estado do Rio de Janeiro. *Pesq. Vet. Bras.* 22, 148–152.
- Oliveira, G.P., 1988. Epidemiologia dos nematódos gastrointestinais de bovinos leiteiros no município de São Carlos, Estado de São Paulo. *Pesq. Agropec. Bras.* 23, 189–195.
- Petty, D.P., Lange, A.L., Versier, A., Hattlingh, J., 1992. Necropsies of eight horses infected with *Strongylus equinus* and *Strongylus edentatus*. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 63, 66–69.
- Ploeger, H.W., 2002. *Dictyocaulus viviparus*: re-emerging or never been away? *Trends Parasitol.* 18, 329–332.
- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), 2009. Programas Nacionais de Saúde Animal do Brasil. Manual de Legislação. Brasília-DF, p. 76–96, 125–142.
- Radoszits, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W., Constable, P.D., 2007. *Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep Pigs and Goats*, 10th ed. Saunders Elsevier, Philadelphia, pp. 2065.
- Roberts, F.H.S., O'Sullivan, P.J., 1950. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. *Aust. Agric. Rec.* 1, 99–102.
- Rugai, E., Maitos, T., Brisola, A.P., 1954. Nova técnica para isolar larvas de nematódos das fezes-modificação do método de Baermann. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 14, 5–8.
- Silva, M.C., Barros, R.R., Graça, D.L., 2005. Outbreak of dictyocaulosis in cattle in Santa Maria, RS, Brazil. *Ciência Rural* 35, 629–632.
- Silveira, P.A., Schwegler, E., Montagner, P., Krause, A.R., Acosta, D.A., Halften, J., Carlet, T., Barros, C.C., Corrêa, M.N., Schneider, A., 2015. Characterization of single nucleotide polymorphisms in the promoter region of the bovine paraoxonase 1 (PON1) gene affecting serum enzyme activity in dairy cows. *Vet. J.* 1, 101–103.
- Taylor, M.A., Coop, R.L., Wall, R.L., 2007. *Veterinary Parasitology*, 3rd ed. Wiley-Blackwell, Iowa, pp. 874.
- Tedes, F., Cerón, J.J., 2001. Determination of whole blood cholinesterase in different animal species using specific substrates. *Res. Vet. Sci.* 70, 233–238.
- Trapani, F., Paciello, O., Papparella, S., Rinaldi, L., Cringoli, G., Malolingo, P., 2013. Histopathological, histochemical and immunohistochemical findings of the small intestine in goats naturally infected by *Trichostrongylus colubriformis*. *Vet. Parasitol.* 191, 390–393.
- Tvarijonavičiute, A., Tedes, F., Caldin, M., Tasca, S., Cerón, J.J., 2012. Validation of spectrophotometric assays for serum paraoxonase type-1 measurement in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 73, 34–41.
- Ueno, H., Gonçalves, P.C., 1998. Manual Para Diagnósticos das Helmintoses de Ruminantes, 4^a ed. Japan International Cooperation Agency, pp. 35–44.
- Van Wyk, J.A., Mayhew, E., 2013. Morphological identification of parasitic nematode infective larvae of small ruminants and cattle: a practical lab guide. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 80, 1–14.
- Vercruysse, J., Claerebout, E., 2001. Treatment vs non-treatment of helminth infections in cattle: defining the threshold. *Vet. Parasitol.* 98, 195–214.
- Wapenaar, W., Barkema, H.W., Eysker, M., O'Handley, R.M., 2007. An outbreak of dictyocaulosis in lactating cows on a dairy farm. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 231, 1715–1718.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A revisão de literatura realizada com base em um levantamento retrospectivo de investigações epidemiológicas sobre os endoparasitas que acometem os bovinos em diferentes regiões do Brasil, bem como no mundo, demonstrou que há um aparente desinteresse pelo tema, uma vez que são escassas as informações e pesquisas atuais sobre o tema. No entanto, as enfermidades parasitárias ainda se caracterizam por ser um importante entrave na atividade agropecuária brasileira, e não devem ser negligenciadas, pois geram prejuízos de ordem econômica, produtiva, sanitária e do bem-estar animal.

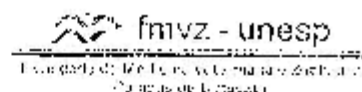
A partir dos exames coproparasitológicos, observou-se que o parasitismo nos bezerros foi diagnosticado durante todo o período de estudo. Este fato demonstra a importância de monitorar as propriedades por meio de análises coproparasitológicas para que se possa conhecer o estado geral de saúde dos animais, bem como verificar os parasitas que ocorrem em determinado local, de acordo com a estação do ano, para que assim, medidas preventivas e profiláticas sejam delineadas a fim de melhorar a sanidade e a produtividade do rebanho. Além disso, os exames coproparasitológicos são de fácil execução e de baixo custo, e apresentam resultados satisfatórios.

As alterações nos parâmetros bioquímicos séricos de bezerros parasitados por nematódeos gastrintestinais e pulmonares demonstraram que mesmo na ausência de sinais clínicos, os parasitas podem estar causando danos discretos no organismo animal, que são imperceptíveis aos olhos dos produtores ou médicos veterinários. Sendo assim, o emprego da bioquímica sérica pode ser uma ferramenta útil no auxílio diagnóstico das enfermidades parasitárias. No entanto, estudos futuros devem ser realizados para aprofundar a compreensão da dinâmica de alteração desses parâmetros e sua associação com a patogenia provocada pelos parasitas.

ANEXO



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
LUIZ DE MESSIAS FILHO



A T E S T A D O

Atesto para os devidos fins, que o Projeto de Pesquisa **"Resposta de fase aguda em bovinos jovens naturalmente infectados por nematódeos gastrintestinais e pulmonares na região Centro-Oeste do Estado de São Paulo"** Protocolo nº 18/2015 - CEUA, da Professora Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt, desta Faculdade, a ser conduzido por **Marcela Cristina de Cezaro**, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) desta Faculdade, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, em 06 de março de 2015.

Profª. Ass. Drª. Maria Lúcia Gomes Lourenço

Presidente da CEUA da FMVZ, UNESP - Campus de Botucatu

Normas para submissão:

Periódico *Pesquisa Veterinária Brasileira*

<http://www.scielo.br/revistas/pvb/pinstruc.htm>

Periódico *Veterinary Parasitology*

https://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/503321?generatepdf=true