

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL

INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE *Mazama gouazoubira*  
(Fischer, 1814) (CERVIDAE: ODOCOILEINAE) COM  
*Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803) (NEMATODA:  
TRICHOSTRONGYLOIDEA)

Estevam G. Lux Hoppe

Orientador: Prof. Dr. Adjair Antônio do Nascimento

Tese apresentada à Faculdade de Ciências  
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de  
Jaboticabal, como parte das exigências para  
obtenção do título de doutor em Medicina  
Veterinária.

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Fevereiro de 2010

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**ESTEVAM GUILHERME LUX HOPPE** – Nascido em 20 de Dezembro de 1979, no município de Rafard, SP, filho de José Estevam Martins Hoppe e Marize Lux Hoppe. Ingressou em Março de 1998 no curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual de Londrina, concluindo-o em fevereiro de 2003. Iniciou o mestrado em Medicina Veterinária na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Unesp, Jaboticabal, SP, obtendo o título em julho de 2005. Logo em seguida, lecionou aulas de Parasitologia geral e Citologia na Faculdade Luiz Meneghel, Bandeirantes, PR até 2007, quando ingressou no programa de doutorado em Medicina Veterinária da FCAV/Unesp, Jaboticabal, SP. Concomitantemente, ministrou as disciplinas de Parasitologia e Doenças Parasitárias no Centro Universitário de Rio Preto (UniRP), São José do Rio Preto, SP e atuou como professor substituto da disciplina de Enfermidades Parasitárias dos Animais na FCAV/Unesp, Jaboticabal.

"Quando observamos a quantidade e a variedade dos estabelecimentos de ensino e de aprendizado, assim como o grande número de alunos e professores, é possível acreditar que a espécie humana dá muita importância à instrução e à verdade. Entretanto, nesse caso, as aparências também enganam. Os professores ensinam para ganhar dinheiro e não se esforçam pela sabedoria, mas pelo crédito que ganham dando a impressão de possuí-la. E os alunos não aprendem para ganhar conhecimentos e se instruir, mas para poder tagarelar e para ganhar ares de importantes".

**Arthur Schopenhauer**

Trecho originalmente publicado em  
*Parerga und Paralipomena* no ano de 1851.

E cada dia mais atual.

**À minha esposa INGRID,**

Companheira dos momentos agradáveis e nem tanto.

Motivo dos bons tempos cada vez mais duradouros.

Portanto.

**A toda minha FAMÍLIA,**

Sempre presente,

mesmo distante.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Professor Adjair, orientador, tutor e amigo de longa data, grande responsável por ter me tornado um parasitologista.

Ao grande amigo Zé Tebaldi, pela amizade e apoio inestimável.

À Beth e ao Felipe, por terem tornado este trabalho real e melhor.

Aos amigos Cris, Piciroca e Piauí, indispensáveis à realização deste trabalho.

À Carmen, por todo carinho que sempre teve por mim.

Ao professor Maurício Barbanti, pela oportunidade e confiança em mim depositada e à professora Rosemeri Vasconcelos pela grande ajuda e paciência em me ensinar.

A todos os membros da banca de qualificação e defesa pelas sugestões e correções que ajudaram a tornar este trabalho melhor.

Às técnicas do Laboratório de Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias, Renata e Cláudia, por todo apoio e confiança.

Aos professores e técnicos do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva pela amizade.

À amiga de laboratório Daniela e ao Hermes, pela amizade e pelos bons momentos.

Aos amigos e colegas de Rio Preto, com os quais convivi bastante e passei muitos bons momentos ao longo desse período.

Às grandes e boas amizades que fiz e mantive ao longo de minha vida.

## SUMÁRIO

|                                                                                              | Página |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| LISTA DE TABELAS                                                                             | ix     |
| LISTA DE FIGURAS                                                                             | x      |
| RESUMO                                                                                       | xii    |
| ABSTRACT                                                                                     | xiii   |
| 1. INTRODUÇÃO                                                                                | 01     |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA                                                                     | 02     |
| 3. OBJETIVOS                                                                                 | 09     |
| 3.1. Objetivos gerais                                                                        | 09     |
| 3.2. Objetivos específicos                                                                   | 09     |
| 4. METODOLOGIA                                                                               | 10     |
| 4.1. Determinação de valores de referência para os parâmetros<br>hematológicos e bioquímicos | 10     |
| 4.1.1. Animais e instalações                                                                 | 10     |
| 4.1.2. Coleta e processamento das amostras                                                   | 10     |
| 4.1.3. Hematologia                                                                           | 12     |
| 4.1.4. Parâmetros bioquímicos                                                                | 13     |
| 4.1.5. Análise estatística                                                                   | 14     |
| 4.2. Infecção experimental com <i>Haemonchus contortus</i>                                   | 14     |
| 4.2.1. Animais                                                                               | 14     |

|                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------|----|
| 4.2.2. Obtenção da linhagem de <i>Haemonchus contortus</i>         | 15 |
| 4.2.3. Infecção dos animais                                        | 15 |
| 4.2.4. Monitoramento da infecção                                   | 16 |
| 4.2.4.1. Determinação da ingestão de alimento                      | 16 |
| 4.2.4.2. Avaliação parasitológica durante o período experimental   | 16 |
| 4.2.4.3. Hematologia e exames bioquímicos                          | 16 |
| 4.2.4.2. Análise estatística                                       | 17 |
| 4.2.5. Necropsia dos animais                                       | 17 |
| 4.2.6. Determinação da taxa de recuperação e estudos morfométricos | 18 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO                                          | 20 |
| 5.1. Obtenção de parâmetros hematológicos e bioquímicos            | 20 |
| 5.2. Monitoramento da infecção                                     | 28 |
| 5.2.1. Ingestão de alimento                                        | 28 |
| 5.2.2. Hematologia                                                 | 30 |
| 5.2.3. Parâmetros bioquímicos                                      | 36 |
| 5.3. Avaliação anátomo-patológica                                  | 41 |
| 5.4. Avaliação parasitológica e relação parasita-hospedeiro        | 49 |
| 6. CONCLUSÃO                                                       | 54 |
| 7. REFERÊNCIAS                                                     | 55 |

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Parâmetros hematológicos obtidos para veados-catingueiros *Mazama gouazoubira* de cativeiro contidos fisicamente, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp. 20
- Tabela 2. Análise estatística, pelo método não paramétrico de Mann-Whitney, dos parâmetros hematológicos obtidos para veados-catingueiros *Mazama gouazoubira* de cativeiro contidos fisicamente, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp. 21
- Tabela 3. Parâmetros bioquímicos obtidos para veados-catingueiros *Mazama gouazoubira* de cativeiro contidos fisicamente, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp. 24
- Tabela 4. Análise estatística, pelo método não-paramétrico de Mann-Whitney, dos parâmetros bioquímicos obtidos para veados-catingueiros *Mazama gouazoubira* de cativeiro contidos fisicamente, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp. 24
- Tabela 5. Valores morfométricos (expressos como média geométrica  $\pm$  desvio padrão) e resumo da análise estatística dos espécimes fêmeas de *H. contortus* da mesma linhagem obtidos de diferentes espécies de hospedeiros. 50
- Tabela 6. Valores morfométricos (expressos como média geométrica  $\pm$  desvio padrão) e resumo da análise estatística dos espécimes machos de *H. contortus* da mesma linhagem obtidos de diferentes espécies de hospedeiros. 50

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Instalações e procedimentos adotados para coleta de sangue. 11
- Figura 2. Intervalo de confiança obtido pelo teste de Bland-Altman para os métodos de refratometria e do biureto para determinação da albumina dos veados-catingueiros do Nupecce, FCAV/Unesp. 24
- Figura 3. Intervalo de confiança obtido pelo teste de Bland-Altman para os métodos do verde de bromocresol e do púrpura de bromocresol para determinação da albumina em veados-catingueiros do Nupecce, FCAV/Unesp. 26
- Figura 4. Média geométrica da quantidade de concentrado ingerido pelos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp. 27
- Figura 5. Média geométrica da quantidade de volumoso ingerido pelos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp. 28
- Figura 6. Média geométrica da contagem total de eritrócitos dos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp. 30
- Figura 7. Média geométrica da contagem total de leucócitos dos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp. 31
- Figura 8. Média geométrica da contagem total de leucócitos, linfócitos e eosinófilos dos *M. gouazoubira* infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp. 31
- Figura 9. Média geométrica do hematócrito dos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp. 33
- Figura 10. Média geométrica da concentração de hemoglobina dos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp. 33
- Figura 11. Média geométrica do volume globular médio (VGM) dos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp. 34

- Figura 12. Média geométrica da concentração de hemoglobina globular média (CHGM) dos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp. 35
- Figura 13. Média geométrica das proteínas plasmáticas totais (PPT) dos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp. 36
- Figura 14. Média geométrica da albumina (Alb), dosada pelo método do verde de bromocresol, dos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp. 37
- Figura 15. Média geométrica da albumina (Alb), dosada pelo método do púrpura de bromocresol, dos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp. 38
- Figura 16. Média geométrica de fibrinogênio dos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp. 39
- Figura 17. Média geométrica da relação A:G determinada para os *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp. 39
- Figura 18. Análise macroscópica dos abomasos dos veados-catingueiros. 44
- Figura 19. Avaliação histopatológica dos abomasos dos veados-catingueiros. 45
- Figura 20. Avaliação histopatológica, com coloração pelo ácido periódico de Schiff, dos abomasos dos veados-catingueiros. 46
- Figura 21. Alterações teciduais observadas ao exame histopatológico da mucosa abomasal de veados-catingueiros infectados por *Haemonchus contortus*. 47
- Figura 22. Alterações histológicas observadas em linfonodo abomasal de veados-catingueiros infectados por *Haemonchus contortus*. 48

**INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE *Mazama gouazoubira* (Fischer, 1814) (CERVIDAE: ODOCOILEINAE) COM *Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803) (NEMATODA: TRICHOSTRONGYLOIDEA).**

**RESUMO** – A adequada compreensão dos mecanismos fisiopatológicos das doenças que afetam os animais silvestres contribui positivamente para a melhoria das condições de manutenção desses animais em cativeiro e fornece subsídios para a elaboração de planos de conservação de animais de vida livre. Diversos relatos de *Haemonchus contortus* em cervídeos de cativeiro e vida livre, bem como a importância desse nematódeo para a ovinocultura, motivaram o presente estudo. Inicialmente, foram determinados valores de normalidade para os parâmetros hematológicos e bioquímicos, bem como testada possível influência do sexo sobre eles. Num segundo momento, os animais foram separados em grupos e infectados experimentalmente. O processo infeccioso foi monitorado por um período de 60 dias, ao final do qual os animais foram submetidos à eutanásia e necropsiados. O processo infeccioso estabelecido, em intensidade parasitária similar à observada em animais de vida livre, não foi capaz de suscitar alterações hematológicas, bioquímicas ou anátomo-patológicas relevantes, tampouco interferir na ingestão de alimentos, sugerindo que, apesar da possibilidade de parasitismo, a infecção por *H. contortus*, nos níveis deste experimento, não provocam doença clínica nos animais. À luz dos dados morfométricos e parasitológicos, sugere-se uma má adaptação do *H. contortus* aos veados-catingueiros, apesar da possibilidade de manutenção do parasita nestes animais.

**Palavras-chave:** *Haemonchus contortus*, *Mazama gouazoubira*, Infecção experimental, Hematologia, Patologia, Relação parasita-hospedeiro.

**EXPERIMENTAL INFECTION OF *Mazama gouazoubira* (Fischer, 1814) (CERVIDAE: ODOCOILEINAE) WITH *Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803) (NEMATODA: TRICHOSTRONGYLOIDEA).**

**ABSTRACT** – The comprehension of the pathophysiological aspects concerning wild animals' diseases contributes favourably to the improvement of captive rearing of these animals, and also to the elaboration of conservation action plans for free-ranging animals. The diverse reports on deer parasitism by *Haemonchus contortus* and the importance of this nematode for sheep production motivated this research. First, reference values for haematological and biochemical parameters were determined for this species and the gender influence on them was tested. Then, the animals were divided in groups and infected. The infectious process was monitored over a 60 days period, and then the animals were killed and necropsied. The established infection, similar to natural acquired infections, was insufficient to lead to haematological, biochemical or pathological changes or interfere with food uptake. Based on this, despite the possibility of infection, *H. contortus* did not cause clinical disease in gray-brocket deer. Moreover, the morphometric and parasitological data suggest a maladaptation of *H. contortus* in this host species.

**Key-words:** *Haemonchus contortus*, *Mazama gouazoubira*, Experimental infection, Haematology, Pathology, Host-parasite relationship.

## 1. INTRODUÇÃO

Veados-catingueiros *Mazama gouazoubira* (Fischer, 1814) são cervídeos de médio porte que ocorrem em boa parte da região neotropical, desde o sul do México até o norte da Argentina, tendo sido registrados em todos os ecótopos brasileiros (PINDER & LEEUENBERG, 1997; NOWAK, 1999).

Apesar de *M. gouzoubira* não ter sido relacionado em listas de animais ameaçados de extinção (BRASIL, 2003), seu status ecológico permanece desconhecido devido à escassez de informações acerca da real distribuição das subespécies. Algumas dessas, inclusive, podem estar seriamente ameaçadas graças à destruição de habitat, caça predatória e competição com ruminantes domésticos (PINDER & LEEUENBERG, 1997).

CLOUT (2002) afirma que a introdução de espécies exóticas em um determinado ecossistema pode afetar seriamente sua biodiversidade devido à, entre outros fatores, disseminação de novos patógenos. O nematódeo tricostrongilídeo *Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803) tem ocorrência mundial, tendo sido disseminado junto com animais domésticos provenientes da região do Paleoártico (HOBERG et al., 2002). Diversos trabalhos relatam a ocorrência desse importante nematódeo abomasal de ruminantes domésticos em cervídeos do Paleártico (FERTÉ et al., 2000; MANFREDI et al., 2007), Neoártico (FOREYT & TRAINER, 1970; PRESTWOOD & KELLOGG, 1971; PRESTWOOD et al., 1973; EVE & KELLOGG, 1977; McGHEE et al., 1981) e Neotrópico (NASCIMENTO et al., 2000; LUX HOPPE et al. (no prelo)).

Apesar das evidências de infecção cruzada por *H. contortus* entre ruminantes domésticos e cervídeos, o impacto desse nematódeo sobre as espécies neotropicais é desconhecido. A adequada compreensão dos mecanismos fisiopatológicos das doenças que afetam os animais silvestres contribui positivamente para o diagnóstico dessas enfermidades e, conseqüentemente, com a manutenção desses animais em cativeiro e a para a elaboração de planos de conservação para animais de vida livre.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

Dos animais pertencentes à Ordem Artiodactyla Owen, 1848, os mais numerosos e de distribuição mais ampla são os ruminantes, agrupados na Subordem Ruminantia Scopoli, 1777. A família Camelidae Gray, 1821, de camelos, alpacas e lhamas, evoluiu paralelamente a esses animais, tendo derivado provavelmente de um ancestral comum. Dentre os Ruminantia, dois grupos distintos podem ser observados, a Infraordem Tragulina Flower, 1883, com poucos representantes modernos, e a Infraordem Pecora Flower, 1883, representada pelos ruminantes verdadeiros (NOWAK, 1999).

A Infraordem Pecora é um grupo monofilético de artiodáctilos que surgiu há cerca de 45 milhões de anos (Ma) na área hoje correspondente à Eurásia. As principais famílias modernas desse grupo surgiram na mesma região, com registros fósseis correspondentes ao Oligoceno superior (29 a 24 Ma) (GENTRY, 2000).

A dispersão de Pecora ancestrais para a região Afrotropical foi tardia à origem do grupo, pois os registros fósseis são datados em um período que se estende desde o Mioceno intermediário (22 a 15 Ma) até o Plioceno (16 a 3 Ma) (HASSANIN & DOUZERY, 2003). Ao longo do processo de irradiação adaptativa nessa região, esses grupos ancestrais deram origem a diversos grupos, com os representantes modernos desses animais hoje pertencentes às subfamílias Aepycerotinae Gray, 1872, Antilopinae Gray, 1821 e Reduncinae Meyer, 1907, pertencentes à família Bovidae Gray, 1821. Mais tardiamente, outros grupos derivados dos ancestrais Pecora Eurasianos também migraram para a região Afrotropical (GENTRY, 2000; HASSANIN & DOUZERY, 2003).

Os primeiros registros fósseis de Cervidae Goldfuss, 1820 no Neártico datam do Plioceno, e esses animais derivam de representantes europeus da mesma família. Ao final desse período (3 a 2,5 Ma), com o surgimento do Istmo do Panamá, representantes dessa família iniciaram a dispersão para a região Neotropical (DUARTE et al., 2008). O fato de não haver grandes herbívoros na região Neotropical nesse período permitiu a ocupação de nicho por esses animais sem a interferência de competidores, permitindo um complexo processo de especiação que resultou em dois grupos morfológicos distintos (GENTRY, 2000; DUARTE et al., 2008).

Um dos grupos morfológicos é representado por espécies de grande tamanho corporal, cujos machos apresentam chifres bastante desenvolvidos e ramificados. Esses animais são adaptados a áreas de vegetação aberta, campos e pântanos e são representados tipicamente pelos gêneros *Odocoileus* Rafinesque, 1832, *Blastocerus* Wagner, 1844, *Ozotocerus* Ameghino, 1891, e pelo gênero de menor tamanho corporal *Hippocamelus* Leuckart, 1816 (MERINO et al., 2005; DUARTE et al., 2008).

O outro grupo, representado pelos gêneros *Mazama* Rafinesque, 1817 e *Pudu* Gray, 1850, é caracterizado por menor tamanho corporal dos adultos e pelos chifres simples e desprovidos de bifurcação nos machos, prováveis adaptações ao hábitat desses animais, que ocorrem em áreas de vegetação densa e ecótonos relacionados (MERINO et al., 2005; DUARTE et al., 2008).

A taxonomia do gênero *Mazama* ainda não está bem resolvida, em vista da possibilidade de um grande número de padrões cariotípicos e, conseqüentemente, de espécies crípticas (DUARTE et al., 2008). No Brasil, é reconhecida a ocorrência de cinco espécies, *M. gouazoubira*, *Mazama americana* (Erxleben, 1777), *Mazama nana* (Henslow, 1872), *Mazama nemorivaga* (Cuvier, 1817) e *Mazama bororo* Duarte, 1992 (DUARTE, 2007), apesar de alguns autores considerarem apenas as três primeiras como válidas (NOWAK, 1999).

Os veados-catingueiros *M. gouazoubira* são animais de porte médio, com peso variável entre 17 e 23 Kg na natureza. A coloração da pelagem varia de uma tonalidade castanho-acinzentada a marrom-clara, com a pelagem da região ventral geralmente mais clara que o dorso (PINDER & LEEUENBERGER, 1997; NOWAK, 1999). Em contraste com outras espécies de cervídeos, os machos de veados-catingueiros não apresentam ciclo anual de troca de chifres bem caracterizado, podendo mantê-los por até 12 meses (PINDER & LEEUENBERGER, 1997).

O período de atividades de veados-catingueiros é bastante variável, com relatos de atividade diurna, crepuscular e noturna. Esses animais procuram ingerir itens alimentares de alta digestibilidade, como folhas e brotos de dicotiledôneas, frutas e sementes (NOWAK, 1999; OLIVEIRA & DUARTE, 2006), sendo, portanto, classificados como “browsers” na tradicional classificação de Hoffmann (BODMER, 1989).

Num estudo da ecologia alimentar de *Mazama* amazônicos, BODMER (1989) demonstrou que 80% do conteúdo rumenal desses animais era composto por frutas, sobretudo das palmeiras *Euterpe* spp e *Iriarteia* spp.

Os primeiros estudos filogenéticos e biogeográficos acerca dos Trichostrongyloidea Cram, 1927 foram desenvolvidos por DURETTE-DESSET (1985), grupo ao qual pertencem os Haemonchinae (Skrjabin & Schulz, 1937). Essa classificação nunca foi contestada, apesar de haver conflito quanto ao relacionamento filogenético entre os Haemonchinae e outros grupos taxonômicos pertencentes à mesma superfamília (GIBBONS & KHALIL, 1982; DURETTE-DESSET et al., 1994). O conceito mais aceito atualmente é que os Haemonchinae formam um grupo monofilético com os Ostertagiinae Sarwar, 1956 (HOBERG & LICHTENFELS, 1994), fato que levou DURETTE-DESSET et al. (1999) a erigirem uma nova família, denominada Haemonchidae (Skrjabin & Schulz, 1937), para albergar esse grupo.

Estudos filogenéticos sugerem que as espécies basais do gênero *Haemonchus* Cobbold, 1898 têm origem provável na região Afrotropical (GIBBONS, 1979), tendo co-evoluído com os ancestrais das subfamílias Antilopinae, Reduncinae e Aepycerotinae (Artiodactyla: Bovidae) (HOBERG et al., 2004). A adaptação e a consequente especiação desse nematódeo em outros grupos de Artiodactyla, inclusive os mais basais como os Camelidae e os Bovinae, ocorreram à medida que esses grupos migraram para essa região biogeográfica ou com a dispersão de hospedeiros de *Haemonchus* spp para outras regiões (HOBERG et al., 2004).

Do ponto de vista evolutivo, *H. contortus* é mais basal que as espécies congêneras, também registradas em animais domésticos, *Haemonchus placei* (Place, 1893) e *Haemonchus similis* Travassos, 1914 (HOBERG et al., 2004). Apesar disso, essa espécie tem como hospedeiros centrais os animais da subfamília Caprinae Gray, 1821 (HOBERG et al., 2004), considerados o grupo mais derivado dentre os Artiodactyla do Paleoártico (GENTRY, 2000). Esse fato deve-se, provavelmente, à dispersão e à adaptação tardia de espécies do gênero *Haemonchus* a novos hospedeiros (HOBERG et al., 2004).

É comum às espécies de *Haemonchus* o fato de serem registradas em outras espécies que não as consideradas como hospedeiros centrais, seja em interações estáveis, seja em associações efêmeras, geralmente com abundância e prevalência baixas (HOBBERG et al., 2004). Esses animais são, portanto, denominados hospedeiros-satélite, e as espécies de *Haemonchus* podem ser classificadas como generalistas (NEE et al., 1991).

Dentre as espécies de *Haemonchus*, *H. contortus* é o parasita com maior número de registros em hospedeiros-satélite, tendo sido observado em 36 gêneros de artiodátilos, além dos quatro gêneros de espécies tidas como centrais *Ammotragus* Blyth, 1840, *Capra* Linnaeus, 1758, *Ovis* Linnaeus, 1758 e *Rupicapra* Blainville, 1816 (Bovidae: Caprinae) (HOBBERG et al., 2004).

Na Europa, diversos estudos (ZAFFARONI et al., 2000; FERTÉ et al., 2000; BÖHM et al., 2007; MANFREDI et al., 2007) evidenciam infecções por esse nematódeo em ruminantes silvestres, inclusive em Cervidae, geralmente em baixas abundâncias.

Infecções por *H. contortus* em animais selvagens exibem indicadores de infecção mais expressivos quando há uma relação próxima entre eles e rebanhos de animais domésticos, em especial dos pequenos ruminantes, evidenciando que os animais domésticos são os responsáveis pela manutenção de *H. contortus* em determinada área (FERTÉ et al., 2000; ZAFFARONI et al., 2000; MANFREDI et al., 2007).

As grandes navegações promovidas por volta de 1500 disseminaram os ruminantes domésticos e, conseqüentemente, seus parasitas para regiões biogeográficas até então virtualmente isoladas, como o Neártico, o Neotrópico e a Austrália (HOBBERG et al., 2004).

Os cervídeos do Neártico e do Neotrópico mostraram-se bons hospedeiros de captura para *H. contortus*, o qual foi diagnosticado nos gêneros *Alces* Gray, 1821, *Blastocerus*, *Cervus* Linnaeus, 1758, *Mazama*, *Odocoileus* e *Ozotocerus* (NASCIMENTO et al., 2000; HOBBERG et al., 2004; LUX HOPPE et al., no prelo).

No Brasil, o parasitismo por esse nematódeo foi observado em *M. gouazoubira*, *M. americana*, *Blastocerus dichotomus* (Illiger, 1815) e *Ozotocerus bezoarticus* (Linnaeus, 1758), sempre com indicadores de infecção pouco expressivos

(NASCIMENTO et al., 2000; LUX HOPPE et al., no prelo), mantendo o padrão observado para os cervídeos europeus (FERTÉ et al., 2000; ZAFFARONI et al., 2000; MANFREDI et al., 2007) e para espécies generalistas (NEE et al., 1991). No Pantanal brasileiro, foi relatada grande similaridade entre a helmintofauna de *M. gouazoubira* e de ruminantes domésticos simpátricos (LUX HOPPE et al., no prelo; CATTO & FURLONG, 1983), evidenciando a importância dos animais domésticos como mantenedores e disseminadores do parasita.

Apesar de alguns autores afirmarem que os animais silvestres podem atuar como reservatórios de parasitas e, conseqüentemente, representar um risco sanitário à produção animal (McGHEE et al., 1981; BÖHM et al., 2007), há mais evidências justamente do contrário, ou seja, que a produção animal pode resultar em impacto à vida silvestre (ZAFFARONI et al., 2000; MANFREDI et al., 2007).

CLOUT (2002) destaca que o impacto provocado por espécies introduzidas em um determinado bioma é decorrente da introdução de patógenos, além de outros fatores também relevantes. O fato é que esses patógenos introduzidos podem resultar na redução da população de espécies nativas, culminando em alterações consideráveis no equilíbrio desse bioma.

Os efeitos do parasitismo gastrintestinal sobre a dinâmica populacional dos hospedeiros foram demonstrados em elegantes modelos experimentais desenvolvidos por ANDERSON & MAY (1978) e MAY & ANDERSON (1978), utilizando colônias de camundongos infectados por *Hymenolepis diminuta* (Rudolphi, 1819) e *Nippostrongylus brasiliensis* (Travassos, 1914).

ALBON et al. (2003), por outro lado, foram capazes de comprovar essa hipótese em populações selvagens, demonstrando que o tricostrongilídeo abomasal *Ostertagia gruehneri* Skrjabin, 1929 regula negativamente a população de renas *Rangifer tarandus* (Linnaeus, 1758) por reduzir a taxa de fertilidade dessa espécie, tanto por mau aproveitamento nutricional quanto por aumento da taxa de mortalidade da população.

HUDSON et al. (1992) demonstraram em uma população de *Lagopus scoticus* (Latham, 1787) de vida livre que o parasitismo gastrintestinal, além de impactos diretos sobre o hospedeiro, ainda os torna mais predisponentes à predação.

*Haemonchus contortus* é bastante comum em veados-de-cauda-branca *Odocoileus virginianus* Zimmermann, 1780 nos Estados Unidos da América (EUA) (FOREYT & TRAINER, 1970; PRESTWOOD et al., 1973), inclusive com relatos de doença clínica e morte de exemplares de vida livre (PRESTWOOD & KELLOGG, 1971; EVE & KELLOGG, 1977).

EVE & KELLOGG (1977) sugerem que a intensidade parasitária de tricostrongilídeos abomasais, entre eles *H. contortus*, pode ser usada para prever a dinâmica populacional de *O. virginianus*, ressaltando-se a relevância da relação hospedeiro-parasita entre cervídeos e helmintos para melhor compreensão da ecologia desses animais.

Os efeitos de *H. contortus* sobre os índices hematimétricos de *O. virginianus* foram avaliados experimentalmente por FOREYT & TRAINER (1970). Esses autores relataram intenso decréscimo dos valores de hemoglobina e volume corpuscular médio (VCM), assim como palidez de mucosas, emaciação e apatia. Não há disponíveis na literatura dados acerca de alterações hematológicas resultantes de infecções parasitárias em *M. gouazoubira*, tampouco de outras espécies de cervídeos neotropicais.

Análises hematológicas e bioquímicas são um método não invasivo de avaliação das condições de saúde de animais (JAIN, 1993). Para verificar possíveis alterações provocadas por parasitas em animais, os exames de sangue representam, portanto, uma das melhores formas de monitoramento do processo infeccioso *in vivo*. No entanto, valores de referência para veados-catingueiros são escassos e geralmente obtidos a partir de amostras de sangue de animais anestesiados (DUARTE, 2007).

Foi demonstrado, para o cervo-do-pantanal *B. dichotomus*, que animais anestesiados e contidos fisicamente apresentam diferenças significativas entre parâmetros hematológicos e bioquímicos, provavelmente decorrentes da maior liberação de catecolaminas pelos animais não anestesiados (SZABÓ et al., 2005).

A hemoncose em pequenos ruminantes geralmente é associada a edema e hiperplasia do epitélio abomasal, com presença de focos hemorrágicos e parasitas. Infiltrado celular predominantemente polimorfonuclear e aumento dos linfonodos locais

também são relatados. Em alguns animais, acúmulo de líquidos em cavidades e degeneração dos depósitos de gordura são relatados (AMARANTE et al., 1999; BALIC et al., 2000; PEREZ et al., 2001; HUNTLEY et al., 2004). Não há disponíveis na literatura dados acerca de alterações necroscópicas em cervídeos afetados por esses parasitas.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivos gerais

O presente estudo visou avaliar experimentalmente a relação hospedeiro-parasita estabelecida entre veados-catingueiros e *H. contortus*.

#### 3.2. Objetivos específicos

Inicialmente, buscou-se determinar os valores normais dos parâmetros hematológicos e bioquímicos para veados-catingueiros submetidos à contenção física e testar uma possível influência do sexo sobre esses valores.

Num segundo momento, após infecção de um grupo experimental com larvas de *H. contortus* obtidas de *B. dichotomus* de cativeiro naturalmente infectados, foi avaliada a interferência do parasitismo sobre os parâmetros hematológicos e bioquímicos ao longo de 60 dias.

Ao final do período experimental, objetivou-se avaliar possíveis lesões resultantes da infecção, determinar a intensidade parasitária e a taxa de fixação e comparar os aspectos morfométricos dos parasitas de *M. gouazoubira* com espécimes da mesma linhagem obtidos de *B. dichotomus* naturalmente infectados e de *Ovis aries* infectados experimentalmente, como forma de compreender, em parte, a relação parasita-hospedeiro estabelecida entre essa espécie de nematódeo e os veados-catingueiros.

## 4. METODOLOGIA

### 4.1. DETERMINAÇÃO DE VALORES DE REFERÊNCIA PARA OS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS

#### 4.1.1. Animais e instalações

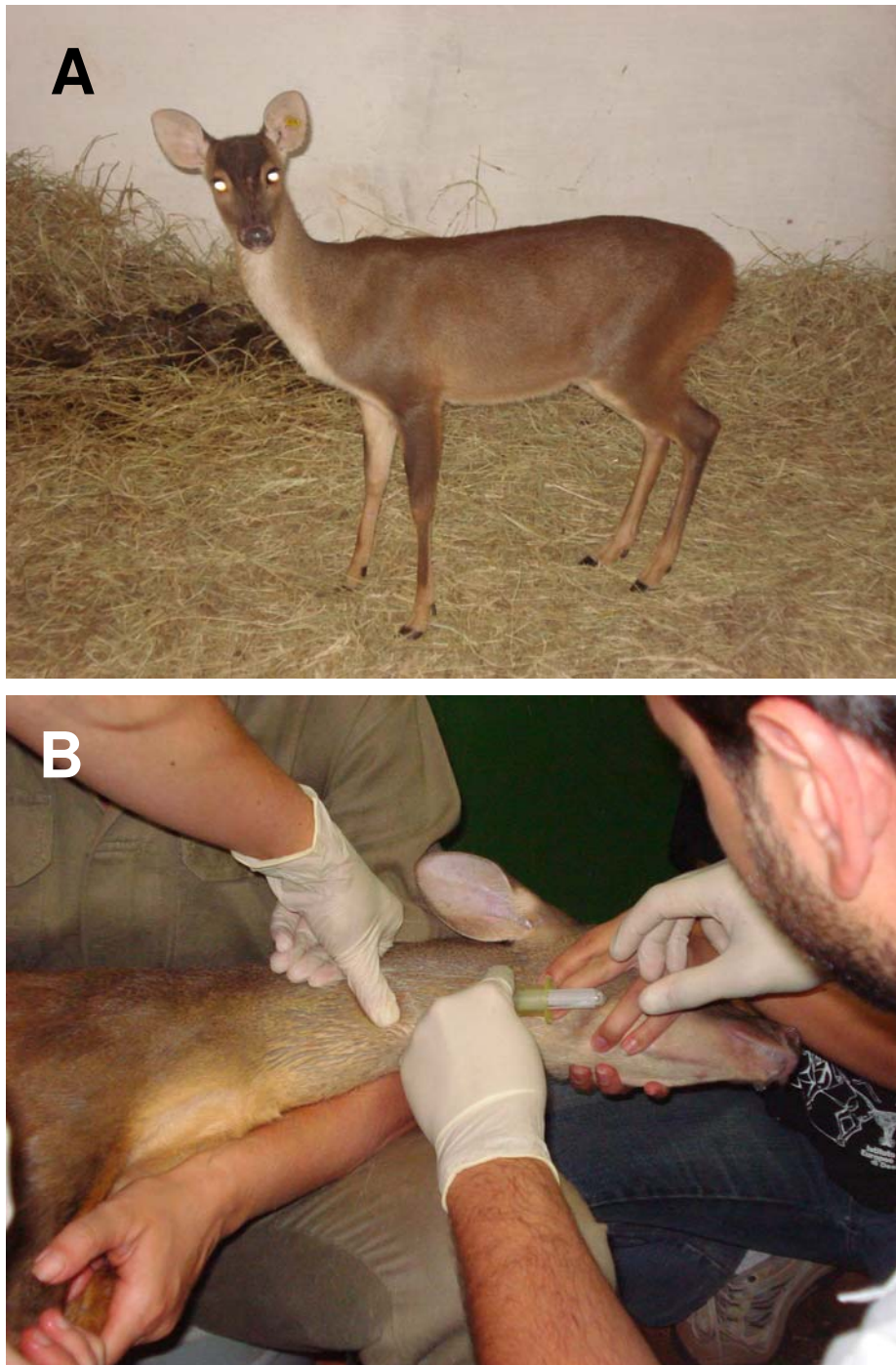
Para determinação dos valores hematológicos e bioquímicos de referência para veados-catingueiros contidos fisicamente, foram utilizados 11 animais adultos, três machos e oito fêmeas, com idades variando entre dois e oito anos. Os animais pertenciam ao Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (Nupecce) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp, em Jaboticabal, Estado de São Paulo (Licença Ibama 1/35/92/0882-5).

Esses animais eram alojados em baias individuais (Fig. 1A), todas localizadas no mesmo galpão, e recebiam dieta de aproximadamente 400g de ração comercial peletizada para cavalos (TecHorse®), com 15% de proteína bruta, suplementada com soja-perene *Neotonia wightii*, amora *Morus alba*, soja *Glycine max* e/ou rami *Boehmeria nivea*, dependendo da disponibilidade. Água era fornecida *ad libitum* em baldes suspensos.

Todos os animais apresentavam-se clinicamente sadios, livres de parasitas, e testes sorológicos para leptospirose não revelaram infecção ativa tampouco contato recente com o agente. Sobretudo, esses animais eram bastante tolerantes à presença humana e à contenção física.

#### 4.1.2. Coleta e processamento de amostras

Previamente às coletas, os animais foram submetidos a jejum alimentar de 12 horas. As amostras de sangue foram colhidas por venipunção da jugular (Fig. 1B), com o animal sob contenção física, em tubos de coleta a vácuo.



**Figura 1.** Instalações e procedimentos de coleta de sangue. **A.** Fêmea adulta de veado-catingueiro alojada em baia individual. **B.** Procedimento adotado para coleta de sangue por venipunção de jugular, apenas com contenção física do animal.

De cada animal foram colhidas três amostras de sangue, sendo a primeira com volume de 2 a 3 mL em tubos com K<sub>2</sub>-EDTA, a segunda com 1 mL em tubos com Na<sub>2</sub>EDTA-NaF e a última com 4 a 5 mL em tubos com fator de ativação de coagulação (Clot-ativator®), num volume total máximo de 9 mL por coleta.

A coleta foi realizada ao entardecer, da forma mais breve possível, para minimizar os efeitos do stress agudo. As amostras de sangue com anticoagulante foram mantidas em caixa isotérmica com gelo, enquanto as amostras sem anticoagulante permaneceram à temperatura ambiente. Todas as amostras foram levadas para o Laboratório de Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias num período inferior a 30 minutos.

Para obtenção de plasma ou soro, os tubos foram centrifugados a 3.000xg durante 5 minutos. Após centrifugação, alíquotas das amostras foram pipetadas para microtubos de 1,5 mL, sendo prontamente processadas ou congeladas a -18°C em freezer doméstico para análises posteriores.

#### **4.1.3. Hematologia**

No laboratório, os esfregaços sanguíneos foram prontamente preparados buscando evitar possíveis alterações na estrutura celular decorrentes de contato com o anticoagulante. As contagens totais de hemácias (RBC) e leucócitos (WBC) foram feitas manualmente em câmara de Neubauer. Para contagem de RBC, uma alíquota de 20µL de sangue foi diluída em 8mL de solução de NaCl a 0,9%, enquanto para a contagem de WBC, a quantidade de sangue supracitada foi diluída em 0,4mL de solução de ácido acético a 4%, numa adaptação da técnica descrita por JAIN (1993).

A hemoglobina (Hb) foi quantificada pelo método colorimétrico da cianometa-hemoglobina, utilizando-se kit comercial Hemoglobina® Labtest, com leitura em espectrofotômetro LabQuest® previamente calibrado. Para determinação do hematócrito (Ht), tubos capilares foram preenchidos com sangue com K<sub>2</sub>EDTA e centrifugados a 12.000xg por 5 minutos (JAIN, 1993).

Os parâmetros volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) foram estimados de acordo com fórmula proposta por WINTROBE (1932).

#### **4.1.4. Parâmetros bioquímicos**

A quantidade de proteínas plasmáticas totais (PPT) foi determinada por análise refratométrica, utilizando-se um refratômetro de bancada tipo Atago, sem compensação de temperatura. A concentração de fibrinogênio (Fib), por sua vez, foi determinada pelo método da precipitação pelo calor (ECKERSAL, 2008).

As proteínas séricas totais (PST) foram avaliadas pelo método do Biureto, considerado mais preciso (ECKERSAL, 2008), e por refratometria, pela simplicidade e pelo baixo custo. Os valores obtidos por cada método foram comparados para avaliação da confiabilidade do uso de refratometria para determinação desse parâmetro para essa espécie, seguindo recomendações de GEORGE (2001).

A concentração de albumina (Alb) também foi determinada por colorimetria, utilizando dois reagentes diferentes, o verde de bromocresol, com uso já consagrado em Medicina Veterinária, e o púrpura de bromocresol, considerado mais preciso que o anterior por CLASE et al. (2001) e DULY et al. (2003). A concentração de globulinas foi determinada apenas pela diferença entre os valores obtidos para as proteínas séricas totais pelo método do biureto e para a albumina pelo método do verde de bromocresol (ECKERSAL, 2008).

A glicose foi dosada por método colorimétrico cinético a partir de amostras de plasma obtido de sangue adicionado de NaF-K<sub>2</sub>EDTA, com kit comercial enzimático PAP-Liquiform®. Todas as leituras colorimétricas, de ponto final ou cinéticas, foram realizadas em espectrofotômetro semiautomático LabQuest® previamente calibrado para cada kit.

#### 4.1.5. Análise estatística

Os valores obtidos para cada parâmetro foram expressos como média aritmética ( $\pm$ desvio padrão). As análises estatísticas foram feitas utilizando o software GraphPad Prism® (versão 5.0). Para todas, diferenças significativas estatisticamente foram consideradas quando o valor obtido para P era inferior a 0,05.

A possível influência do sexo sobre cada parâmetro foi testada pelo teste não paramétrico U de Mann-Whitney, devido à impossibilidade de determinação de distribuição gaussiana em decorrência da amostra reduzida de animais do sexo masculino (n=3).

A comparação de diferentes métodos para determinação de um mesmo parâmetro foi feita por teste t e pela análise de Bland-Altman, após confirmação da normalidade de distribuição dos valores amostrais pelo teste de D'Agostino & Pearson.

### 4.2. INFECÇÃO EXPERIMENTAL COM *Haemonchus contortus*

#### 4.2.1. Animais

Foram utilizados seis veados-catingueiros adultos, três machos e três fêmeas, livres de parasitas e soronegativos para leptospirose, mantidos no mesmo galpão e sob as mesmas condições citadas anteriormente.

Esses animais eram mantidos em baias individuais e foram divididos em dois grupos experimentais:

- I. Controle, com dois animais.
- II. Infectados, com quatro animais inoculados com 7.500 larvas L<sub>3</sub>.

O tamanho do inóculo utilizado neste experimento está de acordo com o proposto por WOOD et al. (1995) para infecção experimental de animais domésticos. O piso de concreto das baias era coberto parcialmente com uma camada de 5 cm de feno,

formando uma cama para os animais. As baias eram higienizadas semanalmente, como forma de evitar possíveis reinfecções durante o período experimental.

Durante todo o período experimental, os animais receberam dieta de 400g de concentrado comercial para equinos (Omolene®), com 15% de proteína bruta, fornecida em cochos suspensos por uma base de concreto, além de volumoso (soja, soja-perene, amora e/ou ramy) e água *ad libitum*.

#### **4.2.2. Obtenção da linhagem de *Haemonchus contortus***

A linhagem utilizada no experimento provém de uma população de cervos-do-pantanal *Blastocerus dichotomus* naturalmente infectados, mantidos em cativeiro no NUPECCE, FCAV/Unesp. Amostras de fezes desses animais foram submetidas à coprocultura pelo método de Roberts & O'Sullivan (UENO & GONÇALVES, 1998) até o desenvolvimento de larvas infectantes.

As larvas obtidas foram identificadas morfológicamente, de acordo com chave proposta por SANTIAGO (1968) e administradas por via oral a um carneiro, numa dose infectante de cerca de 8.000 larvas. Após determinado o período de patência, o animal foi abatido e os vermes adultos recolhidos do abomaso, para identificação específica e oviposição *in vitro*. Os ovos obtidos foram cultivados em frascos com vermiculita mantidos em temperatura ambiente, até obtenção de cultura pura de *H. contortus*.

#### **4.2.3. Infecção dos animais**

Os animais do grupo teste receberam iscas de banana contendo inóculos de 7.500 L3 por via oral. Iscas livres de larvas foram fornecidas aos animais-controle. Todos os animais ingeriram prontamente as iscas assim que oferecidas. O dia da infecção é correspondente ao dia 0 do período experimental.

#### **4.2.4. Monitoramento da infecção**

##### **4.2.4.1. Determinação da ingestão de alimento**

Desde o 15º dia anterior à infecção (dai) até o 60º dia pós-infecção (dpi), a ingestão de ração e volumoso foi determinada pela diferença entre o peso da quantidade oferecida e das sobras.

##### **4.2.4.2. Avaliação parasitológica durante o período experimental**

Diariamente, a partir do 1º dia pós-infecção, amostras foram colhidas da parte superior dos montículos de fezes, como forma de evitar a contaminação por nematódeos de vida livre presentes junto ao piso ou à cama de feno. Essas amostras foram processadas inicialmente pelo método de Willis-Mollay (UENO & GONÇALVES, 1998), para determinação da presença de ovos de *H. contortus* e determinação do período pré-patente. Sempre que ovos eram observados por esse método, as amostras eram então submetidas à análise pelo método quantitativo de Gordon & Whitlock modificado (UENO & GONÇALVES, 1998), para avaliação da oviposição diária do parasita nesse hospedeiro.

##### **4.2.4.3. Hematologia e exames bioquímicos**

Amostras de sangue foram colhidas por venipunção da jugular em tubos de coleta a vácuo no 24º, 14º e 7º dai e 1º, 2º, 4º, 6º, 10º, 17º, 24º, 31º, 38º, 44º, 51º e 58º dpi do período experimental.

Foram colhidas três amostras de sangue de cada animal dos grupos experimentais, sendo uma amostra de 1mL em NaF-K3EDTA, uma de 2 a 3 mL em tubos contendo K3-EDTA e uma de 4 a 5 mL em tubos secos com ativador de coágulo, totalizando um máximo de 9mL por coleta. Os procedimentos adotados foram

semelhantes aos do experimento para determinação de parâmetros hematológicos descritos anteriormente.

#### **4.2.4.4. Análise estatística**

Como forma de minimizar a interferência de variações individuais, os dados referentes à ingestão de alimento e hematologia foram agrupados em infectados e controle para análise estatística.

Devido à impossibilidade da verificação de normalidade de distribuição das amostras, os dados foram submetidos a transformação logarítmica após verificação da constância do coeficiente de variação da amostra, buscando a redução da variação e tornando a avaliação estatística mais confiável. Após a transformação, os dados foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis complementado com comparação posterior múltipla de Dunn. Diferença estatística entre valores foi considerada quando o valor obtido para P era inferior a 0,05.

#### **4.2.5. Necropsia dos animais**

Ao 60º dia do período experimental, os animais foram submetidos à eutanásia por administração de 100mg/Kg de tiopental sódico por via intravenosa, seguido da administração de solução aquosa de KCl a 19,1% até constatação de parada cardiorrespiratória por auscultação cuidadosa, de acordo com normas estabelecidas pela AVMA (2007). Após o abate, os animais foram prontamente transportados ao Laboratório de Anatomia Patológica do Departamento de Patologia Veterinária da FCAV/Unesp, onde foram necropsiados segundo técnicas de rotina. Todos os procedimentos adotados neste experimento têm autorização do IBAMA, conforme citado anteriormente, e foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Bem-Estar Animal da FCAV/Unesp (019661-07).

Após abertura do abomaso pela curvatura maior, o órgão foi lavado cuidadosamente sob água corrente e todo o conteúdo foi recolhido em bandeja,

tamizado e fixado em solução de Railliet & Henry, segundo técnicas rotineiras. Fragmentos das regiões fúndica e pilórica do abomaso, bem como do linfonodo correspondente ao órgão, foram colhidos para exame histopatológico.

Os fragmentos colhidos para avaliação histopatológica foram fixados em formol a 10%, tamponado com fosfatos, com pH ajustado em 7,6, por cerca de 12 horas. Posteriormente, os cortes foram clivados, desidratados em série alcoólica, diafanizados e incluídos em parafina para secção seriada em micrótomo, em cortes de 5µm de espessura. Esses cortes foram então corados por hematoxilina e eosina para análise das alterações morfológicas do tecido. Colorações pelo ácido periódico de Schiff (PAS) e azul de toluidina foram realizadas para contagem de células mucosas e de mastócitos, respectivamente.

O conteúdo abomasal foi avaliado sob microscópio estereoscópico para recuperação dos parasitas, que foram sexados, contados e conservados na mesma solução utilizada para fixação.

#### **4.2.6. Determinação da taxa de recuperação e estudos morfométricos**

A taxa de fixação dessa linhagem de *H. contortus* foi determinada apenas para os quatro animais infectados, pela relação entre o número de larvas infectantes do inóculo oferecido e o número de adultos obtidos. Não foi calculada a taxa de fixação para o ovino doador pelo fato de o tempo de infecção e a dose infectante serem diferentes, impossibilitando comparações fidedignas.

Estudos morfométricos basearam-se na análise das medidas de parâmetros com relevância taxonômica de dez espécimes de *H. contortus* de cada sexo obtidos do carneiro doador, de um filhote de *B. dichotomus* da população original e dos animais infectados.

Os parâmetros avaliados foram comprimento total (Ct), comprimento do esôfago (Eso), distância do anel nervoso (AN) e poro excretor (PExc) relativa à extremidade anterior, largura do corpo (L) à altura da junção esôfago-intestinal, comprimento do

espículo esquerdo (Esp) e gubernáculo (Gub) para os machos e distância da vulva e do ânus à extremidade posterior para as fêmeas.

Os dados biométricos dos espécimes de cada espécie de hospedeiro foram previamente testados pelo teste de D'Agostino e Pearson. Após confirmação da normalidade da distribuição dos dados, estes foram submetidos ao teste de ANOVA simples seguido por teste t múltiplo para comparação aos pares. Diferença significativa entre as médias foi considerada quando o valor obtido para P foi inferior a 0,05.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Obtenção de parâmetros hematológicos e bioquímicos<sup>1</sup>

Os valores obtidos para as séries vermelha e branca estão listados na tabela 1, e os resultados da análise estatística desses dados estão resumidos na tabela 2. Não foram observadas diferenças entre os parâmetros hematológicos de machos e fêmeas.

**Tabela 1.** Parâmetros hematológicos obtidos para veados-catingueiros *Mazama gouazoubira* de cativeiro contidos fisicamente, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp.

|                                 | Machos (n=3)    |                 | Fêmeas (n=8)    |                 |
|---------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                 | Amplitude       | Média ± DP*     | Amplitude       | Média ± DP*     |
| RBC (x10 <sup>6</sup> )         | 17,98 – 20,84   | 19,8 ± 1,6204   | 16,36 – 24,24   | 18,75 ± 2,8985  |
| Ht (%)                          | 41 – 45         | 43,29 ± 2,0816  | 38 – 50         | 44,47 ± 3,9256  |
| Hb (g/dL)                       | 12,9 – 15,45    | 14,42 ± 1,3419  | 12,8 – 17,6     | 15,14 ± 1,9597  |
| MCV (fL)                        | 19,67 – 25,03   | 21,98 ± 2,757   | 20,21 – 28,11   | 23,70 ± 2,7500  |
| MCHC (%)                        | 28,67 – 37,68   | 33,40 ± 4,522   | 31,16 – 37,6    | 34,04 ± 1,9800  |
| WBC (/mm <sup>3</sup> )         | 4100 – 6900     | 5033,3 ± 1616,5 | 2800 – 9600     | 5900 ± 1982,7   |
| Neutrófilos (/mm <sup>3</sup> ) | 2665 – 4209     | 3330 ± 793,93   | 1736 – 4800     | 3575,8 ± 1061,2 |
| Eosinófilos (/mm <sup>3</sup> ) | 82 – 621        | 289 ± 290,43    | 116 – 1943      | 712,14 ± 686,67 |
| Basófilos (/mm <sup>3</sup> )   | 0 – 82          | 27,33 ± 47,34   | 0 – 61          | 17,00 ± 29,05   |
| Linfócitos (/mm <sup>3</sup> )  | 779 – 2001      | 1350,3 ± 614,8  | 868 – 3264      | 1750,4 ± 803,8  |
| Monócitos (/mm <sup>3</sup> )   | 0 – 69          | 36,67 ± 34,70   | 28 – 192        | 101,71 ± 55,56  |
| Relação L:N**                   | 0,25:1 – 0,47:1 | 0,4 ± 0,1305:1  | 0,28:1 – 0,74:1 | 0,5 ± 0,1807:1  |

\* Desvio Padrão; \*\* Relação Linfócitos:Neutrófilos

Em todos os animais foi verificada a presença de poiquilocitose moderada a intensa. Alterações morfológicas em hemácias de cervídeos foram descritas inicialmente por Gulliver em 1840 (DUNN, 1964) e são determinadas pelo tipo de hemoglobina (THORN, 2000; HARVEY, 2008; SZABÓ et al., 2005).

Drepanocitose, semelhante à descrita em esfregaços sanguíneos de *Odocoileus hemionus* (THORN, 2000) e em eritrócitos de *M. gouazoubira* submetidos à condição de hipóxia (CHAMUT & BLACK-DÉCIMA, 2002), não foi observada neste estudo. Estudos em outras espécies de cervídeos como renas *Rangifer tarandus* e muntiacos *Muntiacus*

<sup>1</sup> LUX HOPPE, E.G.; SCHMIDT, E.M.S.; ZANUZZO, F.S.; DUARTE, J.M.B.; NASCIMENTO, A.A. Haematology of captive grey-brocket deer *Mazama gouazoubira* (Fischer, 1814) (Cervidae: Odocoileinae). **Comparative Clinical Pathology**. V. 19, p. 29 – 32, 2010.

*munijac* também não revelaram a presença de drepanócitos (THORN, 2000). Por outro lado, outras alterações da morfologia eritrocítica como policromasia e anisocitose foram registradas em *R. tarandus* (HENKEL, 2000), demonstrando que o padrão de alteração morfológica das hemácias das diversas espécies de cervídeos é bastante variável.

**Tabela 2.** Análise estatística, pelo método não paramétrico de Mann-Whitney, dos parâmetros hematológicos obtidos para veados-catingueiros *Mazama gouazoubira* de cativeiro contidos fisicamente, mantidos no Nupecce FCAV/Unesp.

|                                 | Machos (n=3)<br>Média ± DP* | Fêmeas (n=8)<br>Média ± DP* | U de Mann-Whitney | P      |
|---------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------|--------|
| RBC ( $\times 10^6$ )           | 19,8 ± 1,6204               | 18,75 ± 2,8985              | 9,000             | 0,6303 |
| Ht (%)                          | 43,29 ± 2,0816              | 44,47 ± 3,9256              | 9,000             | 0,6303 |
| Hb (g/dL)                       | 14,42 ± 1,3419              | 15,14 ± 1,9597              | 10,00             | 0,7758 |
| MCV (fL)                        | 21,98 ± 2,757               | 23,70 ± 2,7500              | 7,000             | 0,3758 |
| MCHC (%)                        | 33,40 ± 4,522               | 34,04 ± 1,9800              | 11,00             | 0,9212 |
| WBC (/mm <sup>3</sup> )         | 5033,3 ± 1616,5             | 5900 ± 1982,7               | 10,00             | 0,7573 |
| Neutrófilos (/mm <sup>3</sup> ) | 3330 ± 793,93               | 3575,8 ± 1061,24            | 9,000             | 0,8333 |
| Eosinófilos (/mm <sup>3</sup> ) | 289 ± 290,43                | 712,14 ± 686,67             | 6,000             | 0,3833 |
| Basófilos (/mm <sup>3</sup> )   | 27,33 ± 47,34               | 17,00 ± 29,05               | 9,000             | 0,7729 |
| Linfócitos (/mm <sup>3</sup> )  | 1350,3 ± 614,85             | 1750,43 ± 803,8             | 7,000             | 0,5167 |
| Monócitos (/mm <sup>3</sup> )   | 36,67 ± 34,70               | 101,71 ± 55,56              | 4,000             | 0,1833 |

\*Desvio padrão

O processo de contenção física frequentemente resulta em resposta aguda a estresse, podendo ocasionar alterações nos parâmetros da série vermelha, como Ht e RBC, decorrentes de contração esplênica por estímulo de catecolaminas (MARCO & LAVIN, 1999; SZABÓ et al., 2005). Apesar dos esforços direcionados para minimização da influência do estresse sobre os animais, como a coleta no final da tarde e no menor tempo o possível, os parâmetros obtidos para as amostras foram pouco superiores a dados disponíveis na literatura (SZABÓ et al., no prelo), talvez por efeito do estresse.

Por outro lado, níveis elevados de hemoglobina aliados a baixos valores de VCM tipicamente encontrados em cervídeos (SEAL & ERICKSON, 1969; THORN, 2000) podem ocasionar valores imprecisos quando avaliados por contadores automáticos de células baseados no princípio de Coulter. Nesses casos, há uma superestimação do valor de VCM, resultando em valores erroneamente baixos para Ht e CHCM, já que

esses valores são estimados a partir do VCM, além de uma contagem baixa de eritrócitos, devido ao fato de a impedância de células pequenas muitas vezes ser desconsiderada pelo equipamento (MOHANDAS et al., 1986).

Portanto, os valores discretamente maiores dos parâmetros da série vermelha deste estudo podem ser devidos à metodologia empregada, já que os dados de SZABÓ et al. (2009) foram obtidos em contador automático. Sugere-se que o uso de contadores automáticos baseados no princípio de Coulter sejam previamente validados com métodos de contagem manual, buscando minimizar erros e aumentar a confiabilidade dos dados obtidos.

Embora a influência do sexo sobre número total de hemácias, hematócrito e hemoglobina tenha sido relacionada por THORN (2000), diferenças estatisticamente significativas entre os parâmetros hematológicos de cada sexo não foram observadas nos animais do presente estudo. A utilização de animais adultos excluiu a possibilidade de interferência da idade, uma vez que mesmo animais jovens com mais de seis meses já apresentam valores de hemograma similares aos dos adultos (THORN, 2000).

Os valores de leucograma obtidos foram semelhantes aos de outros trabalhos disponíveis na literatura (SZABÓ et al., 2009) e não apresentaram diferença entre as populações de cada sexo, apesar de uma contagem discretamente maior de leucócitos para as fêmeas.

A contagem diferencial de leucócitos também foi semelhante para ambos os sexos e próxima de valores previamente publicados para a espécie, apesar de os valores de linfócitos das fêmeas ser discretamente menor que os descritos por SZABÓ et al. (2009) e da contagem de eosinófilos nos machos e monócitos nas fêmeas levemente superior aos descritos pelos mesmos autores citados anteriormente. THORN (2000) menciona que estímulos estressantes, tais como manejo e contenção física, têm influência sobre os parâmetros hematológicos de veados, especialmente nas fêmeas, que respondem com leucocitose de forma mais intensa que os machos. Notavelmente, neste estudo a contagem total de leucócitos foi maior para as fêmeas que para os machos, sem que houvesse, no entanto, a demonstração de diferença pelo método de Mann-Whitney.

Ruminantes domésticos (JONES & ALLISON, 1997) e algumas espécies de cervídeos, tais como *O. virginianus* (THORN, 2000), *Axis axis* (CHAPPLE et al., 1991) e *R. tarandus* (HENKEL, 2000), têm linfócitos como leucócitos predominantes, seguidos por neutrófilos e demais células brancas. Animais saudáveis exibem uma relação linfócitos:neutrófilos (L:N) próxima a 2:1 ou 3:1. Estímulos estressantes interferem nessa relação por determinarem linfopenia e neutrofilia sem desvio regenerativo, resultantes de aumento dos níveis circulantes de cortisol. A relação L:N observada nos animais deste experimento foi de 1:2 nas fêmeas e 1:2,6 nos machos, semelhante a valores observados por outros pesquisadores (SZABÓ et al., 2009). A concordância desta relação em estudos independentes pode ser decorrente do fato de esses valores para a relação L:N serem normais para a espécie, mas a influência do estresse não deve ser descartada.

A tabela 3 refere-se aos parâmetros bioquímicos aferidos para esses animais. A análise estatística desses parâmetros, para verificação da influência do sexo sobre esses valores, está resumida na tabela 4. Foi constatada diferença entre os valores de fibrinogênio obtidos para os machos e para as fêmeas, assim como para as proteínas séricas totais. Apesar disso, esses parâmetros não interferiram significativamente nos valores obtidos para proteínas plasmáticas totais, muito provavelmente por compensação da diferença pela albumina, parâmetro discretamente superior nas fêmeas, sem diferença detectável pelo teste estatístico empregado.

A dosagem de proteínas séricas, além de ser útil para avaliação do status sanitário e/ou nutricional do animal, também é fundamental para a avaliação do proteinograma por eletroforese em gel de agarose ou SDS-PAGE (ECKERSAL, 2008).

**Tabela 3.** Parâmetros bioquímicos obtidos para veados-catingueiros *Mazama gouazoubira* de cativeiro contidos fisicamente, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp.

|                                     | Machos (n=3)    |                       | Fêmeas (n=8)    |                       |
|-------------------------------------|-----------------|-----------------------|-----------------|-----------------------|
|                                     | Amplitude       | Média $\pm$ DP*       | Amplitude       | Média $\pm$ DP*       |
| PPT (g/dL)                          | 8,8 – 9,4       | 9,2 $\pm$ 0,3464      | 8,2 – 9,4       | 8,45 $\pm$ 0,6481     |
| Fibrinogênio (g/dL)                 | 0,4 – 0,8       | 0,5333 $\pm$ 0,2309   | 0,0 – 0,4       | 0,1750 $\pm$ 0,1282   |
| PST <sub>biureto</sub> (g/dL)       | 7,52 – 8,85     | 8,23 $\pm$ 0,6696     | 6,94 – 7,89     | 7,4025 $\pm$ 0,28     |
| PST <sub>refratometria</sub> (g/dL) | 7,8 – 8,8       | 8,3333 $\pm$ 0,5033   | 7,0 – 7,8       | 7,3 $\pm$ 0,3024      |
| Albumina VB                         | 2,58 – 3,21     | 2,8333 $\pm$ 0,3326   | 2,25 – 3,37     | 2,72 $\pm$ 0,3692     |
| Albumina PB                         | 2,56 – 2,77     | 2,6433 $\pm$ 0,1115   | 2,23 – 2,98     | 2,6025 $\pm$ 0,2466   |
| Globulinas                          | 4,31 – 6,27     | 5,3967 $\pm$ 0,9973   | 4,08 – 5,37     | 4,6827 $\pm$ 0,4199   |
| Relação A:G                         | 0,4114 – 0,7447 | 0,5464 $\pm$ 0,1754   | 0,4692 – 0,8259 | 0,5899 $\pm$ 0,1304   |
| Glicose                             | 94,61 – 138,64  | 123,963 $\pm$ 25,4207 | 72,59 – 157,68  | 108,481 $\pm$ 26,2367 |

\* Desvio Padrão; \*\* Relação Albumina:Globulina

**Tabela 4.** Análise estatística, pelo método não paramétrico de Mann-Whitney, dos parâmetros bioquímicos obtidos para veados-catingueiros *Mazama gouazoubira* de cativeiro contidos fisicamente, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp.

|                                     | Machos (n=3)<br>Média $\pm$ DP* | Fêmeas (n=8)<br>Média $\pm$ DP* | U de Mann-Whitney | P      |
|-------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------|--------|
| PPT (g/dL)                          | 9,2 $\pm$ 0,3464                | 8,45 $\pm$ 0,6481               | 4,000             | 0,1171 |
| Fibrinogênio (g/dL)                 | 0,5333 $\pm$ 0,2309             | 0,1750 $\pm$ 0,1282             | 1,000             | 0,0228 |
| PST <sub>Biureto</sub> (g/dL)       | 8,23 $\pm$ 0,6696               | 7,4025 $\pm$ 0,28               | 2,000             | 0,0485 |
| PST <sub>Refratometria</sub> (g/dL) | 8,3333 $\pm$ 0,5033             | 7,3 $\pm$ 0,3024                | 0,500             | 0,0228 |
| Albumina VB                         | 2,8333 $\pm$ 0,3326             | 2,72 $\pm$ 0,3692               | 8,500             | 0,5394 |
| Albumina PB                         | 2,6433 $\pm$ 0,1115             | 2,6025 $\pm$ 0,2466             | 8,500             | 0,5394 |
| Globulinas                          | 5,3967 $\pm$ 0,9973             | 4,6827 $\pm$ 0,4199             | 6,000             | 0,2788 |
| Relação A:G**                       | 0,5464 $\pm$ 0,1754             | 0,5899 $\pm$ 0,1304             | 9,000             | 0,6303 |
| Glicose plasmática                  | 123,963 $\pm$ 25,420            | 108,481 $\pm$ 26,236            | 9,000             | 0,6303 |

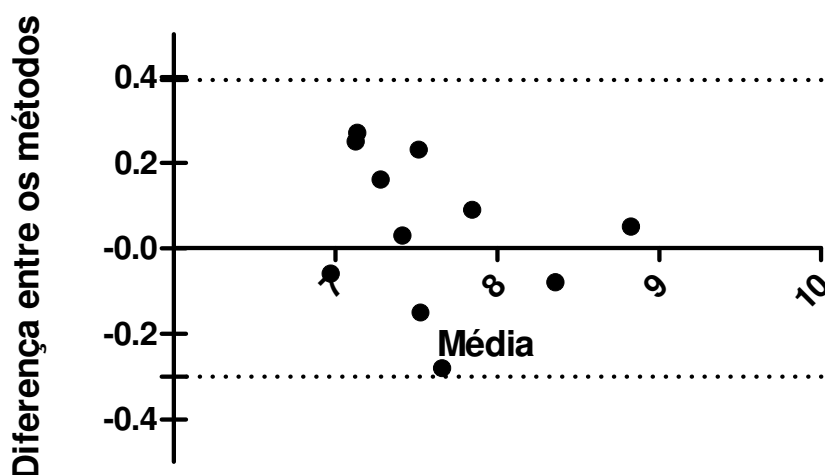
\* Desvio Padrão; \*\* Relação Albumina:Globulina

As duas principais frações das proteínas séricas são a albumina, sintetizada no fígado e responsável pela manutenção da pressão oncótica, e as globulinas. Em relação a essas, a maior parte das globulinas corresponde às imunoglobulinas, produzidas por células da linhagem linfóide, enquanto a outra porção, à qual pertencem as proteínas de fase aguda, é sintetizada pelo fígado, além de outros tecidos (RUSSEL & ROUSSEL, 2007).

GEORGE (2001) sugere que as proteínas séricas totais sejam determinadas por refratometria, um método físico bastante simples e barato, como forma de permitir a

rápida avaliação desse parâmetro no campo. Como existem relatos de discordância entre valores de proteínas séricas obtidos por refratometria e pelo método do biureto para várias espécies domésticas (THOMAS & BROWN, 1992), o uso da refratometria para esse fim deve ser validado para cada espécie animal, comparando-o com métodos de determinação de concentração de proteínas já consagrados, como o método do biureto (GEORGE, 2001).

Neste estudo, a concentração de proteína sérica total foi determinada por ambas as técnicas. Não foi observada diferença estatística pelo teste t entre as médias obtidas pelas diferentes metodologias empregadas ( $t=0,8696$ ;  $P=0,4049$ ) e, ainda, a análise pela correlação de Pearson revelou um coeficiente elevado ( $r=0,9546$ ;  $P<0,0001$ ), demonstrando uma forte relação entre os dados obtidos seguindo essas duas metodologias. Ainda, sob o teste de Bland-Altman, as médias obtidas pelos dois métodos apresentaram diferença pequena, de  $0,0463 \pm 0,1768$ , com intervalo de concordância com 95% de confiança entre  $-0,3002$  e  $0,3929$ , conforme representado na Figura 3. Portanto, pode-se considerar a refratometria um método válido para determinação das proteínas séricas totais, dispensando o uso de reagentes e espectrofotômetro.



**Figura 2.** Intervalo de confiança obtido pelo teste de Bland-Altman para os métodos de refratometria e do biureto para determinação da albumina dos veados-catingueiros do Nupecce, FCAV/Unesp.

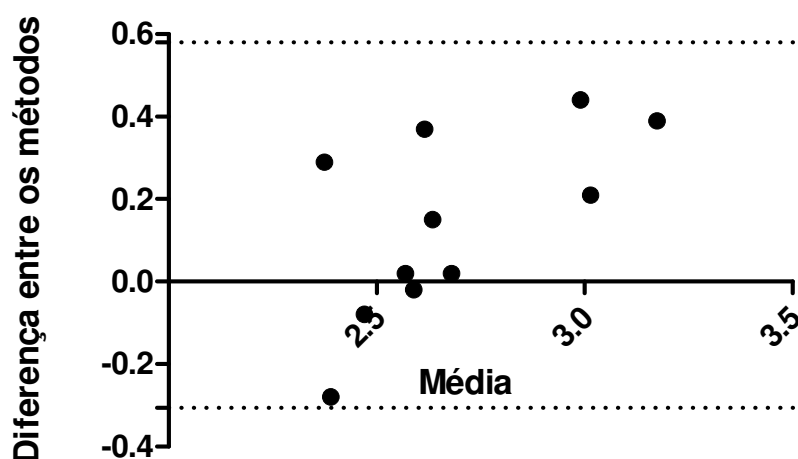
O fibrinogênio, uma das proteínas de fase aguda positivas, é um parâmetro útil na avaliação clínica de ruminantes por indicar a presença de processo inflamatório (RUSSEL & ROUSSEL, 2007; ECKERSAL, 2008). Nos animais deste estudo, constatou-se diferença significativamente estatística entre os valores de fibrinogênio de machos e fêmeas. Apesar de não haver valores de referência para a espécie, os parâmetros obtidos, tanto para machos quanto para fêmeas, estão dentro do intervalo considerado normal para bovinos adultos (JONES & ALLISON, 2007).

Pode-se estabelecer uma relação entre os valores de PPT e fibrinogênio para avaliação do segundo parâmetro, como forma de compensar alterações decorrentes da hidratação do animal. Valores inferiores a 10:1 são indicativos de hiperfibrinogenemia verdadeira (JONES & ALLISON, 2007). Todas as relações PPT:Fib obtidas neste experimento foram claramente superiores a essa relação, evidenciando a normalidade desse parâmetro em todos os animais avaliados.

Alguns estudos sugerem que a dosagem de albumina pelo método do verde de bromocresol (VBC) pode resultar em valores incorretamente superestimados (FREDRICHSEN & KIERULF, 1979; DULY et al., 2003) para essa proteína. Buscando corrigir possíveis erros, o método do púrpura de bromocresol (PBC) foi sugerido como uma alternativa de maior precisão para determinação da albumina a partir do soro ou do plasma (FREDRICHSEN & KIERULF, 1979; CLASE et al., 2001; DULY et al., 2003; ECKERSAL, 2008). Os valores obtidos pelo PBC foram discretamente inferiores aos obtidos pelo método do VBC, porém, sem constatação de diferença estatisticamente significativa entre as médias ( $t=2,012$ ;  $P=0,0719$ ). A correlação de Bland-Altman demonstrou uma boa similaridade entre os métodos, com diferença entre as médias ( $\pm$  desvio padrão) de  $0,1372 (\pm 0,2262)$  e intervalo de concordância entre  $-0,3062$  e  $0,5807$  (Figura 4), evidenciando que ambos podem ser utilizados com segurança para a determinação da albumina.

A relação albumina:globulinas (A:G) pode ser utilizada para avaliação desses parâmetros com maior confiabilidade, excluindo-se a interferência do grau de hidratação do animal, e é bastante constante em bovinos saudáveis (RUSSELL & ROUSSEL,

2007; ECKERSAL, 2008). Os valores obtidos são inferiores ao padrão determinado para bovinos, certamente por diferença entre as espécies.



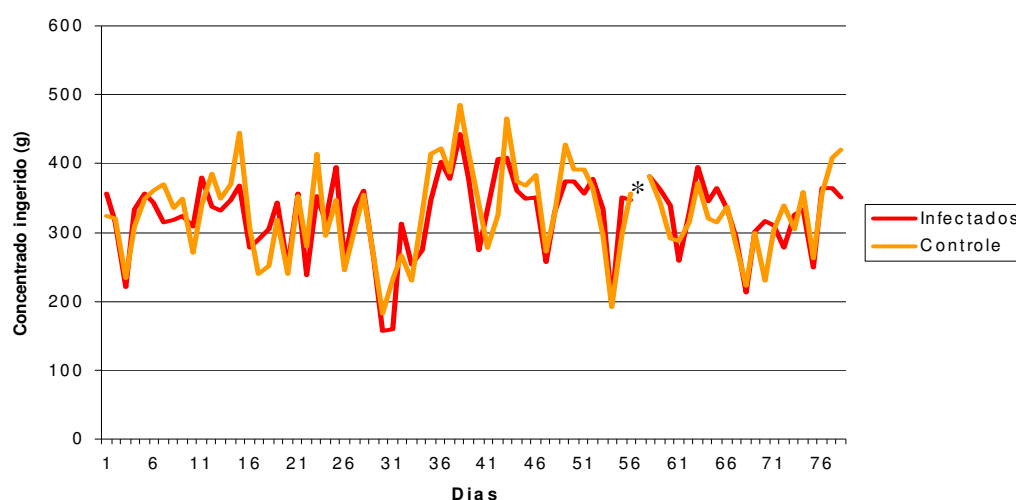
**Figura 3.** Intervalo de confiança obtido pelo teste de Bland-Altman para os métodos do verde de bromocresol e do púrpura de bromocresol para determinação da albumina em veados-catingueiros do Nupecce, FCAV/Unesp.

A concentração plasmática de glicose nos ruminantes é relativamente constante, dado o metabolismo único desse nutriente nesse grupo de animais (RUSSEL & ROUSSEL, 2007). Os níveis de glicose obtidos são relativamente altos quando comparados ao padrão de ruminantes domésticos (KANEKO, 2008) e possivelmente são devidos ao estresse (RUSSELL & ROUSSEL, 2007) proporcionado pela contenção. Por outro lado, o comportamento alimentar desses animais e a fermentação ruminal inferior à realizada pelos ruminantes domésticos (BARBOSA, 2003) podem estar relacionados a esse parâmetro.

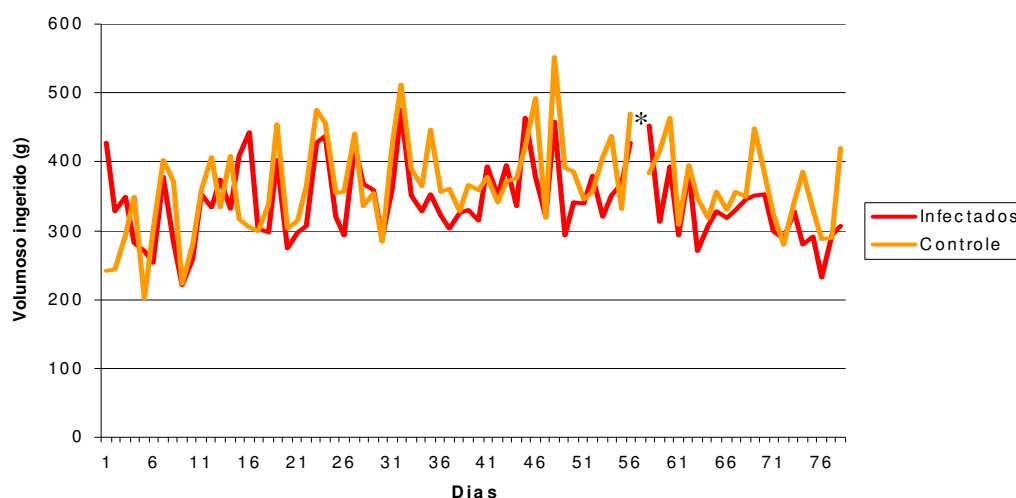
## 5.2. Monitoramento da Infecção

### 5.2.1. Ingestão de alimento

Não foi notada interferência da infecção sobre a ingestão de alimento ou água ( $P=0,7589$  e  $P= 0,6888$ , respectivamente), conforme relacionado nas figuras 5 e 6, tampouco alteração na preferência por concentrado ou volumoso ao longo do período experimental.



**Figura 4.** Média geométrica da quantidade de concentrado ingerido pelos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp. (\* dia não avaliado).



**Figura 5.** Média geométrica da quantidade de volumoso ingerido pelos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp. (\* dia não avaliado).

Os parasitas gastrintestinais de animais domésticos, em especial os abomasais, são reconhecidos por provocar redução no apetite do hospedeiro resultando em redução da produção e da resistência a doenças por desequilíbrio no aporte protéico (FOX, 1997; SIMPSON, 2000). Esse impacto dos parasitas abomasais também foi demonstrado em renas de cativeiro naturalmente infectadas, que consumiram 20% menos alimento que renas livres de doença (ARNEBERG et al., 1996).

Apesar de diversas evidências de que os nematódeos gastrintestinais provocam anorexia em seus hospedeiros ao alterarem a fisiologia abomasal ou pela liberação de antígenos de excreção/secreção (FOX, 1997; SIMPSON, 2000), KIRYAZAKIS et al. (1998) sugerem que a anorexia exibida pelo hospedeiro possa ser decorrente de alteração comportamental que prioriza a ingestão de determinados itens alimentares importantes para a auto-regulação da doença, em detrimento de outros alimentos ingeridos em maior quantidade em situações normais. Por outro lado, van der WAL et al. (2000) demonstram que a anorexia decorrente de parasitismo gastrintestinal em

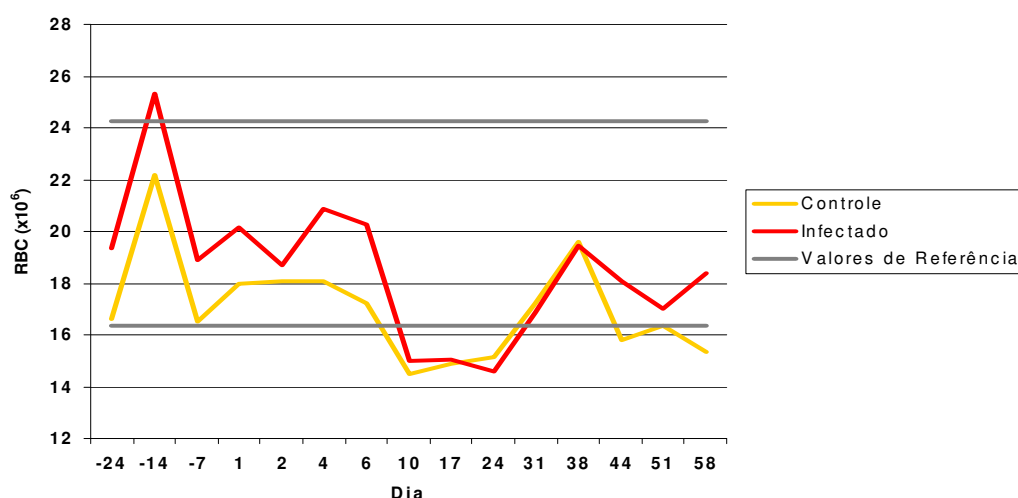
renas de vida livre naturalmente infectadas poderia estar relacionada à repugnância por áreas de pasto contaminadas por suas próprias fezes, num provável mecanismo de auto-regulação da intensidade parasitária.

Por um lado, a intensidade parasitária empregada neste experimento pode ter sido insuficiente para ocasionar alterações perceptíveis no apetite ou seletividade dos animais infectados. Por outro lado, veados-catingueiros apresentam comportamento de forrageio bastante diferente dos ruminantes domésticos e das renas por serem altamente seletivos, procurando ingerir itens alimentares de alta digestibilidade (NOWAK, 1999; OLIVEIRA & DUARTE, 2006).

Ainda, independentemente de parasitismo, veados-catingueiros evitam contato com as próprias fezes, assim como outros herbívoros (WEMMER & MORTALI, 1988; LAMOOT et al., 2004), buscando defecar e urinar em determinadas áreas, denominadas latrinas. O fato de os alimentos serem fornecidos em comedores pode ter, portanto, mascarado possíveis alterações comportamentais exibidas pelos animais infectados. Como esses animais têm hábitos solitários e não são pastadores, a repetição do experimento de van der WAL et al. (2000) fica impossibilitada para essa espécie.

### **5.2.2. Hematologia**

As contagens totais de eritrócitos realizadas ao longo do período experimental mantiveram-se próximas aos padrões obtidos para a espécie, com exceção dos dias 10, 17 e 24, nos quais as contagens demonstraram valores pouco abaixo do limiar inferior (Figura 7). Não foi observada diferença significativa entre os dias de coleta ou entre os grupos ( $P=0,1472$ ). Apesar de relatos de anemia em cervídeos experimentalmente (FOREYT & TRAINER, 1970) ou naturalmente infectados por *H. contortus* (EVE & KELLOGG, 1971; McGHEE et al., 1981), não há descrição de alterações na contagem total de hemácias ou na morfologia eritrocitária.



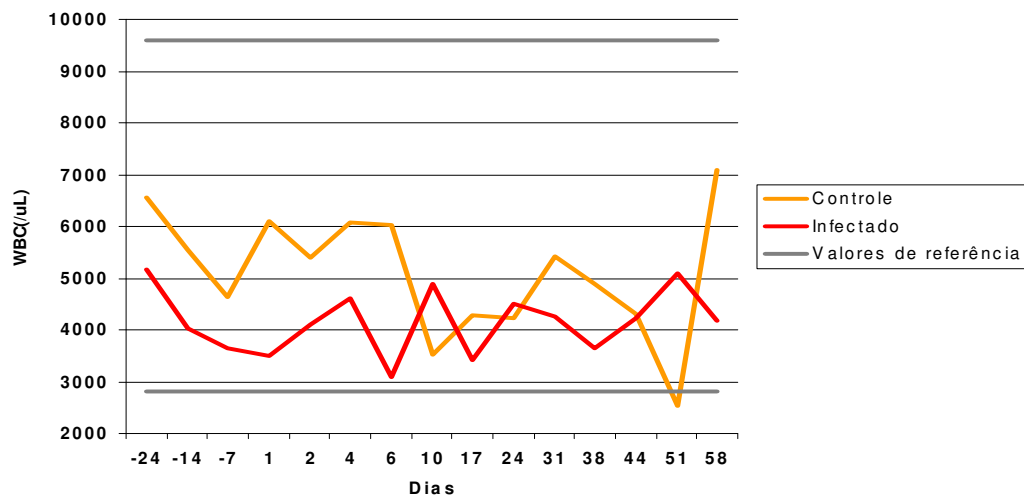
**Figura 6.** Média geométrica da contagem total de eritrócitos dos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp.

Hemoncose é relativamente comum nos ibex *Capra pyrenaica* de uma reserva na costa leste espanhola, afetando 64% desses animais (ROSSI et al., 1994). Há na literatura relatos de animais de vida livre, naturalmente infectados, que foram encontrados em más condições sanitárias, com pronunciada palidez de mucosas e intensa anemia, com contagem total de hemácias e hematócrito intensamente reduzidos, caracterizada por macrocitose e hipocromia (LAVÍN et al., 1997).

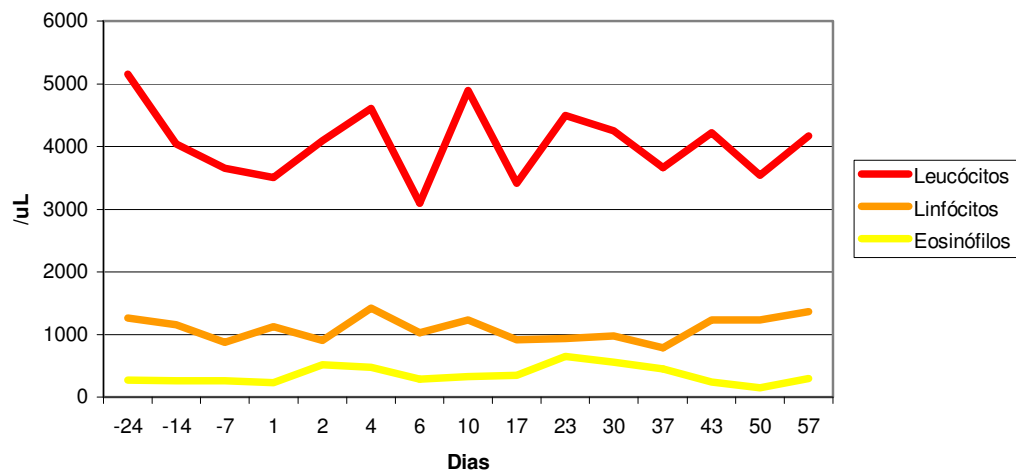
As contagens de leucócitos totais (Figs. 8 e 9), eosinófilos (Fig. 9) e linfócitos (Fig. 9) do grupo infectado mostraram-se compatíveis com os valores de normalidade estabelecidos previamente para a espécie.

Eosinofilia periférica, classicamente relacionada com helmintoses, foi descrita em carneiros experimentalmente infectados por nematódeos gastrintestinais (MEEUSEN & BALIC, 2000). DAWKINS et al. (1989) descrevem que carneiros selecionados para resistência a *T. colubriformis* apresentavam eosinofilia periférica maior que animais sensíveis a esse parasita. A contagem de eosinófilos nos veados-

catingueiros mostrou-se constante ao longo do experimento, sem diferença estatística entre os dias avaliados, pré ou pós-infecção ( $P=0,2122$ ).



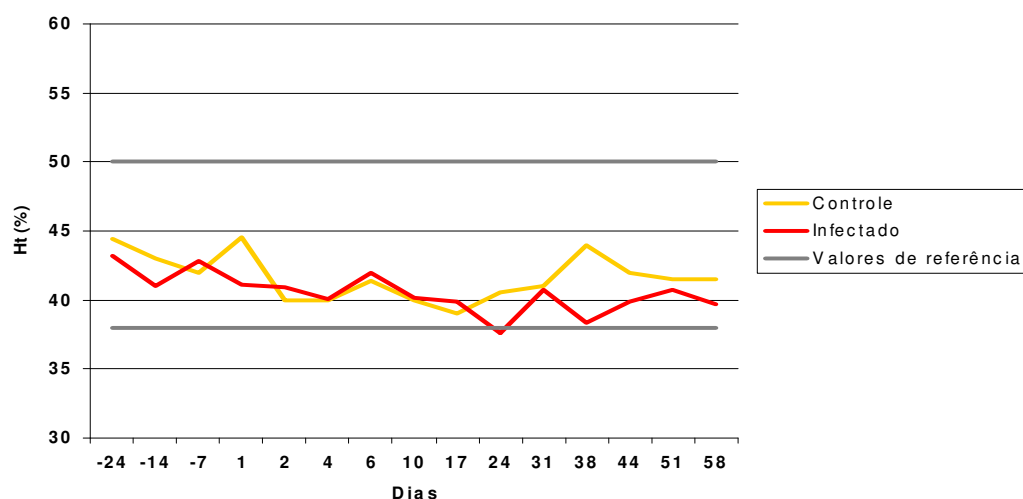
**Figura 7.** Média geométrica da contagem total de leucócitos dos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp.



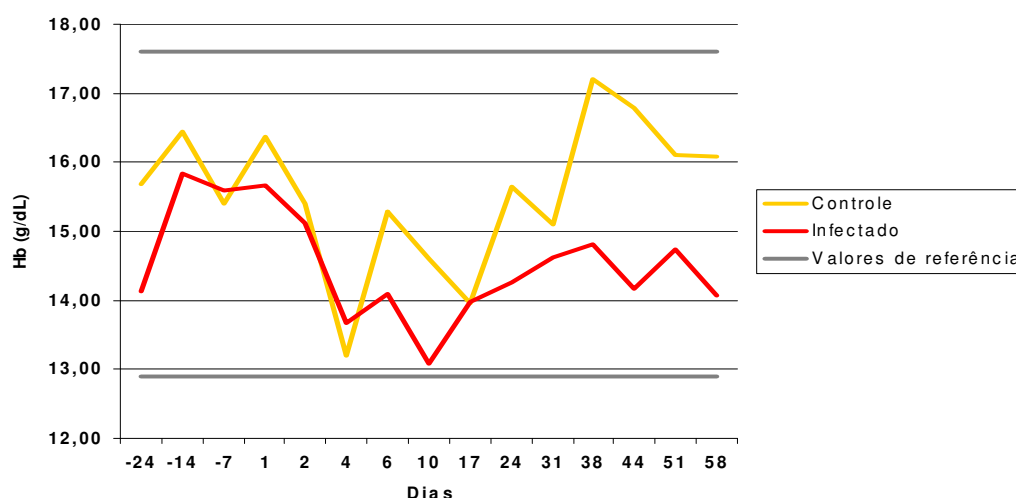
**Figura 8.** Média geométrica da contagem total de leucócitos, linfócitos e eosinófilos dos *M. gouazoubira* infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp.

O mesmo foi observado para leucócitos totais ( $P=0,3473$ ) e linfócitos ( $P=0,3128$ ). Apesar de não haver relação estabelecida entre leucocitose e parasitismo gastrointestinal, ROWE et al. (2008) estabeleceram uma relação inversamente proporcional entre linfocitose e fecundidade de *H. contortus* em ovelhas. Conforme será detalhado adiante, a taxa de oviposição observada neste experimento foi baixa se comparada com carneiros, mesmo no animal com a maior intensidade parasitária dentre os animais infectados. Todavia, a contagem de linfócitos manteve-se constante e, portanto, não pôde ser estabelecida relação entre esses dados.

O hematócrito dos animais (Figura 10) mostrou-se levemente reduzido durante a fase de menor intervalo entre coletas. A partir 24<sup>º</sup> dpi, os animais do grupo-controle demonstraram leve aumento desse parâmetro, enquanto os animais infectados permaneceram com valores numericamente inferiores aos valores iniciais. Apesar da pequena diferença numérica entre os valores dos animais infectados versus grupo-controle, não houve diferença estatística entre os grupos, tampouco entre os dias de amostragem ( $P=0,9994$ ).



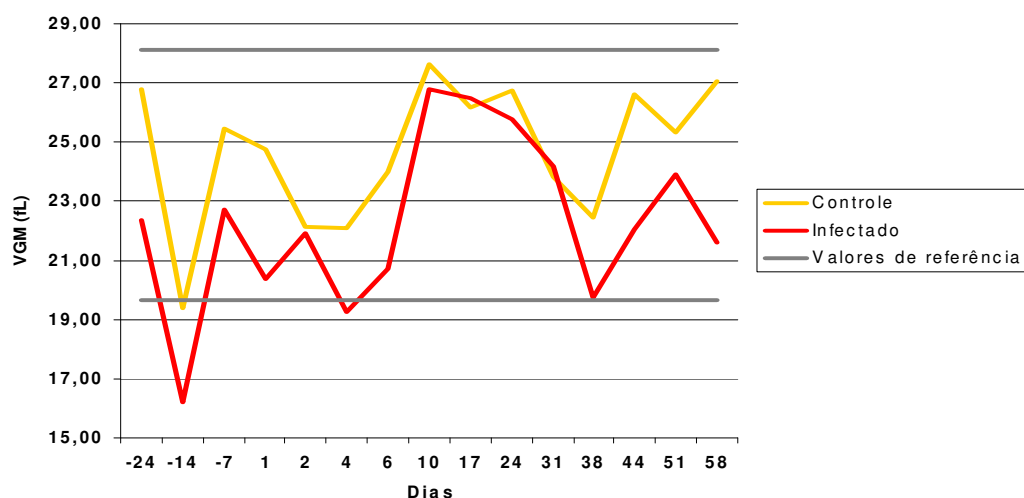
**Figura 9.** Média geométrica do hematócrito dos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp.



**Figura 10.** Média geométrica da concentração de hemoglobina dos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp.

A concentração de hemoglobina (Figura 11), assim como o hematócrito, também decaiu no período de menor periodicidade entre coletas. No entanto foi notável o aumento dos valores de hemoglobina no grupo controle, diferentemente do observado no grupo dos animais infectados. De qualquer forma, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos nem entre os dias de coleta ( $P=0,4294$ ).

FOREYT & TRAINER (1970) descrevem alterações consideráveis nos parâmetros hematológicos e bioquímicos de *O. virginianus* infectados experimentalmente com *H. contortus*. Os valores de hematócrito e hemoglobina reduziram 30% e 25%, respectivamente, 11 semanas após a inoculação dos animais com 100.000 larvas L3. Por outro lado, o grupo que recebeu inóculo de 25.000 larvas apresentou relativa constância desses parâmetros. A intensidade parasitária média obtida por FOREYT & TRAINER (1970) foi de 1.329 helmintos no grupo inoculado por 25.000 larvas e de 3.005 helmintos no grupo infectado por 100.000 larvas, mais de duas vezes maior que a maior intensidade parasitária observada no presente experimento.

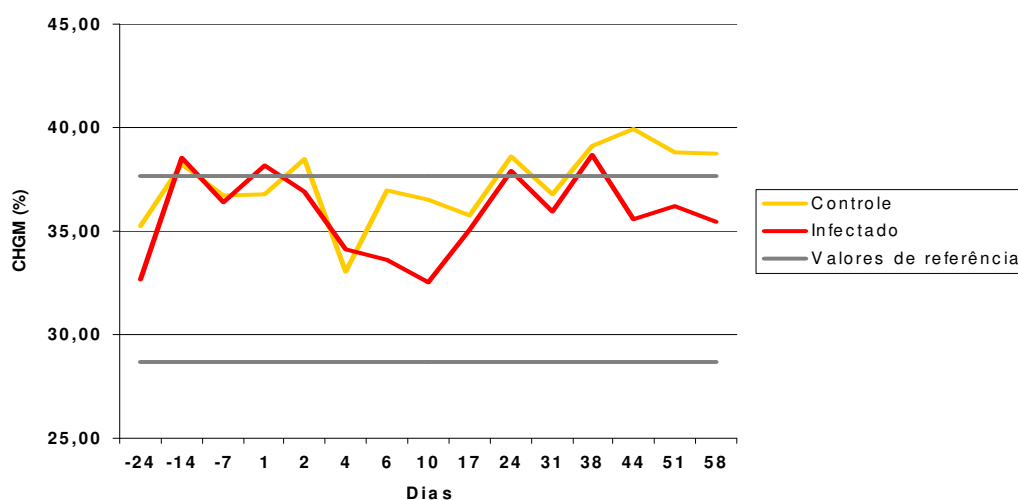


**Figura 11.** Média geométrica do volume globular médio (VGM) dos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp.

O volume globular médio (VGM) (Figura 12) manteve-se dentro do padrão para a espécie durante a maior parte do período experimental. Discreta microcitose foi observada no dia -14 do período experimental, porém sem repercussão clínica. O aumento do VGM entre os dias 6 e 24 pós-infecção pode ser resultantes de resposta medular, em consequência das coletas. Por outro lado, os valores de concentração de hemoglobina globular média (CHGM) (Figura 13) mostraram-se discretamente superiores aos parâmetros obtidos para a espécie, porém sem significância clínica.

Tanto os valores de VGM quanto de CHGM mostraram diferença estatisticamente significativa no teste de Kruskal-Wallis (valores de P iguais a 0,0159 e 0,0061, respectivamente). Porém o teste múltiplo de Dunn não foi capaz de identificar quais grupos diferiram entre si em ambos os casos, apesar de a diferença entre médias dos dias amostrais -14 e 10 ser numericamente elevada para os valores de VGM de ambos os grupos e para os valores de CHGM do grupo infectado. Um teste paramétrico aplicado aos dados transformados poderia demonstrar diferença estatística. Apesar disso, a impossibilidade de testar os dados quanto à normalidade da distribuição

tornaria tal abordagem incorreta e pouco confiável. A discreta redução da contagem total de hemácias observada nos dias 10, 17 e 24 do período experimental pode ser caracterizada, portanto, como anemia normocítica normocrômica. Possivelmente, os curtos intervalos entre as coletas no início do período experimental podem ser a explicação desse achado, apesar do pequeno volume de sangue coletado.



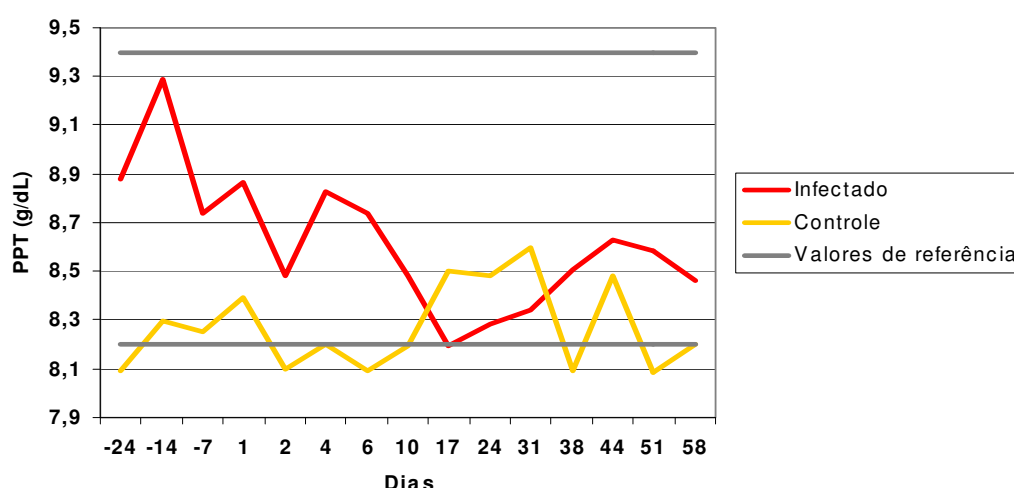
**Figura 12.** Média geométrica da concentração de hemoglobina globular média (CHGM) dos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp.

### 5.2.3. Parâmetros bioquímicos

Ao longo do período experimental, a concentração de proteínas plasmáticas totais (PPT) (Figura 14) ficou próxima aos valores considerados normais para a espécie, apesar dos valores discretamente inferiores, de apenas 0,1 g/dL abaixo do limiar inferior, observados para o grupo-controle. Não foi observada diferença significativa entre os dias de coleta ou entre os grupos ( $P=0,9276$ ), apesar da redução numérica dos valores desse parâmetro no grupo infectado, que mostrou redução dos

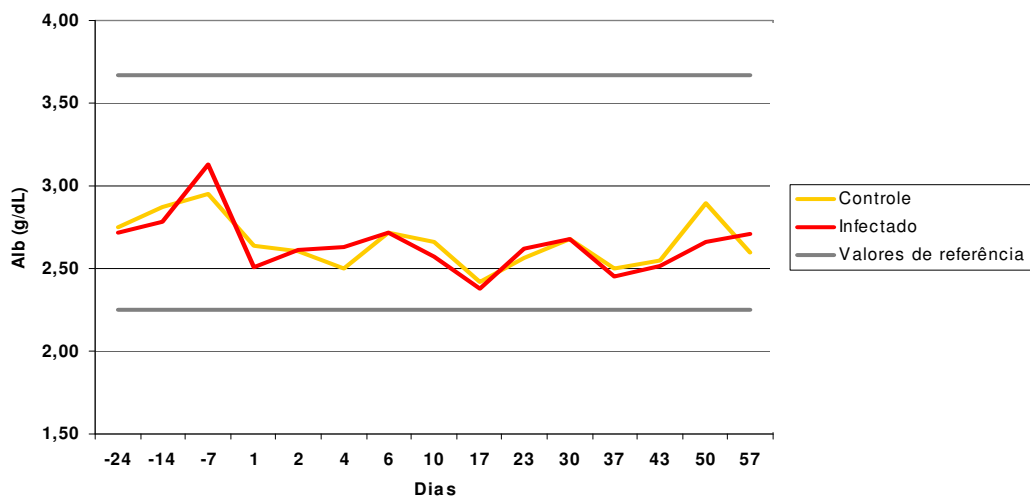
valores. Por outro lado, o grupo-controle manteve a concentração de PPT dentro de um limiar menor de variação.

Como foi verificada possível interferência do sexo sobre a concentração de proteínas séricas totais, esse parâmetro não foi considerado para o monitoramento do processo infeccioso.

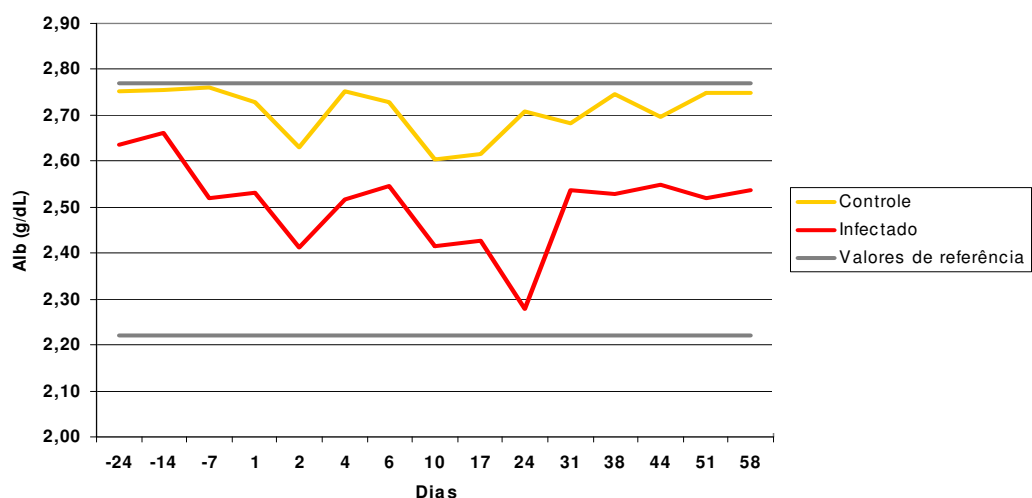


**Figura 13.** Média geométrica das proteínas plasmáticas totais (PPT) dos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp.

A concentração de albumina sérica foi dosada com dois reagentes diferentes, o verde de bromocresol (Figura 15) e o púrpura de bromocresol (Figura 16). DULY et al. (2003) demonstraram que o segundo reagente tem maior especificidade pela albumina, evitando superestimação ocasional de valores. Não foi observada diferença estatística entre os grupos experimentais ou dias de coleta nas amostras processadas pelo método do verde de bromocresol ( $P=0,9049$ ), tampouco pelo púrpura de bromocresol ( $P=0,9828$ ). A albumina é a proteína mais abundante do soro, representando cerca de 35 a 50% da fração protéica total (ECKERSAL, 2008). O baixo peso molecular de sua molécula, aliado à sua sensibilidade ao fluxo de fluídos, faz com que a albumina seja perdida em diversas situações patológicas (ECKERSAL, 2008), dentre as quais o parasitismo gastrointestinal (MURRAY, 1969; FOX, 1997; SIMPSON, 2000).

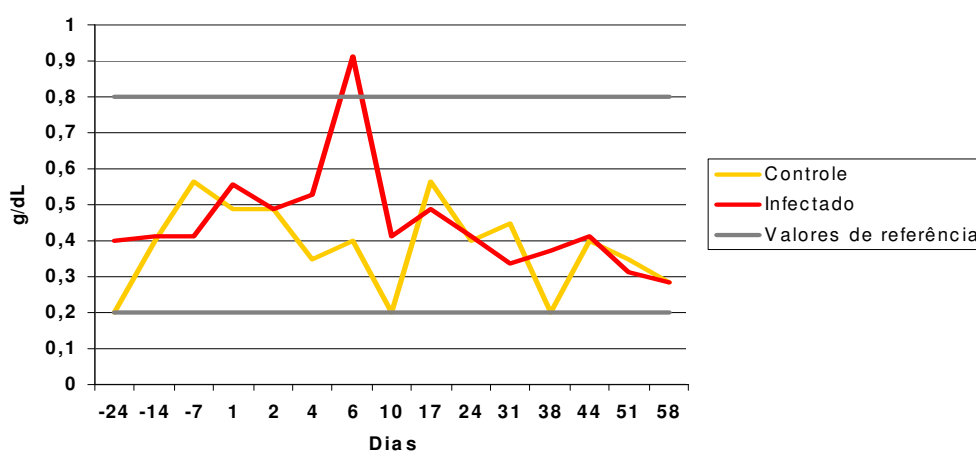


**Figura 14.** Média geométrica da albumina (Alb), dosada pelo método do verde de bromocresol, dos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp.

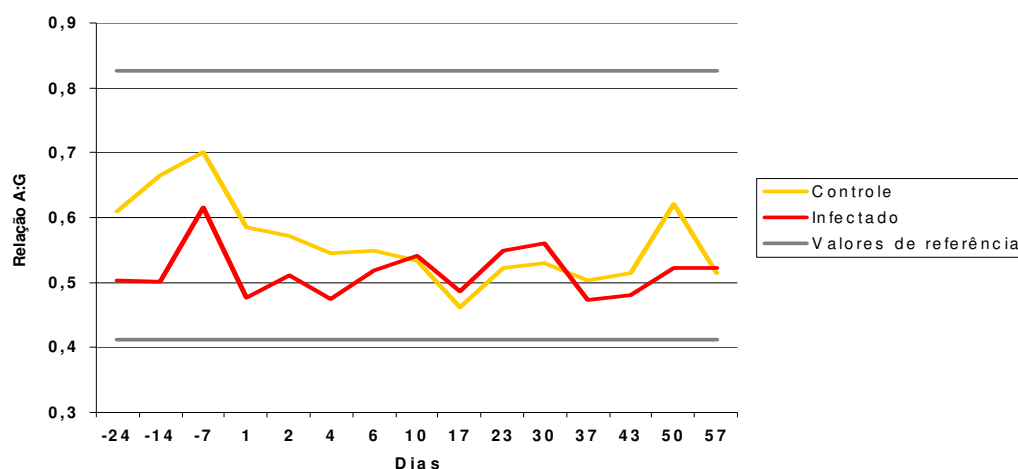


**Figura 15.** Média geométrica da albumina (Alb), dosada pelo método do púrpura de bromocresol, dos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp.

A concentração de fibrinogênio (Figura 17) do grupo-controle apresentou menor amplitude de variação que o grupo infectado, que exibiu um pico no 6º dpi. Apesar disso, não foi observada diferença estatística entre os grupos ou dias de coleta ( $P=0,4407$ ). O fibrinogênio, proteína que corresponde a 5% da fração protéica total do plasma (ECKERSAL, 2008), é uma das proteínas de fase aguda positivas, ou seja, que aumentam em resposta a determinado processo inflamatório (JONES & ALLISON, 2007). Conforme citado anteriormente, a determinação da relação proteínas plasmáticas totais: fibrinogênio (PPT:Fib) contribui favoravelmente para a interpretação desse parâmetro, descartando possível interferência do status hídrico do animal (JONES & ALLISON, 2007). Durante todo o período de monitoramento da infecção, a relação manteve-se próxima a 20:1 em ambos os grupos experimentais, inclusive para o grupo infectado no 6º dpi, que, apesar da aparente hiperfibrinogenemia, apresentou relação PPT:Fib dentro da normalidade (12:1).



**Figura 16.** Média geométrica de fibrinogênio dos *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp.



**Figura 17.** Média geométrica da relação albumina:globulinas (A:G), determinada para os *M. gouazoubira* dos grupos controle e infectados por *H. contortus*, ao longo do período experimental, mantidos no Nupecce, FCAV/Unesp.

Assim como para os demais parâmetros, não houve diferença estatística entre a relação Albumina:Globulinas (A:G) (Fig. 18) entre os grupos tampouco durante o período experimental. Ruminantes domésticos saudáveis apresentam valores constantes dessa relação (ECKERSAL, 2008), que representa um valioso indicativo de alterações nos valores de albumina e globulinas. Valores elevados da proporção A:G são indicativos de desidratação, enquanto valores baixos podem ser resultantes de hipoalbuminemia ou hiperglobulinemia (RUSSEL & ROUSSEL, 2007). Considerando-se que os valores de albumina mantiveram-se constantes ao longo de todo o experimento, assim como a relação A:G, o processo infeccioso não foi capaz de suscitar aumento de globulinas circulantes. A baixa relação A:G observada por LAVÍN et al. (1997) em espécimes de ibex naturalmente infectados mostrou-se diretamente relacionada à hipoalbuminemia.

### 5.3. Avaliação anátomo-patológica

Nos animais do grupo controle não foram observadas alterações significativas (Fig. 18), apesar da presença de erosões em quantidade discreta na mucosa abomasal de um dos animais. O exame histopatológico não revelou a presença de infiltrado inflamatório associado às lesões, tampouco quaisquer outros sinais sugestivos de processo inflamatório, com manutenção da proporção normal entre as porções das glândulas abomasais nos dois animais do grupo (Fig. 19). A coloração pelo PAS revelou poucas células marcadas, confinadas à porção mais distal da mucosa (Fig. 20). A estrutura histológica do linfonodo regional não apresentou alterações significativas, mesmo no animal com erosões da mucosa.

Macroscopicamente, todos os animais infectados demonstraram maior quantidade de muco recobrimdo a superfície do órgão quando comparados ao grupo-controle, independentemente da intensidade parasitária. Além disso, foi claramente notada a presença de parasitas, juntamente com avermelhamento discreto a moderado da mucosa. Nítido espessamento das pregas abomasais, em graus variados, pode ser observado (Fig. 18).

Ao exame histopatológico pela coloração de hematoxilina e eosina (HE), pôde-se observar em todos os animais parasitados por *H. contortus* a presença de congestão e edema discretos a moderados da mucosa abomasal, aliados a hiperplasia moderada, principalmente das regiões de fosseta e istmo das glândulas, com figuras mitóticas em quantidade discreta na região do istmo e consequente espessamento da mucosa (Fig. 19). Ainda no istmo e no colo glandulares, foi notada a presença de raras células com citoplasma eosinofílico e núcleo picnótico, sugestivo de apoptose (Fig. 21). Focos aleatórios e discretos de infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear, com presença de poucos eosinófilos, foram observados próximos à muscular da mucosa e entre as glândulas, principalmente associados à porção referente ao colo e à base (Fig. 21).

A coloração pelo ácido periódico de Schiff evidenciou uma hiperplasia discreta das células componentes das fossetas glandulares em todos os animais do grupo

infectado, pela presença de maior número de células PAS positivas nas porções mais próximas ao lúmen abomasal (Fig. 20). Já a coloração pelo Azul de Toluidina não revelou a presença de mastócitos no tecido, confirmando a suspeita de reação inflamatória pouco expressiva sugerida.

Pequenos ruminantes domésticos experimentalmente infectados por *H. contortus* exibem edema e congestão da mucosa abomasal associados à presença de petéquias, especialmente na região fúndica do órgão. Histologicamente, edema e congestão moderados são observados principalmente nas camadas próximas à lâmina própria, juntamente com infiltrado inflamatório intenso composto principalmente por linfócitos, eosinófilos e plasmócitos, além de hiperplasia da mucosa em grau variado (HUNTER & MACKENZIE, 1982; SALMAN & DUNCAN, 1984; AMARANTE et al., 1999; BALIC et al., 2000; OLIVEIRA-SEQUEIRA et al., 2000; PÉREZ et al., 2001), numa tentativa de eliminação do parasita (SALMAN & DUNCAN, 1984).

Em caprinos, a coloração pelo PAS evidenciou hiperplasia da mucosa abomasal a partir do 10º dia pós-infecção, perdurando até o 70º dia, acompanhada de infiltrado de numerosos linfócitos, plasmócitos produtores de IgG e eosinófilos (PÉREZ et al., 2003).

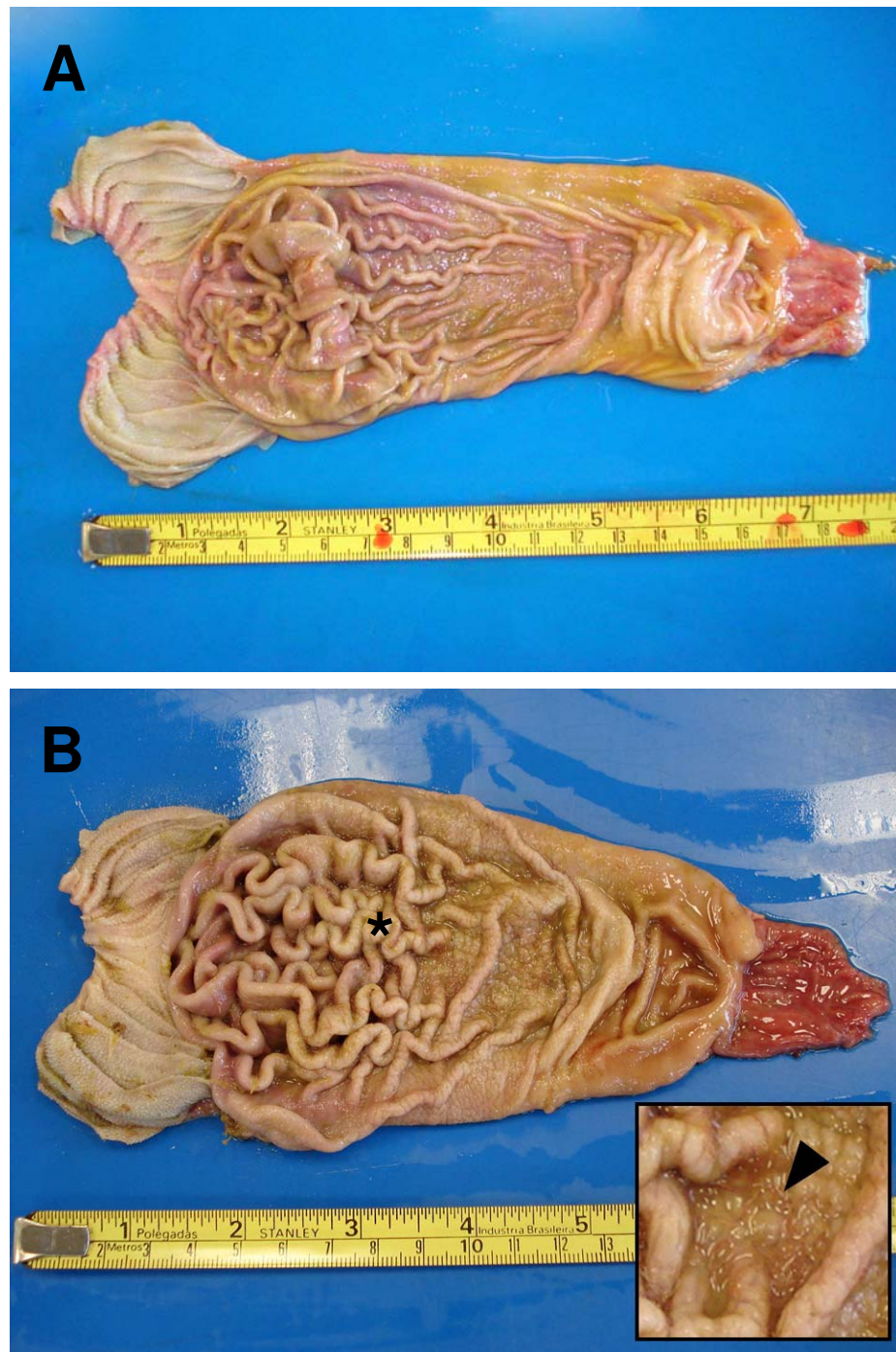
Tanto em ovinos quanto em caprinos, a presença de mastócitos e leucócitos globulares em contagens moderadas a elevadas são frequentemente relatados (AMARANTE et al., 1999; HUNTLEY et al., 1992; BALIC et al., 2000; PÉREZ et al., 2001; PÉREZ et al., 2003) e estão provavelmente relacionados ao desenvolvimento de resistência ao parasita (HUNTLEY et al., 1992).

Os animais infectados deste estudo apresentaram hiperplasia de mucosa em grau leve a moderado, conforme citado anteriormente, porém a resposta inflamatória foi muito discreta, a ponto de mastócitos ou leucócitos globulares não serem visualizados em nenhum dos cortes histológicos.

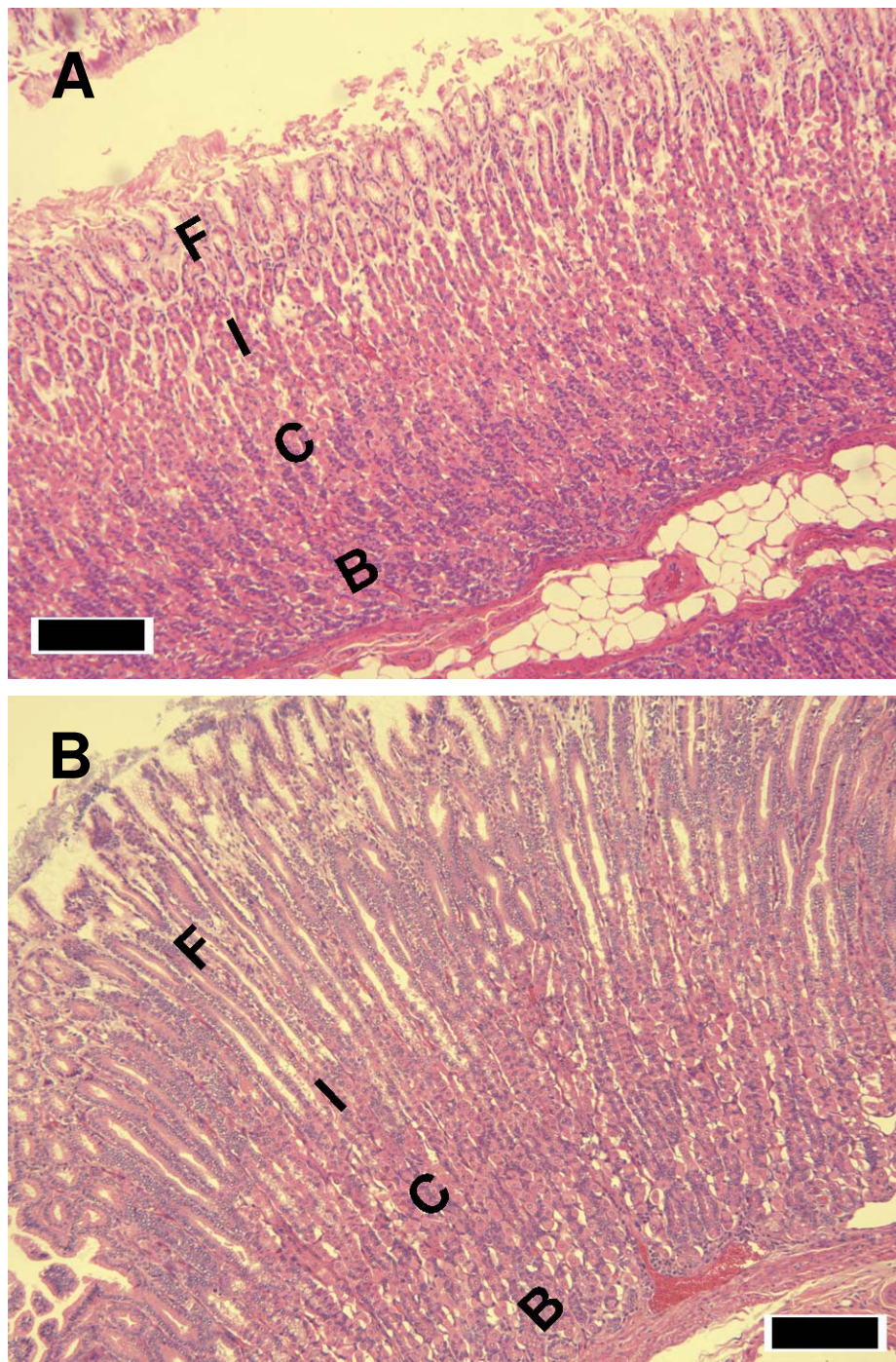
Raros nódulos hiperplásicos de proliferação da mucosa foram observados em dois animais do grupo infectado. Ao exame do linfonodo regional, foi notada a presença de infiltrado inflamatório mononuclear associado à gordura capsular, abaixo da qual também pôde ser observado material hialino condizente com exsudação de fluido rico em proteínas.

Um dos animais apresentou o linfonodo regional atípico, caracterizado pela perda do espaço subcapsular, com presença de poucos mononucleares nesta área, porém sem relação com o parasitismo. Nesse mesmo linfonodo, também foi notada a perda da arquitetura tecidual normal decorrente de fibrose entre a cápsula e a medula, fato que comprometeu a visualização adequada dos sinusóides.

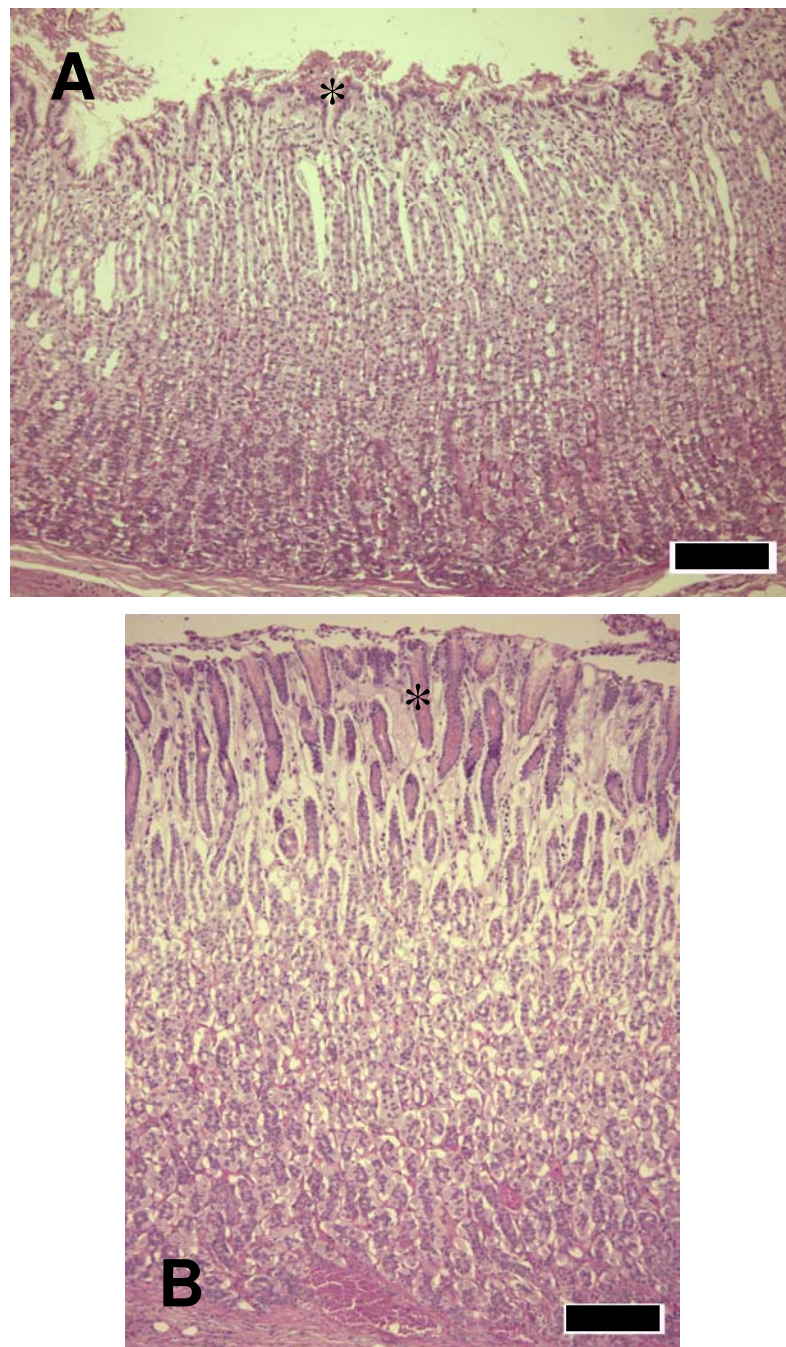
Nos demais animais, proliferação celular pôde ser observada na região do manto, enquanto a morfologia da região medular era condizente com discreta reatividade, com destaque para a presença de eosinófilos, linfócitos e plasmócitos (Fig. 22). Ainda, grande população de macrófagos e eosinófilos pôde ser observada nos sinusóides, com evidência dos cordões medulares. Em caprinos infectados por *H. contortus*, a hiperplasia folicular é bastante intensa, com elevado número de linfócitos e plasmócitos nos cordões medulares, além de grande número de eosinófilos nos sinusóides (PÉREZ et al., 2001). Com exceção do animal com linfonodo anormal, as alterações observadas são muito discretas quando comparadas a dados obtidos de animais domésticos experimentalmente infectados. É interessante notar que caprinos infectados por longos períodos de tempo (147 dias) apresentaram alterações teciduais no abomaso e linfonodo regional bastante discretas, pouco diferentes de animais livres de infecção (PÉREZ et al., 2001). Apesar de o abate dos animais neste experimento não ter sido tão tardio, a doença pode ter entrado em fase de resolução e, devido a isso, a resposta inflamatória pode não ter sido tão pronunciada quanto seria e os animais fossem avaliados mais precocemente.



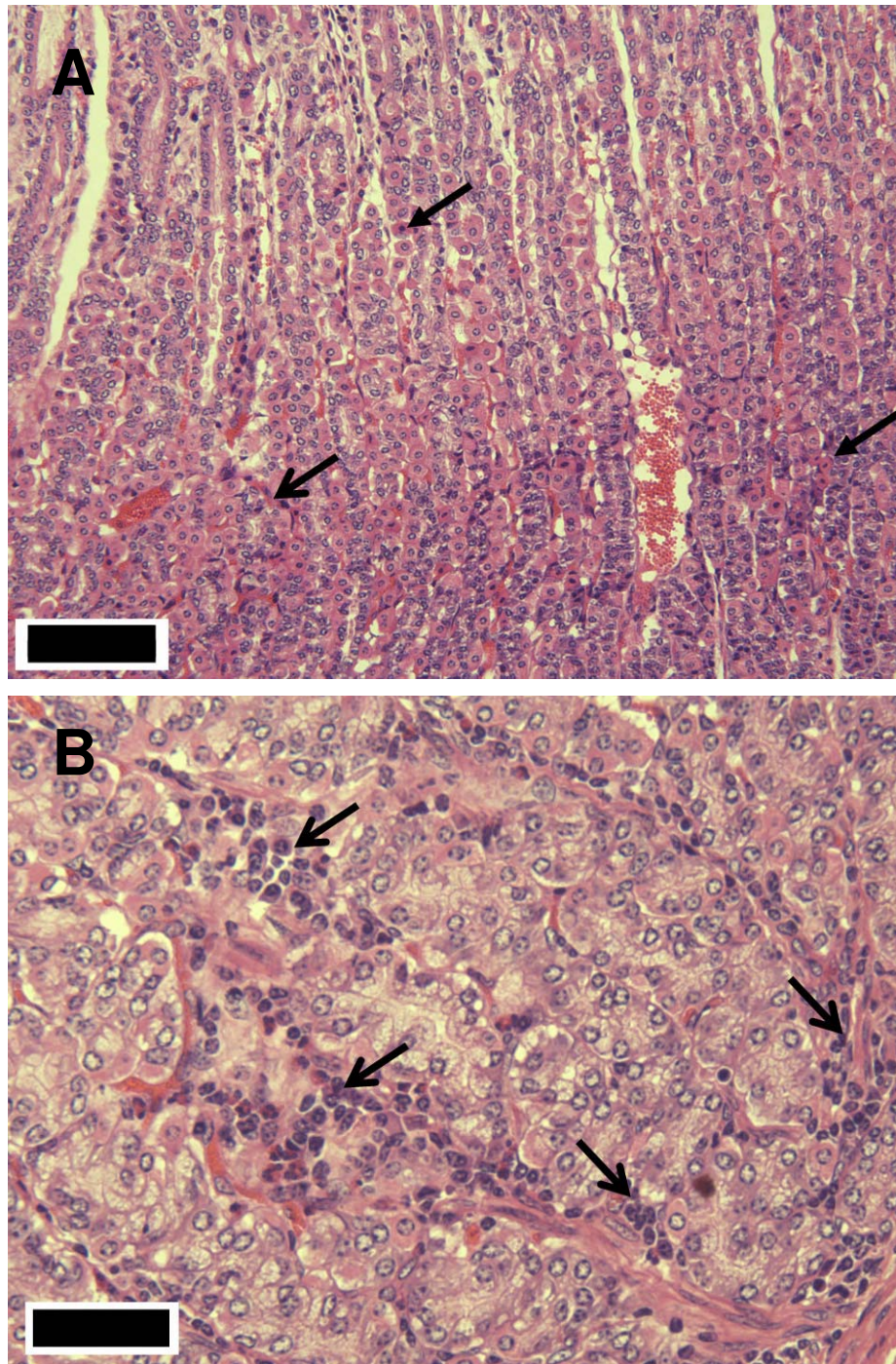
**Figura 18.** Análise macroscópica dos abomasos dos veados-catingueiros. **A.** Abomaso, animal livre de infecção; **B.** Abomaso, animal infectado por *H. contortus*. Notar o espessamento da mucosa e das pregas abomasais (\*). Detalhe: Espécimes adultos de *H. contortus* entre pregas abomasais (seta). Escalas especificadas nas figuras.



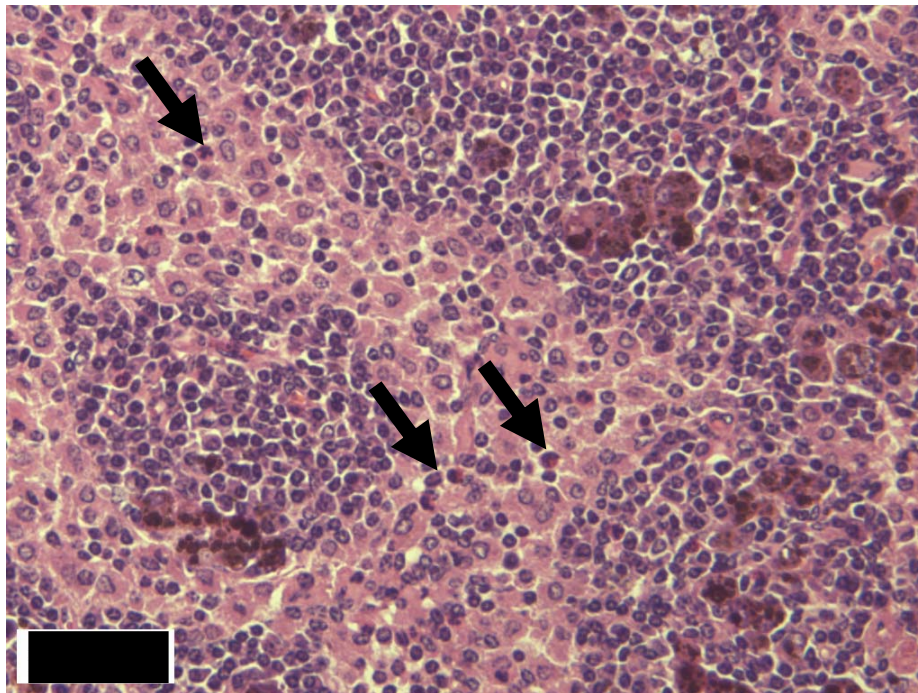
**Figura 19.** Avaliação histopatológica dos abomasos dos veados-catingueiros. **A.** Animal livre de infecção, região fúndica do abomaso (HE). Sem alterações microscópicas. **B.** Animal infectado por *H. contortus*, região fúndica do abomaso (HE). Notar a hiperplasia das regiões de fosseta e istmo glandulares, além de discreta hiperemia (\*). Barra: 200µm. Legenda: F – Fosseta; I – Istmo; C – Colo; B – Base.



**Figura 20.** Avaliação histopatológica, com coloração pelo ácido periódico de Schiff, dos abomasos dos veados-catingueiros. **A.** Animal livre de infecção, região fúndica do abomaso. Coloração pelo PAS limitada à porção mais distal da mucosa (\*). **B.** Animal infectado por *H. contortus*, região fúndica do abomaso. Notar a maior coloração pelo PAS nas células da fosseta (\*). Barra: 200µm.



**Figura 21.** Alterações teciduais observadas na mucosa abomasal de veados-catingueiros infectados por *H. contortus*. **A.** Abomaso, região fúndica (HE). Notar o edema e hiperemia discretos, além de infiltrado inflamatório (seta aberta). **B.** Abomaso, região fúndica (HE). Infiltrado inflamatório em destaque, com presença de linfócitos e eosinófilos (setas). Barras: 100  $\mu$ m (A); 50 $\mu$ m (B).



**Figura 22.** Alterações histológicas observadas em linfonodo abomasal de veado-catingueiro infectado por *H. contortus*. Notar a presença de eosinófilos e macrófagos nos sinusóides (setas). Barra: 50µm.

#### 5.4. Avaliação parasitológica e relação parasita-hospedeiro

O período pré-patente observado foi de 26 dias, semelhante ao período observado para o animal doador, que foi de 28 dias. Apenas ao 29º dpi foram observados ovos tipo Strongylida nas fezes de todos os animais do grupo infectado. A taxa de oviposição manteve-se variável ao longo de todo o período experimental, com médias de oviposição entre 125 e 3.850 opg de fezes. Apesar de alguns animais apresentarem resultados negativos no método de Gordon & Whitlock, ovos foram observados pelo método de Willis-Mollay, de maior sensibilidade, indicando que esses animais apresentaram contagens inferiores a 100 opg de fezes.

A intensidade parasitária observada para todos os animais infectados foi considerada baixa. Um dos animais infectados apresentou intensidade parasitária de 676 helmintos adultos, sendo 339 machos e 337 fêmeas. As intensidades parasitárias dos demais animais infectados foram: 62 adultos, com 39 machos e duas fêmeas, 52 adultos, sendo 34 machos e 18 fêmeas, e apenas 15 helmintos adultos, 11 machos e 4 fêmeas. Os animais do grupo-controle permaneceram livres de infecção durante todo o período experimental. Com base nesses dados, conclui-se que as taxas de recuperação em *M. gouazoubira* variaram entre 0,2% e 9,01%. A taxa de recuperação não foi determinada para o animal doador, pois, além de se tratar de apenas um animal, o período de abate foi muito superior aos 60 dias do período de infecção dos veados-catingueiros, impossibilitando qualquer comparação fidedigna.

Os valores morfométricos de espécimes da mesma linhagem de *H. contortus* obtidos de diferentes hospedeiros, juntamente com o resumo da análise estatística, estão listados nas tabelas 5 e 6.

É possível observar que, dentre os vários parâmetros avaliados, o comprimento total tanto dos machos quanto das fêmeas, o comprimento do espículo esquerdo e a distância da vulva à extremidade caudal foram significativamente maiores nos exemplares obtidos de carneiros, enquanto os valores obtidos para espécimes oriundos do cervo-do-pantanal e dos veados-catingueiros não apresentaram diferença relevante.

**Tabela 5.** Valores morfométricos (expressos como média geométrica  $\pm$  desvio padrão) e resumo da análise estatística dos espécimes fêmeas de *H. contortus* da mesma linhagem obtidos de diferentes espécies de hospedeiros.

|           | <i>O. aries</i>                  | <i>B. dichotomus</i>              | <i>M. gouazoubira</i>             | F     | P       |
|-----------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------|---------|
| Ct        | 23,90 $\pm$ 1,438 <sup>a</sup>   | 18,28 $\pm$ 1,465 <sup>b</sup>    | 15,51 $\pm$ 2,857 <sup>b</sup>    | 29,46 | <0,0001 |
| Esôfago   | 1,389 $\pm$ 0,0497 <sup>a</sup>  | 1,384 $\pm$ 0,0109 <sup>a</sup>   | 1,350 $\pm$ 0,0993 <sup>a</sup>   | 1,072 | 0,3566  |
| AN*       | 0,2413 $\pm$ 0,013 <sup>a</sup>  | 0,1972 $\pm$ 0,0179 <sup>b</sup>  | 0,1797 $\pm$ 0,0395 <sup>b</sup>  | 14,69 | <0,0001 |
| PExc*     | 0,2645 $\pm$ 0,0178 <sup>a</sup> | 0,2281 $\pm$ 0,0227 <sup>b</sup>  | 0,2063 $\pm$ 0,0393 <sup>b</sup>  | 10,88 | 0,0003  |
| Pc*       | 0,3209 $\pm$ 0,0194 <sup>a</sup> | 0,2823 $\pm$ 0,0311 <sup>b</sup>  | 0,2616 $\pm$ 0,0424 <sup>b</sup>  | 8,624 | 0,0013  |
| Largura** | 0,2028 $\pm$ 0,027 <sup>a</sup>  | 0,1935 $\pm$ 0,0357 <sup>ac</sup> | 0,1655 $\pm$ 0,0148 <sup>bc</sup> | 5,055 | 0,0137  |
| Vulva***  | 4,556 $\pm$ 0,2501 <sup>a</sup>  | 3,598 $\pm$ 0,2429 <sup>b</sup>   | 3,271 $\pm$ 0,5931 <sup>b</sup>   | 28,26 | <0,0001 |
| Ânus***   | 0,4581 $\pm$ 0,0203 <sup>a</sup> | 0,4053 $\pm$ 0,0399 <sup>b</sup>  | 0,3851 $\pm$ 0,0626 <sup>b</sup>  | 7,171 | 0,0032  |

Ct – Comprimento total; AN – Anel nervoso; PExc – Poro Excretor; PC – Papilas cervicais

\* Distância relativa à anterior; \*\* Medido à altura da junção esôfago-intestinal; \*\*\* Distância relativa à extremidade caudal

Valores seguidos pela mesma letra não apresentaram diferença estatística pelo teste de ANOVA simples

**Tabela 6.** Valores morfométricos (expressos como média geométrica  $\pm$  desvio padrão) e resumo da análise estatística dos espécimes machos de *H. contortus* da mesma linhagem obtidos de diferentes espécies de hospedeiros.

|             | <i>O. aries</i>                  | <i>B. dichotomus</i>              | <i>M. gouazoubira</i>             | F     | P       |
|-------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------|---------|
| Ct          | 16,12 $\pm$ 1,2111 <sup>a</sup>  | 13,97 $\pm$ 0,7299 <sup>b</sup>   | 13,87 $\pm$ 1,383 <sup>b</sup>    | 12,43 | 0,001   |
| Esôfago     | 1,370 $\pm$ 0,0469 <sup>a</sup>  | 1,304 $\pm$ 0,0539 <sup>ac</sup>  | 1,280 $\pm$ 0,1178 <sup>bc</sup>  | 3,379 | 0,490   |
| AN*         | 0,2623 $\pm$ 0,0185 <sup>a</sup> | 0,2235 $\pm$ 0,0193 <sup>a</sup>  | 0,2369 $\pm$ 0,0581 <sup>a</sup>  | 2,842 | 0,0758  |
| PExc*       | 0,2886 $\pm$ 0,0156 <sup>a</sup> | 0,2551 $\pm$ 0,0222 <sup>a</sup>  | 0,2655 $\pm$ 0,0663 <sup>a</sup>  | 1,716 | 0,1989  |
| Pc*         | 0,3562 $\pm$ 0,023 <sup>a</sup>  | 0,3078 $\pm$ 0,0238 <sup>bc</sup> | 0,3306 $\pm$ 0,0601 <sup>ac</sup> | 3,731 | 0,0371  |
| Largura**   | 0,1639 $\pm$ 0,0174 <sup>a</sup> | 0,1567 $\pm$ 0,0102 <sup>ac</sup> | 0,1353 $\pm$ 0,0119 <sup>bd</sup> | 12,03 | 0,0002  |
| Espículo*** | 0,4509 $\pm$ 0,0174 <sup>a</sup> | 0,4108 $\pm$ 0,0246 <sup>b</sup>  | 0,3944 $\pm$ 0,0259 <sup>b</sup>  | 16,00 | <0,0001 |
| Gubernáculo | 0,198 $\pm$ 0,0478 <sup>a</sup>  | 0,1768 $\pm$ 0,0177 <sup>a</sup>  | 0,1666 $\pm$ 0,0254 <sup>a</sup>  | 2,375 | 0,1122  |

Ct – Comprimento total; AN – Anel nervoso; PExc – Poro Excretor; PC – Papilas cervicais

\* Distância relativa à anterior; \*\* Medido à altura da junção esôfago-intestinal; \*\*\* Distância relativa à extremidade caudal

Valores seguidos pela mesma letra não apresentaram diferença estatística pelo teste de ANOVA simples

FOREYT & TRAINER (1970) obtiveram taxas de fixação entre 0,5 a 10%, pouco superiores às obtidas neste estudo, além de também relatarem baixa oviposição. Esses autores sugeriram que o inóculo empregado no experimento em questão (25.000 e 100.000 larvas) pode ter sido a causa das baixas taxas de fixação e oviposição, pois o desafio antigênico pode ter suscitado uma resposta inflamatória intensa, impedindo o estabelecimento dos helmintos. Estes autores ainda sugerem baixa adaptação do

parasita ao hospedeiro como explicação para as intensidades parasitárias obtidas pouco expressivas.

FLEMING (1988) demonstra que o tamanho do inóculo interfere mais que a carga parasitária na fecundidade e no tamanho dos helmintos adultos, relacionando os seus resultados a um possível fator de sinalização de superpopulação liberado pelas larvas durante seus estágios iniciais, inibindo o desenvolvimento adequado dos adultos. Como há relação direta entre o tamanho dos adultos e a produção de ovos (ROWE et al., 2008), essa poderia ser uma explicação plausível para esse achado.

De fato, nematódeos de vida livre como *Caenorhabditis elegans* liberam sinalizadores que, em situações de superpopulação, atingem concentrações elevadas no substrato e impedem o desenvolvimento de larvas em estágio intermediário de desenvolvimento. Esse comportamento seria benéfico à espécie, como uma forma de equilibrar o consumo dos escassos recursos disponíveis (Riddle et al. 1986, citado por FLEMING, 1988). Por outro lado, helmintos parasitas têm recursos mais abundantes que nematódeos de vida livre, além de que suas larvas não se desenvolvem no mesmo nicho. Portanto, um mecanismo de regulação de população nesses moldes não seria tão interessante para esses organismos. Além disso, o inóculo utilizado neste experimento foi intermediário ao recomendado por WOOD et al. (1995) em infecções experimentais por *Haemonchus* spp em ruminantes domésticos, que resultam em taxas de fixação em torno de 15 a 20%, bastante superiores às observadas.

Curiosamente, apesar da capacidade das espécies de *Haemonchus* estabelecer infecção em diversas espécies de hospedeiro diferentes da espécie à qual estão adaptadas (HOBBERG et al, 2005), fato que permite classificá-las como generalistas (NEE et al., 1991), espécimes de *Haemonchus longistipes* obtidas de hospedeiros-satélite apresentam parâmetros morfométricos e taxa de oviposição inferiores ao considerado normal para metapopulações oriundas dos camelos, seus hospedeiros naturais (ELBIHARI et al., 1984). É válido ressaltar que esse dado foi obtido acidentalmente por esses autores, que visavam apenas ao estabelecimento de infecção por essa espécie de nematódeo em carneiros, como forma de facilitar estudos acerca da patogênese determinada pelo mesmo.

Apesar de o presente estudo não ter realizado uma comparação da taxa de oviposição dessa linhagem nas três diferentes espécies de hospedeiros, nota-se uma clara distinção dos aspectos morfológicos, que se situaram próximos aos valores normais da espécie apenas na metapopulação obtida dos carneiros, considerados hospedeiros centrais (HOBBERG et al., 2005) desse nematódeo.

Dessa forma, o tamanho do inóculo aparentemente não é fator determinante para que os espécimes de *H. contortus* obtidos neste experimento não tenham atingido o mesmo tamanho que aqueles obtidos de infecção experimental de carneiros.

Organismos de uma mesma espécie mantidos em ambientes diferentes podem exibir fenótipos distintos, apesar de manutenção hipotética da frequência alélica original, como forma de adaptação ao meio (VIA et al., 1995). Este fenômeno é denominado plasticidade fenotípica adaptativa e já foi descrito em nematódeos sob condições de superpopulação ou resposta imunológica do hospedeiro (POULIN, 1998), trematódeos frente à resposta imunológica do hospedeiro (NEVES et al., 2004) e metapopulações de cestódeos generalistas obtidas de diferentes hospedeiros (HAUKISALMI et al., 1995).

Nos nematódeos, o mecanismo mais comum é o desenvolvimento de maturidade sexual precoce, em detrimento do tamanho corporal dos adultos (POULIN, 1998; POULIN, 1999) e consequente fecundidade, já que o segundo é diretamente relacionado ao primeiro (ROWE et al., 2008). BUSH & LOTZ (2000) sugerem que a competição intraespecífica por espaço ou recursos esteja diretamente relacionada ao menor tamanho corporal. Em contraste, as intensidades parasitárias observadas nos veados-catingueiros são bastante inferiores às observadas no carneiro doador (874 adultos, 442 machos e 432 fêmeas). Em adição a isto, as alterações sistêmicas pouco expressivas, em especial a contagem constante de linfócitos e manutenção dos níveis normais dos parâmetros do eritrograma e proteinograma, e a resposta tecidual discreta observadas nos animais deste experimento sugerem que houve pequena ou nenhuma interferência do sistema imunológico do hospedeiro frente ao desenvolvimento dos parasitas. O efeito massa, abordado por POULIN (1999) e BUSH & LOTZ (2000) tampouco aparentou interferir nos dados biométricos dos nematódeos.

Um estudo em roedores no Alaska, EUA, demonstrou que um cestódeo anoplocefalídeo generalista, *Paranoplocephala omphlodes*, exibiu valores maiores de prevalência e abundância como também estróbilo mais longo nas metapopulações obtidos do hospedeiro central, *Microtus oeconomus*, em contraste com aquelas obtidas do hospedeiro-satélite *Microtus miurus* (HAUKISALMI et al., 1995).

Os dados do presente experimento, comparados com os dados da literatura consultada, sugerem que a adaptação ao hospedeiro seja outro fator determinante para a expressão plena das características fenotípicas, em adição ao já consagrado efeito-massa e à resposta imunológica do hospedeiro. É válido reiterar que a linhagem utilizada neste experimento provém de cervos-do-pantanal naturalmente infectados e, mesmo após estabelecimento de infecção neste hospedeiro, foi capaz de atingir valores biométricos compatíveis com a normalidade da espécie, sugerindo uma provável manutenção da frequência gênica original.

## 6. CONCLUSÕES

Foram determinados valores normais para os parâmetros hematológicos e bioquímicos da espécie, permitindo a avaliação dos valores obtidos ao longo do período experimental.

O processo infeccioso, em intensidade parasitária similar à observada em animais de vida livre, não foi capaz de suscitar alterações hematológicas, bioquímicas ou anátomo-patológicas relevantes, tampouco interferir na ingestão de alimentos, sugerindo que, apesar da possibilidade de parasitismo, a infecção por *H. contortus* nos níveis deste experimento não provocam doença clínica nos animais.

Por último, à luz dos dados morfométricos e parasitológicos, sugere-se má adaptação de *H. contortus* aos veados-catingueiros, apesar da possibilidade de manutenção do parasita nestes animais.

## 7. REFERÊNCIAS

ALBON, S. D.; STIEN, A.; IRVINE, R. J.; LANGVATN, R.; ROPSTAD, E.; HALVORSEN, O. The role of parasites in the dynamics of a reindeer population. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B**, Londres. v. 269, p. 1625 – 1632, 2002.

AMARANTE, A. F. T.; CRAIG, T. M.; RAMSEY, W. S.; DAVIS, S. K.; BAZER, F. W. Nematode burdens and cellular responses in the abomasal mucosa and blood of Florida Native, Rambouillet and crossbred lambs. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam. v. 80, p. 311 – 324, 1999.

ANDERSON, R. M.; MAY, R. M. Regulation and Stability of Host-Parasite Population Interactions: I. Regulatory Processes. **The Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 47, n. 1, p. 219 – 247, 1978.

ARNEBERG, P.; FOLSTAD, I.; KARTER, A. J. Gastrointestinal nematodes depress food intake in naturally infected deer. **Parasitology**, Cambridge, v. 112, p. 213 – 219, 1996.

AVMA. American Veterinary Medical Association. **AVMA Guidelines on Euthanasia (Formerly Report of the AVMA Panel on Euthanasia)**. Disponível em: <<http://www.avma.org/resources/euthanasia.pdf>>. Acessado em: 09/2007. 2007.

BALIC, A.; BOWLES, V. M.; MEEUSEN, E. N. T. Cellular profiles in the abomasal mucosa and lymph node during primary infection with *Haemonchus contortus* in sheep. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 75, p. 109 – 120, 2000.

BARBOSA, J. **Validação do uso de n-alcenos como indicadores para estudos nutricionais em veados-catingueiros (*Mazama gouazoubira*)**. 2003, 79 f., Dissertação (Mestrado em Ecologia de Agroecossistemas) – Esalq/USP, Piracicaba, 2003.

BODMER, R. E. Frugivory in Amazonian Artiodactyla: Evidence for evolution of the ruminant stomach. **Journal of Zoology**, Londres, v. 219, p. 191 – 201, 1989.

BÖHM, M.; WHITE, P. C. L.; CHAMBERS, J.; SMITH, L.; HUTCHINGS, M. R. Wild deer as a source of infection for livestock and humans in UK. **The Veterinary Journal**, Londres, v. 174, p. 260 – 276, 2007.

BRASIL. INSTRUÇÃO NORMATIVA N° 3, DE 27 DE MAIO DE 2003. **Diário Oficial da União**. Poder executivo, Brasília, DF, 28 de maio de 2003. Seção 1, páginas 88-97.

BUSH, A.O.; LOTZ, J.M. The ecology of “crowding”, **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 86, p. 212 – 213, 2000.

CATTO, J. B.; FURLONG, J. Nematodioses em bezerros no pantanal matogrossense. III. Sub-região de Paiguás. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 11, p. 1265 – 1271, 1983.

CHAMUT, S.J.; BLACK-DÉCIMA, Y. Y. P. Sickling in hypoxic erythrocytes of brown brocket deer. **Biocell**, Mendoza, v. 26, n. 1, p. 164, 2002.

CHAPPLE, R.S.; ENGLISH, A.W.; MULLEY, R.C.; LEPHERD, E.E. Haematology and serum biochemistry of captive unsedated chital deer (*Axis axis*) in Australia. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 27, n. 3, p. 396 – 406, 1991.

CLASE, C. M.; St. PIERRE, M. W.; CHURCHILL, D. N. Conversion between bromocresol green- and bromocresol purple-measured albumin in renal disease. **Nephrology Dialysis Transplantation**, Berlim, v. 16, p. 1925 – 1929, 2001.

CLOUT, M. N. Biodiversity loss caused by invasive alien vertebrates. **European Journal of Wildlife Research (Zeitschrift für Jagdwissenschaft)**, Berlim, v.48, supl. 1, p. 51 – 58, 2002.

DEZFULI, B. S.; VOLPONI, S.; BELTRAMI, I.; POULIN, R. Intra- and interspecific density-dependent effects on growth in helminth parasites of the cormorant, *Phalacrocorax carbo sinensis*. **Parasitology**, Cambridge, v. 124, 537 – 544, 2002.

DUARTE, J. M. B. Artiodactyla – Cervidae (veado-catingueiro, veado-campeiro e cervo-do-pantanal). In: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.C. (eds.) **Tratado de Animais Selvagens – Medicina Veterinária**. 1a. ed. São Paulo: Ed. Roca. 2007. pp 641 – 664.

DUARTE, J. M. B.; GONZÁLEZ, S.; MALDONADO, J. E. The surprising evolutionary history of South American deer. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Amsterdam, v. 49, p. 17- 22, 2008.

DULY, E. B.; GRIMASON, S.; GRIMASON, P.; BARNES, G.; TRINICK, T. R. Measurement of serum albumin by capillary zone electrophoresis, bromocresol green, bromocresol purple, and immunoassay methods. **Journal of Clinical Pathology**, Londres, v. 56, p. 780-781, 2003.

DUNN, F.L. Erythrocyte sickling in the barking deer of Borneo. **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v. 45, n. 3, p. 492 – 493, 1964.

DURETTE-DESSET, M. C. Trichostrongyloid nematodes and their vertebrate hosts: Reconstruction of the phylogeny of a parasitic group. **Advances in Parasitology**, Londres, v. 24, p. 239 – 306, 1985.

DURETTE-DESSET, M. C.; BEVERIDGE, I.; SPRATT, D. M. The origins and evolutionary expansion of the Strongylida (Nematoda). **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 24, p. 1139 – 1165, 1994.

DURETTE-DESSET, M. C.; HUGOT, J. P.; DARLU, P.; CHABAUD, A. G. A cladistic analysis of the Trichostrongyloidea (Nematoda). **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 29, p. 1065 – 1089, 1999.

ECKERSAL, P. D. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias. In: Kaneko, J. J.; Harvey, J. W.; Bruss, M. L. (eds.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6a Ed. San Diego: Academic Press. 2008.

ELBIHARI, S.; KAWASMEH, Z. A.; ASHOUR, N. A.; ELNAIEM, A. H. Experimental infection of sheep by the camel stomach worm, *Haemonchus longistipes*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.15, p. 257 – 261, 1984.

EVE, J. H.; KELLOGG, F. E. Management implications of abomasal parasites in southeastern white-tailed deer. **Journal of Wildlife Management**, Bethesda, v. 41, p. 169 – 177, 1977.

FERTÉ, H.; CLÉVA, D.; DEPAQUIT, J.; GOBERT, S.; LÉGER, N. Status and origin of Haemonchinae (Nematoda: Trichostrongylidae) in deer: a survey conducted in France from 1985 to 1998. **Parasitology Research**, Berlim, v. 86, p. 582 – 587, 2000.

FLEMING, M. W. Size of inoculum dose regulates in part worm burden, fecundity, and lengths in ovine *Haemonchus contortus* infection. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 74, n. 6, p. 975 – 978, 1988.

FOREYT, W.; TRAINER, D. O. Experimental haemonchosis in white-tailed deer. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 6, p. 35 – 42, 1970.

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

FREDRICHSEN, P.; KIERULF, P. A more accurate dye-binding method for the routine determination of serum albumin. **Clinical Chemistry**, Baltimore, v. 25, p. 1180, 1979.

GENTRY, A. W. **The ruminant radiation**. In: Vrba, E. S.; Schaller, G. B. (Eds.) Antelopes, deer, and relatives: fossil record, behavioral ecology, systematics and conservation. New Haven, Yale University Press, 2000.

GEORGE, J. W. The usefulness and limitations of hand-held refractometers in veterinary laboratory medicine: an historical and technical review. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Barbara, v. 30, n. 4, p. 201 – 210, 2001.

GIBBONS, L. M. Revision of the genus *Haemonchus* Cobb, 1898 (Nematoda, Trichostrongylidae). **Systematic Parasitology**, Dordrecht, v.1, p. 3 – 24, 1979.

GIBBONS, L. M.; KHALIL, L. F. A key for the identification of genera of the nematode family Trichostrongylidae Leiper, 1912. **Journal of Helminthology**, Londres, v. 56, p. 185 – 233, 1982.

HAUKISALMI, V.; HENTTONEN, H.; BATZLI, G. Helminth parasitism in the voles *Microtus oeconomus* and *M. miurus* on the North slope of Alaska: host specificity and the effect of host sex, age, and breeding status. **Annales Zoologici Fennici**, Helsinki, v. 32, p. 193 – 201, 1995.

HARVEY, J. W. The erythrocyte: physiology, metabolism, and biochemical disorders. In: Kaneko, J. J.; Harvey, J. W.; Bruss, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. Burlington: Academic Press. 2008.

HASSANIN, A.; DOUZERY, E. J. P. Molecular and morphological phylogenies for the Ruminantia and the alternative position of the Moschidae. **Systematic Biology**, Washington, v. 52, p. 206 – 228, 2003.

HENKEL, K. A. Hematology of reindeer. In: Feldman, B. F.; Zinkl, J. G.; Jain N. C. (eds) **Schalm's veterinary hematology**. Filadélfia: Lippincott, Williams and Wilkins, 2000.

HOBERG, E. G.; LICHTENFELS, J. R. Phylogenetic analysis of the Trichostrongylidae (Nematoda), with an initial assessment of coevolution and biogeography. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 80, p. 976 – 996, 1994.

HOBERG, E. P.; ABRAMS, A.; CARRENO, R. A.; LICHTENFELS, J. R. *Ashworthius patriciapillitae* n. sp. (Trichostrongyloidea: Haemonchinae) an abomasal nematode in *Odocoileus virginianus* from Costa Rica, and a new record for species of the genus in the western hemisphere. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 88, n. 6, p. 1187 – 1199, 2002.

HOBERG, E. P.; LICHTENFELS, J. R.; GIBBONS, L. Phylogeny for species of *Haemonchus* (Nematoda: Trichostrongyloidea): Considerations of their evolutionary history and global biogeography among Camelidae and Pecora (Artiodactyla). **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 90, n. 5, p. 1085 – 1102, 2004.

HUDSON, P. J.; DOBSON, A. P.; NEWBORN, D. Do Parasites make Prey Vulnerable to Predation? Red Grouse and Parasites. **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 61, n. 3 p. 681 – 692, 1992.

HUNTER, A. R.; MACKENZIE, G. The pathogenesis of a single challenge dose of *Haemonchus contortus* in lambs under six months of age. **Journal of Helminthology**, Londres, v. 56, p. 135 – 144, 1982.

HUNTLEY, J. F.; JACKSON, F.; COOP, R. L.; McALDOWIE, C.; HOUDIJK, J. G. M.; FAMILTON, A. S.; XIEH, H. L.; STANKIEWICZ, M.; SYKES, A. R. The sequential analysis of local inflammatory cells during abomasal nematode infection in periparturient sheep. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 97, p. 163 – 176, 2004.

HUNTLEY, J. F.; NEWLANDS, G. F. J.; JACKSON, F.; MILLER, H. R. P. The influence of challenge dose, duration of immunity, or steroid treatment on mucosal mast cells and on the distribution of sheep mast cell proteinase in *Haemonchus*-infected sheep. **Parasite Immunology**, Oxford, v. 14, p. 429 – 440, 1992.

IRVINE, R. J.; STIEN, A.; DALLAS, J. F.; HALVORSEN, O.; LANGVATN, R.; ALBON, S. D. Contrasting regulation of fecundity in two abomasal nematodes of Svalbard reindeer (*Rangifer tarandus platyrhynchus*). **Parasitology**, Cambridge, v.122, p.673 – 681, 2001.

JAIN, N. C. **Essentials of Veterinary Hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger. 1993.  
JONES, M. L.; ALLISON, R. W. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Filadélfia, v. 23, n. 3, p. 377 – 402, 2007.

KANEKO, J. J. Carbohydrate metabolism and its diseases. In: Kaneko, J. J.; Harvey, J. W.; Bruss, M. L. (eds.) **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6a ed. San Diego: Academic Press. 2008. p. 124.

LAMOOT, I.; CALLEBAUT, J.; DEGEZELLE, T.; DEMEULENAERE, E.; LAQUIERE, J. VANDERBURGHE, C. HOFFMANN, M. Eliminative behaviour of free-ranging horses : do they show latrine behaviour or do they defecate where they graze? **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 86, n. 1-2, p. 105 – 121, 2004.

LAVÍN, S.; MARCO, I.; ROSSI, L.; MENEGUZ, P. G.; VIÑAS, L. Haemonchosis in Spanish ibex. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 33, n. 3, 1997.

LUX HOPPE, E. G.; TEBALDI, J. H.; NASCIMENTO, A. A. Helminthological screening of free-ranging grey brocket deer *Mazama gouazoubira* Fischer, 1817 (Cervidae: Odocoileini) from Brazilian Pantanal wetlands, with considerations on *Pygarginema verrucosa* (Spiroceridae: Ascaropsinae). **Brazilian Journal of Biology**. V. 70, n. 3, p. xx-xx, 2010 (aceito).

MANFREDI, M. T.; Di CERBO, A. R.; TRANQUILLO, V.; NASSUATO, C.; PEDROTTI, L.; PICCOLO, G. Abomasal nematodes of the red deer *Cervus elaphus* in north-eastern Italy. **Journal of Helminthology**, Londres, v.81, p. 247 – 253, 2007.

MAY, R. M.; ANDERSON, R. M. Regulation and Stability of Host-Parasite Population Interactions: II. Destabilizing Processes. **The Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 47, n. 1, p. 249 – 267, 1978.

McGHEE, M. B.; NETTLES, V. F.; ROLLOR III, E. A., PRESTWOOD, A. K.; DAVIDSON, W. R. Studies on cross-transmission and pathogenicity of *Haemonchus contortus* in white-tailed deer, domestic cattle, and sheep. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 17, p. 353 – 364, 1981.

MEEUSEN, E. N. T.; BALIC, A. Do eosinophils have a role in the killing of helminth parasites? **Parasitology Today**, Amsterdam, v. 16, n. 3, p. 95 – 101, 2000.

MERINO, M. L.; MILNE, N.; VISCAÍNO, S. F. A cranial morphometric study of deer (Mammalia: Cervidae) from Argentina using three-dimensional landmarks. **Acta Theriologica**, Varsóvia, v. 50, p. 91 – 108, 2005.

MOHANDAS, N.; KIM, Y. R.; TYCKO, D. H.; ORLIK, J.; WYATT, J.; GRONER, W. Accurate and independent measurement of volume and hemoglobin concentration of individual red cells by laser light scattering. **Blood**, Nova York, v. 68, n. 2, p. 506 – 513, 1986.

MURRAY, M. Structural changes in bovine ostertagiasis associated with increased permeability of the bowel wall to macromolecules. **Gastroenterology**, Filadélfia, v. 56, p. 763 – 772, 1969.

NASCIMENTO, A. A.; BONUTI, M. R.; MAPELI, E. B.; TEBALDI, J. H.; ARANTES, I. G.; ZETTERMANN, C. D. Infecções naturais em cervídeos (Mammalia: Cervidae) procedentes dos Estados do Mato Grosso do Sul e São Paulo, por nematódeos Trichostrongyloidea Cram, 1927. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.37, n.1, p. 153 – 158, 2000.

NEE, S.; GREGORY, R.D.; MAY, R.M. Core and Satellite species: theory and artefacts. **Oikos**, Copenhagen, v. 62, n. 1, p. 83 – 87, 1991.

NEVES, R. H.; COSTA-SILVA, M.; MARTINEZ, E. M.; BRANQUINHO, T. B.; OLIVEIRA, R. M. F.; LENZI, H. L.; GOMES, D. C.; MACHADO-SILVA, J. R. Phenotypic plasticity in adult worms of *Schistosoma mansoni* (Trematoda: Schistosomatidae) evidenced by

brightfield and confocal laser scanning microscopies. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 99, n. 2, p. 131 – 136, 2004.

NOWAK, R.M. **Walker's Mammals of the World**. Vol. II, 6a Ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 1999.1936 p.

OLIVEIRA, L. D.; DUARTE, J. M. B. Gastro-intestinal transit time in South-American deer. **Zoo Biology**, Saint Louis, v. 25, p. 47 – 57, 2006.

OLIVEIRA-SEQUEIRA, T. C. G.; AMARANTE, A. F. T.; SEQUEIRA, J. L. Parasitological characteristics and tissue response in the abomasum of sheep infected with *Haemonchus* spp. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 52, n. 5, 2000.

PEREZ, J.; GARCIA, P. M.; HERNÁNDEZ, S.; MARTÍNEZ-MORENO, A.; de las MULAS, J. M.; CAMARA, S. Pathological and immunohistochemical study of the abomasum and abomasal lymph nodes in goats experimentally infected with *Haemonchus contortus*. **Veterinary Research**, Les Ulis, v. 32, p. 463 – 473, 2001.

PEREZ, J.; GARCIA, P. M.; HERNÁNDEZ, S.; MOZOS, E.; CÁMARA, S.; MARTÍNEZ-MORENO, A. Experimental haemonchosis in goats: effects of single and multiple infections in the host response. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 111, p 333 – 342, 2003.

PINDER, L.; LEEUENBERG, F. Veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira* Fischer, 1814). In: DUARTE, J.M.B. **Biologia e Conservação de Cervídeos Sul-americanos: *Blastocerus*, *Ozotocerus* e *Mazama***. Jaboticabal: FUNEP. 1997.

POMROY, W. E.; CHARLESTON, W. A. G. Failure of young goats to acquire resistance to *Haemonchus contortus*. **New Zealand Veterinary Journal**, Wellington, v. 37, p. 23 – 26, 1989.

POULIN, R. **Evolutionary ecology of parasites: from individuals to communities**. Londres: Chapman & Hall, 1998.

POULIN, R. Body size vs. abundance among parasite species: positive relationships? **Ecography**, Copenhagen, v. 22, p. 246 – 250, 1999.

PRESTWOOD, A. K.; HAYES, F. A.; EVE, J. H.; SMITH, J. F. Abomasal helminths of white-tailed deer in the southeastern United States, Texas, and the Virgin Islands. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 166, p. 556 – 561, 1973.

PRESTWOOD, A. K.; KELLOGG, F. E. Naturally occurring haemonchosis in a white-tailed deer. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 7, p. 133 – 134, 1971.

RICHARDS, D. T.; LEWIS, J. W. Fecundity and egg output by *Toxocara canis* in the red fox, *Vulpes vulpes*. **Journal of Helminthology**, Londres, v. 75, p. 157 – 164, 2001.

ROSSI, L.; MARCO, I.; MENEGUZ, P. G. Nematodes of the digestive tract of *Capra pyrenaica*: preliminary contribution. Congreso Internacional del Género *Capra* en Europa. In: **Acta ...** Málaga, Espanha, p. 73 – 75, 1992.

ROWE, A.; McMASTER, K.; EMERY, D.; SANGSTER, N. *Haemonchus contortus* infection in sheep: Parasite fecundity correlates with worm size and host lymphocyte counts. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 153, p. 285 – 293, 2008.

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

SALMAN, S. K.; DUNCAN, J. L. The abomasal histology of worm-free sheep given primary and Challenger infections of *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 16, p. 43 – 54, 1984.

SANTIAGO, M.A.M. **Identificação de larvas de nematódeos parasitas de ruminantes**. Publicação avulsa. Santa Maria: UFRGS. 1968.

SCHALM, O.W., SMITH, R.; KANEKO, J.J. Plasma protein: fibrinogen ratios in dogs, cattle and horses. Part I. **California Veterinarian**, San Diego, v. 29, p. 9 – 11, 1970.

SEAL, U. S.; ERICKSON, A. W. Hematology, blood chemistry and protein polymorphisms in the white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, Nova Iorque, v. 30, p. 695 – 713, 1969.

SILVA, M. I. S.; NASCIMENTO, A. A.; BONUTI, M. R.; MAPELI, E. B. ARANTES, I. G. Ascaropsinae (Alicata & McIntosh, 1933) parasites of deer from the lowlands region of the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 8, n. 2, p. 133 -136, 1999.

SIMPSON, H. V. Pathophysiology of abomasal parasitism: is the host or parasite responsible? **The Veterinary Journal**, Londres, v. 160, p. 177 – 191, 2000.

SINNIAH, B.; SUBRAMANIAM, K. Factors influencing the egg production of *Ascaris lumbricoides*: relationship to weight, length and diameter of worms. **Journal of Helminthology**, London, v. 65, p. 141 – 147, 1991.

SZABÓ, M. P. J.; CAMARGO, C.; SANTOS, L. C.; CASTRO, M. B. **Hematology**. In: Duarte, J. M. B.; González, S. (eds.) Neotropical Cervidology. IUCN/Funep, (no prelo).

SZABÓ, M. P. J.; MATUSHIMA, E. R.; CASTRO, M. B.; SANTANA, D. A.; de PAULA, C. D.; DUARTE, J. M. B. Hematology of free-living marsh deer (*Blastocerus dichotomus*) from Southeast Brazil. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 36, n. 3, p. 463 – 469, 2005.

THOMAS, L. A.; BROWN, S. A. Relationship between colloid osmotic pressure and plasma protein concentration in cattle, horses, dogs, and cats. **American Journal of Veterinary Research**, Chigago, v. 53, p. 2241 – 2244, 1992.

THORN, C. E. **Normal hematology of the deer**. In: Feldman, B. F.; Zinkl, J. G.; Jain, N. C. (eds.) **Schalm's veterinary hematology**, 5<sup>a</sup> ed. Filadélfia: Lippincott Williams and Wilkins, 2000.

UENO, H.; GONÇALVES, V. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. Tóquio : Japan International Cooperation Agency, 1998. 143p.

VIA, S.; GOMULKLEWICZ, R.; de JONG, G.; SCHEINER, S. M.; SCHLICHTING, C. D.; van TIENDEREN, P. H. Adaptative phenotypic plasticity: consensus and controversy. **Trends in Ecology and Evolution**, Amsterdam, v. 10, n. 5, p. 212 – 217, 1995.

WEMMER, C.; MONTALI, R. Latrine use and the subcaudal gland of the brown-antlered deer (*Cervus eldi thamin*). **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v. 69, n. 4, p. 815 – 818, 1988.

WINTROBE, M. M. The size and hemoglobin content of the erythrocyte, methods of determination and clinical application. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, Saint Louis, v.17, p. 899 – 911, 1932.

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

ZAFFARONI, E.; MANFREDI, M. T.; CITTERIO, C.; SALA, M.; PICCOLO, G.; LANFRANCHI, P. Host specificity of abomasal nematodes in free ranging alpine ruminants. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 90, p. 221 – 230, 2000.