

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

RESPOSTA IMUNOLÓGICA E FISIOPATOLOGIA DAS
INFECÇÕES ARTIFICIAIS POR *Trichostrongylus colubriformis*
EM CORDEIROS SANTA INÊS

DANIEL FONTANA FERREIRA CARDIA

Botucatu – SP
Fevereiro/2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

RESPOSTA IMUNOLÓGICA E FISIOPATOLOGIA DAS
INFECÇÕES ARTIFICIAIS POR *Trichostrongylus colubriformis*
EM CORDEIROS SANTA INÊS

DANIEL FONTANA FERREIRA CARDIA

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

Orientador: Prof. Adj. Alessandro
Francisco Talamini do Amarante

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE

Cardia, Daniel Fontana Ferreira.

Resposta imunológica e fisiopatologia das infecções artificiais por
Trichostrongylus colubrifomis em cordeiros Santa Inês / Daniel Fontana
Ferreira Cardia. – Botucatu : [s.n.], 2009.

Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia,
Universidade Estadual Paulista, 2009.

Orientador: Prof. Dr. Alessandro Francisco Talamini do Amarante
Assunto CAPES: 50500007

1. Medicina veterinária. 2. Cordeiro. 3. Helminto.

CDD 636.089696

Palavras chave: ovinos, imunidade, Nematoda, ganho de peso, resistência
genética

Nome do Autor: Daniel Fontana Ferreira Cardia

Título: RESPOSTA IMUNOLÓGICA E FISIOPATOLOGIA DAS INFECÇÕES ARTIFICIAIS POR *Trichostrongylus colubriformis* EM CORDEIROS SANTA INÊS

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Adj. Alessandro Francisco Talamini do Amarante
Presidente e Orientador
Departamento de Parasitologia
Instituto de Biociências – UNESP – Botucatu

Prof^a Dr^a Maria Cecília Rui Luvizotto
Membro
Departamento: Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal
Medicina Veterinária – UNESP – Araçatuba

Prof. Dr. Rogério Martins Amorim
Membro
Departamento: Clínica Veterinária
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Botucatu

Data da Defesa: 17 de fevereiro de 2009.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pelo conhecimento humano, pelo qual não seria possível a realização deste estudo, esta dádiva que não só nos permiti à compreensão do que realmente somos, mas também estudarmos os diversos seres vivos do nosso planeta.

A todos os animais que concederam suas vidas neste estudo, os quais guardarei minha eterna gratidão e respeito.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pela concessão de bolsa de mestrado e auxílio pesquisa, os quais foram imprescindíveis para a realização deste estudo.

Ao Prof. Dr. Alessandro Francisco Talamini do Amarante, não apenas pela oportunidade em tê-lo como meu orientador, mas pelos ensinamentos, apoio, conselhos e paciência a mim dedicados.

A minha família, especialmente meu pai Antonio Joaquim Ferreira Cardia (in memorian) e meu irmão Antonio Cláudio Fontana Ferreira Cardia (in memorian), que mesmo distantes deste plano, continuam iluminando os caminhos de minha vida.

A minha namorada Lucilene Granuzzio Camossi e sua família, por todo amor, atenção, incentivo, dedicação e compreensão a mim destinados tanto nos momentos mais agradáveis, como nos mais difíceis desta jornada.

Ao jovem José Wedson da Silva pelo auxílio diário nas atividades práticas deste estudo, por meio de sua simplicidade, competência e companheirismo, mostrou-se um grande amigo, sempre pronto em me ajudar, até mesmo em suas horas de folga.

A todos do Departamento de Parasitologia, que me auxiliaram durante várias etapas deste trabalho, não só profissionalmente, mas por sua amizade em nosso convívio diário como: Raquel, Patrizia, Cristina, Fabiana, Bruna, Giane, Aruaque, Cesar, Maurícia, Nelson, Samir, Gabriel, Adriano, Larissa, Valdir, Roberto (Bicho), Márcia, Nilza, Rosalva, Salete, Prof^ª Mônica, Prof^ª Lúcia Helena, Prof. Reinaldo, Prof. Newton, Prof^ª Semiramis, Prof^ª Tereza Cristina, dentre os inúmeros bons colegas que conheci ao longo do meu mestrado neste departamento.

Aos funcionários da Pós-Graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, José Roberto, Maria e Denise, sempre muito dedicados em ajudar todos os pós-graduandos.

Minha gratidão especial a Prof^ª Dr^ª Maria Cecília Rui Luvizotto, que desde o início de minha graduação me fez despertar o interesse pela Parasitologia Veterinária, área pela qual tenho muito prazer em atuar, mesmo longe nunca deixou de me ajudar, até mesmo numa tarde de sábado, me auxiliando na interpretação das microscopias e histopatológicos deste estudo.

Aos professores do curso de Medicina Veterinária da UNESP de Araçatuba Katia D. S. Bresciani e Roberto Carvalhal que sempre me incentivaram desde o começo de minha jornada profissional, pessoas das quais eu sei que sempre poderei contar.

A todos os profissionais do Hospital Veterinário da FMVZ, especialmente os residentes Hugo, Herick, Carmo, Ana Lúcia e Mayra e aos professores Sony Dimas Bicudo e Carlos Alberto Hussni pela grande ajuda na manutenção da saúde e sanidade de todos os animais envolvidos neste trabalho.

A Prof^ª Ana Angélica Fernandes e Prof. João Pessoa sempre muito atenciosos em tirar algumas dúvidas que surgiam neste trabalho. Aos Professores Raimundo Souza Lopes e Rogério Martins Amorim por aceitarem prontamente serem membros de minha banca de qualificação e defesa, respectivamente.

Aos técnicos da UNESP - Campus de Botucatu: Renato (Laboratório de Bromatologia) e Nivaldi (Microscopia Eletrônica) pelo auxílio em algumas análises complementares deste experimento.

E finalmente a todos que de certa forma colaboraram na execução deste trabalho.

LISTA DE TABELAS

Página

Capítulo 2

Tabela 1. Valores médios ($\pm$ desvio padrão) da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de <i>Trichostrongylus colubriformis</i> e alimentado <i>ad libitum</i> , ao longo de 13 semanas.....	53
Tabela 2. Carga parasitária dos cordeiros da raça Santa Inês, infectados três vezes por semana com 2500 larvas de <i>Trichostrongylus colubriformis</i> e alimentado <i>ad libitum</i> , ao longo de 13 semanas (Total de 97500 L3 infectantes).....	54
Tabela 3. Valores médios ($\pm$ desvio padrão) do volume globular (VG) dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de <i>Trichostrongylus colubriformis</i> e alimentado <i>ad libitum</i> (Infectado), grupo não infectado e alimentado <i>ad libitum</i> (Controle) e grupo <i>Pair-Fed</i>	55
Tabela 4. Valores médios ($\pm$ desvio padrão) de proteína sérica total (g/dL) dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de <i>Trichostrongylus colubriformis</i> e alimentado <i>ad libitum</i> (Infectado), grupo não infectado e alimentado <i>ad libitum</i> (Controle) e grupo <i>Pair-Fed</i>	56
Tabela 5. Valores médios ($\pm$ desvio padrão) das concentrações séricas de albumina (g/dL) dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de <i>Trichostrongylus colubriformis</i> e alimentado <i>ad libitum</i> (Infectado), grupo não infectado e alimentado <i>ad libitum</i> (Controle) e grupo <i>Pair-Fed</i>	57

Tabela 6. Valores médios ($\pm$ desvio padrão) da relação albumina/globulinas dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis* e alimentado *ad libitum* (Infectado), grupo não infectado e alimentado *ad libitum* (Controle) e grupo *Pair-Fed*.....58

Tabela 7. Médias de peso vivo (Kg) ($\pm$ desvio padrão) dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis* e alimentado *ad libitum* (Infectado), grupo não infectado e alimentado *ad libitum* (Controle) e grupo *Pair-Fed*.....59

Tabela 8. Consumo médio diário de feno (g) ($\pm$ desvio padrão) dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis* e alimentado *ad libitum* (Infectado), grupo não infectado e alimentado *ad libitum* (Controle) e grupo *Pair-Fed*.....60

Tabela 9. Valores médios de eosinófilos sangüíneos (células/mL) ($\pm$ desvio padrão) dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis* e alimentado *ad libitum* (Infectado) e grupo não infectado e alimentado *ad libitum* (Controle)....61

Tabela 10. Valores médios do número de eosinófilos, mastócitos e leucócitos globulares ($\pm$ desvio padrão) por mm² da mucosa do duodeno e jejuno dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis* e alimentado *ad libitum* (Infectado) e grupo não infectado e alimentado *ad libitum* (Controle).....62

LISTA DE FIGURAS

Página

Capítulo 1

Figura 1. Extremidade anterior de *Trichostrongylus colubriformis*, seta indica o poro excretor (A); Espículos em forma de “arpão” de macho de *T. colubriformis* (B); Região vulvar de fêmea de *T. colubriformis*, setas indicam ductos ovejetores e vulva (C); Ovo de *T. colubriformis* (D); Larva infectante de terceiro estágio de *T. colubriformis* (E). Corte histológico corado com Hematoxilina-eosina (H&E) do intestino delgado de ovino, setas destacam exemplares de *T. colubriformis*, intimamente associados à mucosa intestinal (F).....14

Capítulo 2

Figura 1. Valores médios da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis* e alimentado *ad libitum*. Barras: desvio padrão.....63

Figura 2. Amostra de cíbalos fecais dos animais do Grupo Controle com aspecto normal (A); amostra de cíbalos fecais dos animais do Grupo Infectado com aspecto de “cachos de uva” (B); fezes amolecidas envoltas por muco denso abundante em um dos animais do Grupo Infectado (C).....64

Figura 3. Carga parasitária dos cordeiros da raça Santa Inês, infectados três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis*, ao longo de 13 semanas (Total de 97500 L3).....65

- Figura 4.** Valores médios do volume globular (VG) (A), da concentração sérica de proteínas totais (B), albumina (C) e relação albumina/globulinas (D) dos cordeiros da raça Santa Inês do Grupo Infectado, Grupo Controle e Grupo *Pair-Fed*. Barras: desvio padrão.....66
- Figura 5.** Valores médios de eosinófilos sangüíneos dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis* e alimentado *ad libitum* (Infectado) e grupo não infectado e alimentado *ad libitum* (Controle). Barras: desvio padrão. Símbolos * e **: diferença significativa com $P<0,05$ e $P<0,01$, respectivamente.....67
- Figura 6.** Valores médios do número de eosinófilos, mastócitos e leucócitos globulares (L.G.) por mm^2 da mucosa do duodeno e jejuno dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis* e alimentado *ad libitum* (Infectado) e do grupo não infectado e alimentado *ad libitum* (Controle). Barras: desvio padrão. Símbolos * e **: diferença significativa com $P<0,05$ e $P<0,01$ respectivamente.....68
- Figura 7.** Níveis séricos de IgG anti-L3, IgG anti-adulto, IgA anti L3 e IgA anti-adulto de *Trichostrongylus colubriformis* de cordeiros Santa Inês do Grupo Infectado e do Grupo Controle. Barras: desvio padrão. Símbolos * e **: diferença significativa com $P<0,05$ e $P<0,01$69

Figura 8. Níveis de IgA anti-L3 e IgA anti-adulto presentes no muco de cordeiros Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis* (Infectado) e do grupo controle. Barras: desvio padrão. Símbolos * e **: diferença significativa com $P < 0,05$ e $P < 0,01$ respectivamente.....70

Figura 9. Vilosidades do epitélio duodenal de cordeiro do Grupo Controle, mostrando padrão de normalidade (A); Atrofia generalizada de vilosidades duodenais em cordeiro do Grupo Infectado (B); Exemplar macho de *T. colubriformis* inserido no epitélio lesionado de mucosa duodenal em cordeiro do Grupo Infectado (C); Extremidade anterior de *T. colubriformis* emergindo de túnel na mucosa duodenal em área com atrofia de vilosidades intestinais e erosão de epitélio (D); Criptas intestinais de cordeiro do Grupo Controle, mostrando padrão de normalidade (E); Hipertrofia e hiperplasia das criptas intestinais em animal do Grupo Infectado, com aumento do número de células caliciformes e sobreposição de células epiteliais (F).....71

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1	
INTRODUÇÃO	1
REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Biologia da espécie <i>Trichostrongylus colubriformis</i>	3
2.2. Fisiopatogenia das infecções por <i>T. colubriformis</i>	5
2.3. Resposta imunológica dos ovinos às infecções por nematódeos gastrintestinais	6
2.4. Resposta imunológica dos ovinos às infecções por <i>T.colubriformis</i>	10
2.5. Imunopatologia das infecções por <i>T. colubriformis</i>	12
CAPÍTULO 2 – Trabalho Científico	
Resumo	15
Abstract	17
Introdução.....	19
Materias e Métodos	21
Resultados.....	31
Discussão.....	39
Referências Bibliográficas	47
CAPÍTULO 3	
CONCLUSÕES.....	72
BIBLIOGRAFIA	73

CARDIA, D. F. F. **RESPOSTA IMUNOLÓGICA E FISIOPATOLOGIA DAS INFECÇÕES ARTIFICIAIS POR *Trichostrongylus colubriformis* EM CORDEIROS SANTA INÊS**. Botucatu, 2009. 83p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

Com o objetivo de se investigar a resposta imunológica e fisiopatologia das infecções por *Trichostrongylus colubriformis* em cordeiros Santa Inês, trinta ovinos foram agrupados em 10 classes, de acordo com seu peso vivo, sendo cada uma destas constituída de três animais. Por sorteio, um animal de cada classe constituiu o grupo infectado artificialmente com 2500 larvas de *T. colubriformis*, três vezes por semana, ao longo de 13 semanas e alimentado *ad libitum*, outro animal constituiu o grupo não infectado, alimentado com a mesma quantidade consumida pelo animal infectado, de mesma classe, no dia anterior, e o último animal constituiu o grupo não infectado e alimentado *ad libitum*. Diariamente as sobras de alimento eram pesadas, para que se estimasse o consumo alimentar individual de cada cordeiro. Semanalmente os animais eram pesados e amostras de sangue e fezes eram colhidas para a realização de exames hematológicos, imunológicos e coproparasitológicos. Ao final deste estudo, os cordeiros foram eutanaziados para a determinação da carga parasitária e colheita de amostras de tecido e muco intestinal para realização de análises histopatológicas e imunológicas. Os resultados demonstraram que a resposta imunológica impediu parcialmente o estabelecimento das larvas infectantes nos cordeiros infectados, porém houve redução do desempenho produtivo nos animais, independentemente da carga parasitária. O grupo infectado apresentou a pior conversão alimentar ($88,81 \pm 21,19$ g a cada 1000g de alimento consumido), sendo esta significativamente menor ($P < 0,01$) aos outros dois grupos experimentais. Os efeitos deletérios nos cordeiros foram decorrentes tanto das alterações patológicas causadas pelos vermes adultos na mucosa intestinal, como das alterações imunopatológicas produzidas pelo contato com as larvas infectantes. A alta demanda de nutrientes destinados ao desenvolvimento e manutenção da

reposta imunológica e reparo dos tecidos danificados durante as infecções também contribuíram no baixo desempenho produtivo apresentado animais infectados.

Palavras-chave: ovinos; imunidade; Nematoda; ganho de peso; resistência genética.

CARDIA, D. F. F. **IMMUNE RESPONSE AND PHYSIOPATHOLOGY OF ARTIFICIAL INFECTIONS WITH *Trichostrongylus colubriformis* IN SANTA INÊS LAMBS.** Botucatu, 2009. 83p. Dissertation (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

To investigate the immune response and physiopathology of *Trichostrongylus colubriformis* infections in Santa Inês lambs, thirty sheep were grouped into 10 classes of three animals each according to their liveweight. From each class, one animal was randomly selected to constitute the group artificially infected with 2500 *T. colubriformis* larvae three times every week for 13 weeks and fed *ad libitum*; another animal included the non-infected group fed with the same quantity consumed by the infected animal of the same class on the previous day; and one third animal constituted the non-infected group fed *ad libitum*. Leftovers were daily weighed to assess food consumption for each lamb. Every week, the animals were weighed and blood and fecal samples were collected for hematological, immunological and coproparasitological tests. At the end of this study, lambs were euthanized to detect worm burden and collect intestinal mucus and tissue samples for histopathological and immunological analyses. The immune response partially prevented the establishment of infective larvae in infected lambs. However, there was a reduction in the productive performance of these animals independently of their worm burden. The Infected Group had the worst feed conversion (88.81 ± 21.19 g in body weight for each 1000 g food consumed), this it was significantly lower ($P < 0.01$) than that of the other two experimental groups. Deleterious effect in the lambs were due to pathological changes caused by adult nematodes in the intestinal mucosa and to immunopathological changes resultant of the contact with infective larvae. The high nutrient demand for the development and maintenance of the immune response and the repair of damaged tissues during infections also contributes in the low performance presented infected animals.

Keywords: sheep; immunity; Nematoda; weight gain; genetic resistance.

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO:

A ovinocultura brasileira apresenta nos últimos anos grande expansão em diversas regiões do país, traduzida pelo aumento do consumo da carne ovina (Simplício e Simplício, 2006), crescente procura por leite e derivados (Brito, 2006), que pelas suas excelentes propriedades nutricionais, fazem da criação de ovinos uma das atividades rurais com maior potencial econômico da pecuária nacional, além de requerer pequenas extensões de terra, proporciona rápida recuperação do capital investido (Dornelles, 2002).

As infecções causadas por nematódeos gastrintestinais são um dos mais importantes problemas sanitários encontrados nas criações de ovinos no Brasil, causando grandes prejuízos econômicos à pecuária nacional, tais como: diminuição na produção de lã, leite e carne; mortalidade dos animais acometidos; além de gastos com mão-de-obra e anti-helmínticos (Amarante, 2005).

Estes parasitas estão presentes em praticamente todos os ovinos criados a campo, sendo encontrados até mesmo em cordeiros lactentes (Rocha et al., 2005). Entretanto, os principais problemas gerados por estas infecções são mais graves nas categorias susceptíveis dos rebanhos, como os cordeiros em crescimento (Colditz et al., 1996) e ovelhas no período peri-parto (Amarante et al., 1992a; Rocha et al., 2004), pois os mecanismos imunológicos responsáveis pelo controle destes patógenos encontram-se ainda em desenvolvimento ou suprimidos nestes animais, respectivamente.

A alta incidência e patogenicidade das espécies *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus colubriformis* fazem destes nematódeos os mais importantes endoparasitas da espécie ovina no Brasil, porém em segundo plano, mas com considerável importância, outros nematódeos como *Oesophagostomum columbianum*, *Cooperia curticei* e *Strongyloides papillosus* também contribuem para o agravamento dessas helmintoses em pequenos ruminantes (Amarante et al., 2004). Na região sul, de maneira isolada, é comum o parasitismo por outros importantes nematódeos como *Ostertagia circumcincta* e *Nematodirus spathiger* (Santiago et al., 1975). É necessário lembrar que, na maioria das vezes, as infecções não ocorrem apenas por uma espécie de nematódeo,

desta forma há um somatório dos efeitos patogênicos de cada espécie principalmente nos animais altamente parasitados (Amarante, 2005).

A situação da verminose ovina agravou-se em decorrência de diversos fatores que romperam o equilíbrio existente entre parasita-hospedeiro como: a utilização de pastagens com superlotação de animais, aumentando conseqüentemente a contaminação ambiental por estágios larvais dos nematódeos; a introdução nos plantéis de raças susceptíveis oriundas de países temperados, que devido a da alta produtividade substituem genótipos adaptados às condições tropicais; e o uso de dietas de baixa qualidade nas criações de ovinos, que muitas vezes não suprem as necessidades básicas dos animais (Amarante, 2001).

Além dos fatores apresentados acima, o uso indiscriminado de anti-helmínticos na ovinocultura, como meio exclusivo de controle das helmintoses gastrintestinais, em sua maioria sem orientação de médicos veterinários, promoveu a seleção de populações de nematódeos resistentes, diminuindo assim a eficácia das principais drogas de amplo espectro (Waller, 1997). Um exemplo disto foi constatado por Amarante et al. (1992b) onde se observou resistência parasitária a três importantes grupos de anti-helmínticos na maioria das propriedades pertencentes ao maior pólo de criação comercial de ovinos do estado de São Paulo.

Entre as medidas de controle e profilaxia das helmintoses em pequenos ruminantes, independentes do uso de substâncias químicas, destacam-se: o uso de pastejo rotacionado e integrado entre diferentes espécies animais (Fernandes et al., 2004; Rocha et al., 2008); a utilização de dietas com altos teores protéicos, visando melhoria do desenvolvimento e/ou manutenção da resposta imunológica, principalmente em animais potencialmente resistentes às infecções helmínticas (Bricarello et al., 2005); o uso de plantas na dieta dos animais que contenham altas quantidades de taninos (Coop e Kyriazakis, 2001); e a utilização de fungos nematófagos para o controle biológico dos nematódeos (Araújo et al., 2007).

Alguns estudos apontam ainda a seleção e criação de raças ovinas resistentes e/ou tolerantes a estas enfermidades como uma das mais importantes e promissoras medidas alternativas de controle das helmintoses (Amarante et al., 1992a; Amarante et al., 1999 ab; Bricarello et al., 2004;

Amarante et al., 2004; Rocha et al., 2004; Bricarello et al., 2005; Rocha et al., 2005). A eficiência no controle das verminoses poderá ser aumentada a partir da identificação das raças resistentes e/ou tolerantes, bem como a compreensão dos mecanismos genéticos e imunológicos que determinam estas características nos animais, desta forma, reduzindo a dependência do uso de anti-helmínticos como única forma de controle destas enfermidades.

Portanto, estudos mais aprofundados sobre a resposta imune dos ovinos aos nematódeos são necessários, principalmente os que envolvam raças nacionais, como a raça Santa Inês, que em diversos estudos se mostrou mais resistente as infecções por diversas espécies destes parasitas (Moraes et al., 2000; Bueno et al., 2002; Amarante et al., 2004; Rocha et al., 2004; Bricarello et al., 2005; Rocha et al., 2005).

2. Revisão de Literatura

2.1. Biologia da espécie *T. colubriformis*

O gênero *Trichostrongylus* Loss, 1905 (gr. trichós cabelo, pêlo; strongylus, cilíndrico) possui mais de 42 espécies oficialmente catalogadas, sendo a grande maioria destas, parasitas do intestino delgado de algumas aves, diversos mamíferos, incluindo a espécie humana (Audebert et al., 2002).

Acredita-se que este gênero tenha surgido durante o período Paleoceno, cerca de 65 milhões de anos atrás, em aves aquáticas, adaptando-se aos mamíferos lagomorfos durante o período Eoceno, cerca de 55 milhões de anos atrás (Durette-Desset et al., 1999). Existem evidências, através de estudos morfológicos (Durette-Desset, 1985) e de cinética de desenvolvimento do gênero (Audebert et al., 2003), que ao final do período Eoceno, cerca de 33 milhões de anos atrás, as espécies adaptadas aos lagomorfos tenham se tornado cosmopolitas e evoluído para as espécies parasitas de ruminantes, atualmente as mais abundantes no mundo (Audebert et al., 2002). Dentre as espécies encontradas nos ruminantes, *T. colubriformis* é a espécie mais aparentada com os membros do mesmo gênero parasitas de lagomorfos (Audebert et al., 2003).

Os nematódeos adultos da espécie *T. colubriformis* apresentam pequeno porte, corpos delicados, extremamente delgados com aspecto capilariforme, dificilmente vistos a olho nu durante necropsias. Possuem pequenas estriações transversais em sua cutícula e boca diminuta com três lábios indefinidos (Vicente et al., 1997). A extremidade anterior destes nematódeos é levemente afilada em relação ao corpo, com uma nítida depressão, vista lateralmente, na qual se localiza o poro excretor (Figura 1A), característica marcante presente não só nesta espécie, mas em todos os nematódeos deste gênero (Durtte-Desset, 1983).

Os machos podem chegar a 4,78 mm e as fêmeas até 5,75 mm de comprimento (Amarante et al., 2007). Os parasitas machos possuem bolsa copuladora bem desenvolvida com gubernáculo navicular e espículos curtos, grossos, de coloração acastanhada, em forma de “arpão” (Figura 1B). Já as fêmeas apresentam ovários com ductos ovejetores bem desenvolvidos e vulva na metade posterior do corpo, com ausência de apêndices vulvares (Figura 1C), além de uma cauda curta e afilada, podendo eliminar após a cópula, mais ou menos de 300 a 600 ovos por dia nas fezes (Dobson et al., 1990; Amarante et al., 2007). Os ovos (Figura 1D) destes nematódeos são típicos da Ordem Strongylida, com formato elíptico, casca fina, contendo em seu interior embrião no estágio de mórula.

O ciclo evolutivo destes parasitas é direto e monoxeno, inicia-se com a eclosão dos ovos nas fezes, passando por dois estágios larvais de vida livre no ambiente, que se alimentam de microorganismos e matéria orgânica presentes no bolo fecal, até a formação das larvas infectantes de terceiro estágio (L3), estas larvas são robustas, apresentam dupla cutícula, extremidade anterior achatada, esôfago filarióide e cauda da bainha curta (Figura 1E).

Ao final de sete dias aproximadamente, as L3 infectantes migram para a vegetação para serem ingeridas pelos ovinos durante o pastejo. Uma vez ingeridas, estas larvas perdem sua dupla cutícula no abomaso, retomam seu desenvolvimento ao chegarem à mucosa do intestino, onde dão origem as formas adultas (machos e fêmeas férteis) do parasito (Oliveira-Sequeira & Amarante, 2001). O período pré-patente destas infecções pode durar em média 19 dias (Santiago et al., 1981). No ambiente, as larvas L3 infectantes podem

sobreviver por longos períodos no ambiente, mesmo sob condições adversas de frio ou dessecação em estado de anidrobiose (Lettini e Sukhdeo, 2006).

2.2. Fisiopatogenia das infecções por *T. colubriformis*

Os estágios imaturos, bem como os adultos da espécie *T. colubriformis* localizam-se preferencialmente no terço inicial do intestino delgado, onde vivem intimamente associados à superfície da mucosa intestinal (Figura 1F), formando túneis no epitélio intestinal (Holmes, 1985). Na literatura não há registros sobre a real fonte de nutrição destes parasitas, porém há indícios que possivelmente se alimentem dos tecidos e líquidos tissulares intestinais, além do quimo presente na luz do intestino delgado.

As altas cargas parasitárias causam severas enterites com atrofia generalizada de vilosidades, hipertrofia de criptas intestinais, erosão de epitélio intestinal, espessamento de mucosa, atrofia das microvilosidades dos enterócitos, além da formação de infiltrados inflamatórios leucocitários (Barker, 1973a; Barker, 1975a), aumento da permeabilidade vascular (Barker, 1975b), com conseqüente prejuízo à motilidade, fluxo, digestão e absorção de nutrientes (Coop e Angus, 1975; Jones, 1983; Gregory et al., 1985). Devido à grande exsudação de proteínas séricas totais para a luz intestinal, decorrente das lesões epiteliais, podem ocorrer significativas diminuições na concentração de albuminas, causa de graves quadros de hipoalbuminemia nos animais (Barker, 1973b; Steel et al., 1980).

Com os danos gerados no intestino delgado, podem também ocorrer anormalidades na absorção e metabolismo de minerais essenciais ao desenvolvimento ósseo de cordeiros em fase de crescimento, especialmente cálcio e fósforo (Horton, 1977; Poppi et al., 1985), em alguns casos provocando anormalidades ósseas nos animais como osteoporose e osteomalácia (Sykes et al., 1975).

Alguns estudos ainda apontam a espécie *T. colubriformis* como causadora de importantes distúrbios endócrinos em cordeiros. Redução nas concentrações séricas dos hormônios tiroxina e insulina (diminuição), além do aumento de corticosteróides foram observadas por Prichard et al. (1974), estas disfunções prejudicam a síntese protéica, principalmente o anabolismo

muscular, reduzem o catabolismo hepático, interferindo no metabolismo de carboidratos e lipídios, causando diminuição no ganho de peso e ingestão alimentar, além de imunossupressão. Symons e Hennessy (1981) observaram também aumento do hormônio colicistoquinina (CCK), alterações nos níveis deste hormônio interferem no esvaziamento gástrico, na secreção de enzimas pancreáticas e hepáticas, na motilidade intestinal e no controle do apetite pelo sistema nervoso central.

Os principais sinais clínicos das infecções por *T. colubriformis* são: perda de peso e inapetência (Roseby, 1973; Horton, 1977; Steel et al., 1980; Symons, 1983; Kimambo et al., 1988; Kyriazakis et al., 1996), redução da conversão alimentar (Beriajaya e Copeman, 2006) e da produção de lã (Roseby, 1973; Steel et al., 1980), amolecimento das fezes, diarreia e, em alguns casos, morte (Horak et al., 1968). A diarreia provocada pela infecção é caracterizada pela presença de fezes de coloração escura, as quais se aderem à região posterior dos animais (Larsen et al., 1994). O quadro de diarreia, bem como as lesões destas infecções, não ocorrem apenas pela ação espoliativa direta dos parasitas no intestino delgado, pois parte desta síndrome é atribuída a reações de hipersensibilidade do tipo I do sistema imunológico contra as larvas infectantes (Larsen et al., 1994; Larsen et al., 1995; Larsen et al., 1999).

2.3. Resposta imunológica dos ovinos às infecções por nematódeos gastrintestinais

O sistema imune é relativamente ineficiente no controle dos helmintos, afinal, esses organismos se adaptaram completamente à existência parasitária obrigatória, cuja sobrevivência depende da obtenção de alguma forma de acomodação no organismo de seu hospedeiro. Somente quando os helmintos invadem um hospedeiro ao qual não se encontram completamente adaptados ou em número elevado é que ocorre doença clínica (Tizard, 2002).

Diante da diversidade de espécies de nematódeos gastrintestinais, os quais ocupam diversos nichos do trato digestivo, bem como seus diferentes estágios de desenvolvimento em seus ciclos evolutivos, fazem com que a resposta imunológica gerada pelos ovinos, ocorra por diversos mecanismos (Balic et al., 2000). Nos ovinos a imunidade contra os nematódeos adultos

caracteriza-se pela expulsão da população dos vermes, alterações na morfologia dos parasitas (diminuição do tamanho dos vermes e deformidades nos órgãos sexuais) e pela redução na fecundidade das fêmeas. Enquanto que a resistência contra os estágios imaturos dos nematódeos é caracterizada pela eliminação das larvas infectantes (reações de hipersensibilidade) ou pela inibição do desenvolvimento das mesmas (hipobiose) (Balic et al., 2000).

Os mecanismos responsáveis pela manifestação da resposta imunológica às infecções helmínticas, ainda não foram completamente elucidados, porém, o desenvolvimento da resistência contra os nematódeos tem sido associado com a resposta imunológica mediada por linhagens de linfócitos Th2CD4⁺, eosinofilia, aumento do número de células inflamatórias na mucosa como mastócitos, eosinófilos e leucócitos globulares, aumento na produção de imunoglobulinas específicas e muco, com presença de substâncias inibidoras (Amarante e Amarante, 2003).

Os eosinófilos são produzidos na medula óssea, sendo encontrados normalmente em número reduzido na circulação sanguínea (valores normais na espécie ovina segundo Pugh (2005) variam de 0 a 1000 células/ μ L), porém nas infecções por helmintos o número destas células aumenta drasticamente no sangue pela ação principalmente de IL-5 proveniente de linfócitos Th2 CD4⁺ em resposta a antígenos dos parasitas. Por meio de quimiorreceptores liberados por mastócitos, os eosinófilos chegam aos tecidos do trato gastrointestinal liberando mediadores inflamatórios extremamente potentes que danificam a cutícula ou até mesmo matam os helmintos recobertos com a imunoglobulina IgE (Balic et al., 2000; Tizard, 2002).

Os mastócitos também são produzidos na medula óssea, porém, amadurecem nos tecidos, assim como os eosinófilos podem aumentar em número nas infecções por nematódeos intestinais pela ação de IL-3 de linfócitos T (Lantz et al., 1998). Estas células, uma vez ativadas, principalmente pela ação de IgE ligada a antígenos do parasita, liberam mediadores inflamatórios como histamina, leucotrienos, serotonina, proteoglicanos, proteases, prostaglandinas, fator de ativação plaquetária (PAF) e diversas citocinas, causando diversos efeitos no hospedeiro, dos quais se destacam: a contração da musculatura lisa, o aumento da permeabilidade vascular e da produção de muco. A somatória destes eventos favorecem o desalojamento e a

expulsão de helmintos gastrintestinais (Balic et al., 2000; Tizard, 2002). Os mastócitos podem também se diferenciar, particularmente nos ruminantes, em células mais especializadas denominadas leucócitos globulares (Huntley et al., 1984), estas células liberam seus produtos na luz e nos tecidos epiteliais dos órgãos gastrintestinais, afetando os nematódeos, porém com efeitos mínimos aos tecidos do hospedeiro (Balic et al., 2000).

Imunoglobulinas de várias classes e subtipos são produzidas pelos linfócitos B, após diferenciação em plasmócitos pela ação de das citocinas IL-4 e IL-5, liberadas pelos linfócitos Th2CD4⁺, após o contato com patógenos nos ruminantes. Estas células encontram-se em maior número nos linfonodos, baço, medula óssea e placas de Peyer do intestino (Tizard, 2002). As imunoglobulinas IgA, IgG1, IgG2 e IgE destacam-se nas infecções helmínticas nos ovinos (Amarante et al., 2004).

Embora a imunoglobulina IgE exerça grande importância nas reações de hipersensibilidade do tipo I às larvas infectantes, juntamente com os eosinófilos e mastócitos, o qual se constitui em um dos principais mecanismos de proteção as helmintoses, acredita-se que os outros grupos de imunoglobulinas (IgA, IgG1, IgG2) também exerçam papel protetor nestas infecções, promovendo a neutralização de proteases utilizadas pelas larvas infectantes durante invasão tecidual, formação de imunocomplexos nas aberturas orais e anais dos parasitas, impedimento da ecdise, além da inibição do desenvolvimento larval (Tizard, 2002). Stear et al. (1995) também sugerem que os níveis de IgA presentes nas mucosas podem reduzir o tamanho e a fecundidade dos helmintos.

As infecções por nematódeos apresentam distribuição binominal negativa nas criações de ovinos (Amarante et al., 2004), mesmo quando os hospedeiros são da mesma raça, sexo, idade e categoria produtiva (Stear e Murray, 1994). Enquanto a maioria dos animais apresenta baixa carga parasitária, alguns indivíduos albergam grandes populações de parasitas em seu trato gastrintestinal, isto ocorre, porque a resposta imunológica é individual dentro de animais de um mesmo rebanho, uma vez que os fatores genéticos são determinantes para a aquisição e expressão da imunidade nos ovinos contra as infecções helmínticas (Stear e Murray, 1994).

O sistema imunológico dos ovinos no combate às infecções por nematódeos gastrintestinais pode apresentar dois tipos de resposta: resistência e/ou tolerância (resiliência). No caso da resistência, a resposta imunológica limita o estabelecimento do parasita, já na resiliência, os animais são capazes de “conviver” com o parasita com redução mínima de sua produtividade (Albers et al., 1987).

Devido às grandes perdas de sangue que ocorrem nas infecções por *H. contortus*, supõe-se que nem mesmo o mais tolerante animal seja capaz de sobreviver por muito tempo quando exposto a infecções com grande número deste parasita (Le Jambre, 1995). Portanto, não há dúvidas de que a resistência é a característica mais importante do ponto de vista zootécnico, pois impõe limites ao estabelecimento do parasita. O mesmo vale para as infecções por *O. columbianum*. Neste caso, a resposta imunológica do hospedeiro, ao impedir o estabelecimento das larvas infectantes na mucosa intestinal, preveniria a formação de nódulos intestinais, os quais se constituem na principal alteração patológica causada por esta espécie (Amarante et al., 2004).

Por outro lado, na infecção causada por alguns parasitas, tais como *Trichostrongylus* spp. e *Ostertagia* spp., parte do síndrome da doença é atribuído à hipersensibilidade provocada pelas larvas infectantes, visto que nestas parasitoses, os hospedeiros mais tolerantes apresentariam uma resposta menor e seriam menos propensos a apresentarem a doença (Larsen et al., 1994; Le Jambre, 1995; Larsen et al., 1999).

Em comparação com ovinos de raças européias (Ile de France e Suffolk), nos cordeiros Santa Inês foi demonstrado maior resistência às infecções por *H. contortus* e *O. columbianum*, paradoxalmente, as três raças citadas apresentaram susceptibilidade similar às infecções por *T. colubriformis*. No caso desta espécie de parasita, os Santa Inês apresentaram-se aparentemente tolerantes (Amarante et al., 2004). Resultados similares a estes foram observados por Amarante et al. (1999a), ao compararem cordeiros das raças Florida Native (resistentes) e Rambouillet (susceptíveis), e por Bahirathan et al. (1996), ao compararem cordeiros Gulf Coast Native (resistentes) e Suffolk (susceptíveis). Nesses trabalhos, os autores observaram uma diferença marcante entre as raças resistentes e as susceptíveis em

relação às infecções por *H. contortus*, o mesmo não foi verificado nas infecções por *Trichostrongylus* spp.

Diante destes achados, Amarante (2002) sugeriu que após anos e anos de seleção natural, as raças ovinas consideradas “resistentes” tenham atingido o refinamento de apresentar resistência contra algumas espécies de helmintos e tolerância contra outras. Os resultados obtidos sugerem que talvez os dois tipos de resposta possam ocorrer nos cordeiros Santa Inês. Neste mesmo estudo, os autores chamaram a atenção da necessidade de estudos relacionados com a dinâmica da fisiopatogenia e da resposta imunológica de cordeiros da raça Santa Inês contra *T. colubriformis*, por meio de infecções artificiais e naturais.

2.4. Resposta imunológica dos ovinos às infecções por *T. colubriformis*

A seguir será apresentada uma breve revisão dos resultados obtidos em trabalhos onde se evidenciam a ação dos mais importantes elementos celulares e humorais envolvidos na imunidade dos ovinos durante as infecções pelo nematódeo *T. colubriformis*.

Como na maioria das infecções por helmintos, o papel da modulação das células Th2 CD4⁺ também já foi observado nas infecções por *T. colubriformis*. Kambara e McFarlane, (1996), ao analisarem cordeiros mestiços Dorset Down x Coopworth, continuamente infectados com o parasita, observaram aumento significativo do percentual destas células na circulação sangüínea e nos linfonodos quando comparados a ovinos livres de infecções helmínticas. Segundo os autores, o aumento destas células promoveu nos animais o desenvolvimento de resposta imune protetora contra o referido parasita.

A associação entre o grau de resistência dos ovinos as infecções por *T. colubriformis* com a eosinofilia já foi alvo de estudos. Dawkins et al. (1989), por exemplo, demonstraram que o número de eosinófilos no sangue foi superior em cordeiros selecionados para resistência do que em animais susceptíveis, após imunização e desafio com larvas de *T. colubriformis*. Já Dobson et al. (1992) registraram eosinofilia em cordeiros da raça Merino entre

a terceira e a quinta semana após infecção com *T. colubriformis*, a qual coincidiu com a redução do estabelecimento das larvas destes parasitas nos animais. Da mesma forma, Buddle et al. (1992), ao avaliarem a associação da eosinofilia com a expressão da resistência em cordeiros Romney, infectados por *T. colubriformis*, verificaram um aumento significativo da contagem de eosinófilos que coincidiu com a diminuição do número de ovos por grama de fezes. Beriajaya & Copeman (2006) observaram relação inversa entre a carga parasitária e OPG com a eosinofilia apresentada por cordeiros Javanese, artificialmente infectados com *T. colubriformis*.

Estudos demonstram também que durante as infecções por *T. colubriformis*, a presença de células inflamatórias da mucosa e seus produtos de degranulação, bem como o aumento dos níveis de imunoglobulinas no sangue e muco, o aumento de muco e presença de substâncias inibidoras neste tenham papel crucial na expressão da imunidade protetora apresentada pelos hospedeiros.

Douch et al. (1986) observaram que a eliminação dos parasitas adultos esteve associada com aumento do número de leucócitos globulares e alta atividade antiparasitária no muco, esta última também obteve correlação positiva com o número de leucócitos globulares e eosinófilos presentes na mucosa. Douch et al. (1989) encontraram em animais resistentes a *T. colubriformis*, maior presença de eosinófilos, mastócitos e leucócitos globulares na mucosa intestinal, bem como alta atividade antiparasitária no muco destes animais.

Jones et al. (1990) demonstraram que a elevação da concentração de leucotrienos no muco, bem como de histamina nos tecidos do duodeno, oriundos de mastócitos teve associação com a eliminação de larvas e diminuição do OPG em ovinos selecionados para resistência a *T. colubriformis*.

McClure et al. (1992) observaram que ovinos da raça Merino apresentaram aumento de leucócitos globulares na mucosa intestinal, bem como dos níveis das imunoglobulinas IgG1 e IgG2 específicas no muco, após infecções artificiais com *T. colubriformis*, promovendo a eliminação da maioria das larvas no primeiro dia após a infecção. A eliminação dos vermes remanescentes ocorreu três a 14 dias após as infecções, e ocorreu não apenas

pelo aumento dos anticorpos IgA e IgG2 específicas, mas também com a infiltração local, ativação e diferenciação de células T e necrose epitelial.

Jones et al. (1994) verificaram que a elevação da concentração de proteinase, leucotrienos e fator de agregação plaquetária oriundos de mastócitos coincidem com o início do declínio da produção de ovos de fêmeas de *T. colubriformis*

Bendixsen et al. (1995) observaram que após infecção primária com *T. colubriformis* houve grande liberação de proteinase por mastócitos a qual coincidiu com a eliminação da carga parasitária.

Bisset et al. (1996) verificaram em ovinos Romney, aumento do número de mastócitos e leucócitos globulares na mucosa do intestino delgado nos animais mais resistentes, com correlação alta e negativa entre estes valores e carga parasitária, destacando que estas células foram importante na resposta imunológica contra estabelecimento dos parasitas na mucosa.

Shaw et al., (1998), em cordeiros da raça Romney e mestiços Romney x Suffolk, observaram após infecção, aumento nos níveis séricos de IgE total e IgE específica contra *T. colubriformis*, aliado a alta contagem de células inflamatórias (eosinófilos, mastócitos e leucócitos globulares) na mucosa, destacando o importante papel deste tipo de resposta na imunidade protetora dos animais analisados. Resultados semelhantes também foram observados por Harisson et al. (1999) em cordeiros da raça Romney. Neste mesmo estudo os autores verificaram que o muco gastrointestinal de ovinos resistentes apresentou maior atividade inibitória contra larvas de terceiro estágio do que os animais susceptíveis.

2.5. Imunopatologia das infecções por *T. colubriformis*

Estudos apontam que a imunidade dos ovinos diante das infecções por *T. colubriformis* podem causar prejuízos aos animais, uma vez que certos indivíduos desenvolvem reações de hipersensibilidade exacerbadas, principalmente do tipo I, contra as larvas infectantes destes parasitas. Reações deste tipo podem causar contração da musculatura lisa, vasodilatação, aumento da secreção de muco, e até lesões vasculares e epiteliais (Meeusen, 1999).

Na maioria das vezes as reações de hipersensibilidade exacerbada levam os animais a apresentarem fezes diarréicas, as quais se aderem no velo da região posterior, conseqüentemente provocando prejuízos na produção de lã. Este problema foi relatado na Nova Zelândia em animais da raça Merino, destinados a produção de lã (Larsen et al., 1994; Larsen et al. 1995). Larsen et al. (1994) observaram significativa correlação entre a alta contagem de eosinófilos na mucosa do intestino delgado com os maiores escores de fezes aderidas à região posterior de ovelhas infectadas naturalmente com *T. colubriformis*.

Shaw et al. (1998) verificaram em cordeiros da raça Romney, amolecimento das fezes dos animais infectados com o referido nematódeo, o que coincidiu com as mais altas concentrações das imunoglobulinas IgE total e específica apresentada pelos mesmos indivíduos.

Morris et al. (2000) verificaram em ovinos resistentes da raça Romney, infectados naturalmente com *T. colubriformis* e outras espécies de nematódeos gastrintestinais, menor ganho de peso, menor produção de lã e maior quantidade de fezes aderidas à região posterior dos animais.

Portanto, com base na biologia e fisiopatogenia da espécie *T. colubriformis*, bem como na resposta imunológica apresentada pelos ovinos diante deste nematódeo, é possível determinar se a implantação de medidas profiláticas contra este parasita, muitas vezes negligenciado na ovinocultura, são realmente necessárias nos rebanhos da raça Santa Inês, a qual se constitui em termos numéricos em uma das principais raças criadas comercialmente no Brasil. Estudos prévios ovinos dessa raça se mostraram resistentes a maioria dos nematódeos gastrintestinais, porém aparentemente tolerante às infecções por *T. colubriformis*.

O artigo apresentado a seguir (Capítulo 2) foi redigido de acordo com as normas do periódico científico "International Journal for Parasitology" e teve por objetivos: investigar o impacto das infecções artificiais por *T. colubriformis* no desempenho e na resposta imunológica de cordeiros da raça Santa Inês.

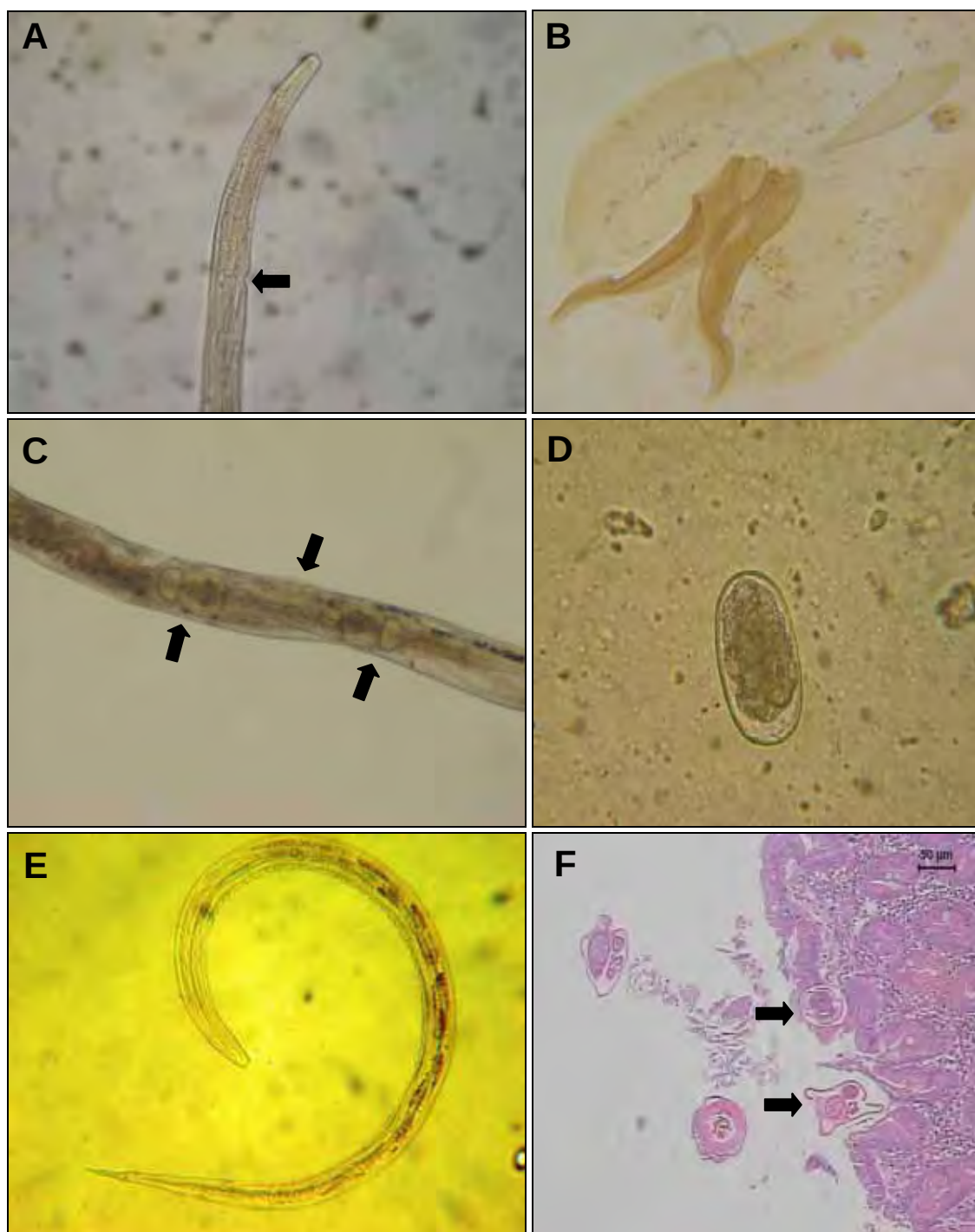


Figura 1. Extremidade anterior de *Trichostrongylus colubriformis*, seta indica o poro excretor (A); Espículos em forma de “arpão” de macho de *T. colubriformis* (B); Região vulvar de fêmea de *T. colubriformis*, setas indicam ductos ovejetores e vulva (C); Ovo de *T. colubriformis* (D); Larva infectante de terceiro estágio de *T. colubriformis* (E). Corte histológico corado com Hematoxilina-eosina (H&E) do intestino delgado de ovino, setas destacam exemplares de *T. colubriformis*, intimamente associados à mucosa intestinal (F).

CAPÍTULO 2

**Resposta imunológica e fisiopatologia das infecções artificiais por
Trichostrongylus colubriformis em cordeiros Santa Inês**

RESUMO

Com o objetivo de se investigar a resposta imunológica e fisiopatologia das infecções por *Trichostrongylus colubriformis* em cordeiros Santa Inês, trinta ovinos foram agrupados em 10 classes, de acordo com seu peso vivo, sendo cada uma destas constituída de três animais. Por sorteio, um animal de cada classe constituiu o grupo infectado artificialmente com 2500 larvas de *T. colubriformis*, três vezes por semana, ao longo de 13 semanas e alimentado *ad libitum*, outro animal constituiu o grupo não infectado, alimentado com a mesma quantidade consumida pelo animal infectado, de mesma classe, no dia anterior, e o último animal constituiu o grupo não infectado e alimentado *ad libitum*. Diariamente as sobras de alimento eram pesadas, para que se estimasse o consumo alimentar individual de cada cordeiro. Semanalmente os animais eram pesados e amostras de sangue e fezes eram colhidas para a realização de exames hematológicos, imunológicos e coproparasitológicos. Ao final deste estudo, os cordeiros foram eutanaziados para a determinação da carga parasitária e colheita de amostras de tecido e muco intestinal para realização de análises histopatológicas e imunológicas. Os resultados demonstraram que a resposta imunológica impediu parcialmente o estabelecimento das larvas infectantes nos cordeiros infectados, porém houve redução do desempenho produtivo nos animais, independentemente da carga parasitária. O grupo infectado apresentou a pior conversão alimentar ($88,81 \pm 21,19$ g a cada 1000g de alimento consumido), sendo esta significativamente

menor ($P < 0,01$) aos outros dois grupos experimentais. Os efeitos deletérios nos cordeiros foram decorrentes tanto das alterações patológicas causadas pelos vermes adultos na mucosa intestinal, como das alterações imunopatológicas produzidas pelo contato com as larvas infectantes. A alta demanda de nutrientes destinados ao desenvolvimento e manutenção da reposta imunológica e reparo dos tecidos danificados durante as infecções também contribuíram no baixo desempenho produtivo apresentado animais infectados.

Palavras-chave: ovinos; imunidade; Nematoda; ganho de peso; resistência genética.

**Immune response and physiopathology of artificial infections with
Trichostrongylus colubriformis in Santa Inês lambs.**

ABSTRACT

To investigate the immune response and physiopathology of *Trichostrongylus colubriformis* infections in Santa Inês lambs, thirty sheep were grouped into 10 classes of three animals each according to their liveweight. From each class, one animal was randomly selected to constitute the group artificially infected with 2500 *T. colubriformis* larvae three times every week for 13 weeks and fed *ad libitum*; another animal included the non-infected group fed with the same quantity consumed by the infected animal of the same class on the previous day; and one third animal constituted the non-infected group fed *ad libitum*. Leftovers were daily weighed to assess food consumption for each lamb. Every week, the animals were weighed and blood and fecal samples were collected for hematological, immunological and coproparasitological tests. At the end of this study, lambs were euthanized to detect worm burden and collect intestinal mucus and tissue samples for histopathological and immunological analyses. The immune response partially prevented the establishment of infective larvae in infected lambs. However, there was a reduction in the productive performance of these animals independently of their worm burden. The Infected Group had the worst feed conversion (88.81 ± 21.19 g in body weight for each 1000 g food consumed), this it was significantly lower ($P < 0.01$) than that of the other two experimental groups. Deleterious effect in the lambs were due to pathological changes caused by adult nematodes in the intestinal mucosa and to immunopathological changes resultant of the contact with infective larvae. The high nutrient demand for the development and

maintenance of the immune response and the repair of damaged tissues during infections also contributes in the low performance presented infected animals.

Keywords: sheep; immunity; Nematoda; weight gain; genetic resistance.

1. Introdução

A ovinocultura brasileira apresenta nos últimos anos grande expansão em diversas regiões do país, sendo considerada uma das atividades rurais com maior potencial econômico da pecuária brasileira, pois requer pequenas extensões de terra, proporcionando rápida recuperação do capital investido. Porém, as infecções causadas por nematódeos gastrintestinais se constituem no principal problema sanitário encontrado nestas criações, sendo causa de grandes prejuízos, diminuindo a viabilidade comercial da atividade.

Esta situação agravou-se ainda mais por práticas inadequadas de manejo dos animais, dentre as quais se destaca o uso indiscriminado de anti-helmínticos como meio exclusivo de controle das helmintoses gastrintestinais, fato que promoveu a seleção de populações de nematódeos resistentes (Amarante et al., 1992).

A alta incidência e patogenicidade da espécie *Trichostrongylus colubriformis* fazem deste parasita, juntamente com *Haemonchus contortus*, um dos mais importantes endoparasitas da espécie ovina no Brasil (Amarante et al., 2004), sendo encontrados em praticamente todas as propriedades de criação de ovinos.

Por viverem intimamente associados à superfície da mucosa intestinal em túneis, tanto os estágios adultos, como larvais de *T. colubriformis*, em altas cargas parasitárias causam severas enterites, com atrofia generalizada de vilosidades, hipertrofia de criptas e erosão de epitélio intestinal (Barker, 1973a; Barker, 1975a), aumento da permeabilidade vascular (Barker, 1975b), exsudação de proteínas séricas, principalmente albumina para a luz intestinal (Barker, 1973b; Steel et al., 1980), com conseqüente prejuízo à motilidade,

fluxo, digestão e absorção de nutrientes (Coop e Angus, 1975; Jones, 1983; Gregory et al., 1985). Como consequência, os animais podem apresentar perda de peso e inapetência (Roseby, 1973; Horton, 1977; Steel et al., 1980; Symons, 1983; Kimambo et al., 1988; Kyriazakis et al., 1996), redução da conversão alimentar (Beriajaya e Copeman, 2006) e da produção de lã (Roseby, 1973; Steel et al., 1980) e diarreia (Larsen et al., 1994).

No Brasil, alguns estudos demonstraram que a criação de raças ovinas resistentes é uma ferramenta promissora e eficaz no controle das helmintoses gastrintestinais, como é o caso da raça Santa Inês (Moraes et al., 2000; Bueno et al. 2002; Rocha et al., 2004; Bricarello et al., 2005; Rocha et al., 2005), a principal raça criada comercialmente no país. Porém, Amarante et al. (2004), ao comparar cordeiros da raça Santa Inês com animais das raças Ile de France e Suffolk, observaram alta resistência às infecções por *H. contortus* e *Oesophagostomum columbianum* nos ovinos da primeira raça, mas suscetibilidade similar das três em relação a espécie *T. colubriformis*. Resultados similares a estes foram observados por Amarante et al. (1999), ao compararem cordeiros das raças Florida Native (resistentes) e Rambouillet (susceptíveis), e por Bahirathan et al. (1996), estudando cordeiros das raças Gulf Coast Native (resistentes) e Suffolk (susceptíveis).

Entretanto, apesar da susceptibilidade as infecções por *T. colubriformis*, os cordeiros Santa Inês quanto aos seus índices produtivos demonstraram aparente resiliência (tolerância) em relação às outras duas raças (Amarante et al., 2004). Segundo Larsen et al. (1994) e Larsen et al. (1999), a tolerância às infecções contra o referido parasita é uma característica desejável aos animais, uma vez que parte do síndrome desta enfermidade é atribuída às reações de

hipersensibilidade exacerbadas do sistema imune contra as larvas infectantes, que ocorrem comumente nos indivíduos mais resistentes dos rebanhos.

Amarante (2002) apontou a necessidade de estudos que pudessem avaliar a dinâmica das infecções naturais e artificiais por este nematódeo em cordeiros da raça Santa Inês. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo investigar o impacto das infecções artificiais com *T. colubriformis* no desempenho produtivo e na resposta imune de cordeiros da raça Santa Inês.

2. Materiais e Métodos

2.1. Animais e descrição do experimento

A resposta dos cordeiros Santa Inês às infecções artificiais por *T. colubriformis* foi avaliada em animais com idade inicial de três a quatro meses. Foram utilizados 30 cordeiros nascidos entre os meses de junho e julho de 2007, machos, inteiros, confinados com suas mães desde o nascimento. Os animais foram desmamados com 60 dias de vida e submetidos a um período de adaptação de aproximadamente duas semanas, em baias individuais, com piso de concreto, lavadas com água sob pressão a cada dois dias. Nestas mesmas baias os cordeiros tinham acesso à água potável fornecida em bebedouros automáticos.

Durante este período de adaptação, os animais foram vacinados contra clostridioses (Sintoxan Polivalente[®] – Merial), sendo revacinados após um mês. Os cordeiros tinham à disposição uma dieta constituída de feno de tifton 85 com 6,69% de proteína bruta (PB), 90,33 % de matéria seca, 2,17% de extrato etéreo, 4,22% de minerais, 30,43% de fibra bruta, 39,35% de extrato não nitrogenado e 42,67% de nutrientes digestíveis totais e ainda recebiam 600 g

de ração comercial para cordeiros (Tech Ovin Unique® – Socil Evialis Nutrição Animal Indústria e Comércio Ltda) com 19% de PB.

Nos exames coproparasitológicos preliminares, observou-se que alguns indivíduos estavam eliminando ovos de *Strongyloides* spp. e de estrongilídeos. Larvas de *Haemonchus* spp. (78%), *Trichostrongylus* spp. (12%) e *Cooperia* spp. (10%) foram identificadas nas coproculturas realizadas (Ueno e Gonçalves, 1998). Diante disso, todos os cordeiros foram tratados pela via oral com cloridrato de levamisol (30 mg/kg; Ripercol® – Fort Dodge) e albendazol (10 mg/kg; Valbazen® – Pfizer Saúde Animal) por três dias consecutivos. Após este período, os animais receberam também triclorfon (100 mg/kg; Neguvon® – Bayer S. A.) durante mais três dias. Sete dias após, os exames parasitológicos foram repetidos e os animais que ainda se apresentavam infectados foram submetidos a uma nova série de tratamentos com os mesmos anti-helmínticos. Depois desse procedimento, ovos de helmintos não foram mais detectados nos exames de fezes.

Com o término da fase de adaptação (duas semanas), os 30 cordeiros foram ordenados em 10 classes, de acordo com o peso vivo, com três animais em cada uma destas. Por sorteio, um animal de cada classe constituiu um dos seguintes grupos:

- Infectado – infectado artificialmente com *T. colubriformis* e alimentado *ad libitum*.
- *Pair-Fed* – não infectado e alimentado com a mesma quantidade de ração consumida pelo animal infectado de mesma classe, no dia anterior.
- Controle – não infectado e alimentado *ad libitum*.

Os animais foram mantidos durante todo o experimento em baias individuais, ordenados por classe, recebendo diariamente, em dois comedouros, uma dieta composta por feno de tifton 85 triturado com aproximadamente 6,69% de PB e ração comercial para cordeiros em crescimento (Tech Ovin Unique[®] – Socil Evialis Nutrição Animal Indústria e Comércio Ltda) com 19% de PB. Como medida de prevenção de coccidioses, decoquinato (Deccox[®] – Alpharma) foi administrado juntamente com a ração comercial utilizada, de acordo com as instruções do fabricante.

A quantidade de ração comercial fornecida aos cordeiros dos grupos Infectado e Controle foi ajustada semanalmente de acordo com as recomendações do fabricante, de maneira que os animais recebessem uma quantidade diária correspondente a 2% do peso vivo. Metade da ração comercial era oferecida no período da manhã e outra parte no período da tarde. O feno era fornecido durante o período da manhã, esperando-se sobras 10% do que foi ofertado nas 24 horas anteriores. Diariamente, no início da manhã as sobras de alimento eram recolhidas e pesadas, antes do fornecimento da dieta, a fim de que se estimasse a quantidade total de matéria seca (feno e ração comercial) consumida por cada um dos animais. Caso ocorressem sobras inferiores a 10%, eram acrescidas 100 g a mais na quantidade de feno ofertada aos animais dos Grupos Infectado e Controle.

2.2. Detalhes sobre as infecções artificiais

Os cordeiros foram infectados pela via oral com 2500 larvas infectantes (L3) de *T. colubriformis*, três vezes por semana (segunda-feira, quarta-feira e sexta-feira) ao longo de 13 semanas, portanto, cada um dos cordeiros do Grupo Infectado recebeu no total de 97500 L3. As larvas infectantes de

T. colubriformis que foram utilizados neste experimento, eram oriundas de um isolado da espécie, obtido em 2003 de ovinos criados em Pratânia – SP (Rocha et al., 2007), mantidas congeladas em nitrogênio líquido (MAFF, 1986) até serem utilizadas para infectar dois cordeiros doadores. Amostras de fezes destes animais eram colhidas semanalmente, em bolsas coletoras, para a produção das larvas infectantes por meio de coproculturas (Ueno e Gonçalves, 1998).

2.3. Variáveis analisadas

2.3.1 Desempenho dos cordeiros e consumo alimentar

Os cordeiros foram pesados semanalmente e o consumo de alimento foi mensurado diariamente. Com base nas informações sobre o ganho de peso de cada animal e do seu respectivo consumo de alimento, ao final do experimento, foi possível calcular a conversão alimentar.

2.3.2. Exames coproparasitológicos e hematológicos

Amostras individuais de fezes e de sangue foram colhidas semanalmente dos animais. As contagens de OPG e as coproculturas foram realizadas segundo as descrições de (Ueno e Gonçalves, 1998) foram realizadas para cada um dos grupos experimentais, a fim de que se confirmasse a presença apenas de *T. colubriformis* nos animais do Grupo Infectado e ausência de infecções helmínticas nos Grupos *Pair-Fed* e Controle. A identificação das larvas infectantes (L3) foi realizada de acordo com Keith (1953).

As amostras de sangue foram colhidas diretamente da veia jugular em tubos à vácuo com e sem anticoagulante (EDTA). O volume globular (VG) foi

determinado por centrifugação em tubos de micro-hematócrito. Os eosinófilos foram quantificados em câmara de Neubauer, após terem sido corados com solução de Carpentier (Dawkins et al., 1989). As contagens foram expressas em número de eosinófilos por microlitro (μL) de sangue.

O sangue do tubo sem anticoagulante foi centrifugado por 20 min a 3200 rpm para que ocorresse a separação do soro, o qual foi aliquoteado e estocado a -20°C . Nas amostras de soro foram determinadas as concentrações séricas em g/dL de proteína total pela técnica de biureto e albumina pela técnica do verde bromocresol (Protal método colorimétrico[®] – Laborlab), sendo lidas as suas absorbâncias em 562 nm e 625 nm respectivamente em leitor de ELISA (Amersham-Biosciences). A relação albumina/globulinas foi estimada pela seguinte fórmula: $\text{relação albumina/globulinas} = \text{concentração da albumina} / (\text{concentração de proteína total} - \text{concentração de albumina})$.

2.3.3. Obtenção e contagem dos nematódeos

A eutanásia dos animais realizou-se por exsanguinação, logo após sedação com cloridrato de xilazina a 2%, pela via intramuscular (0,1 mg/kg; Rompun[®] – Bayer S. A.) e analgesia completa com tiopental sódico a 5%, pela via intravenosa (20 mg/kg; Thionembutal[®] – Abbott Laboratórios do Brasil Ltda).

Após a eutanásia dos animais, o intestino delgado e o abomaso foram removidos, abertos ao longo de sua extensão e os seus conteúdos colhidos em baldes graduados. Após esta etapa, o intestino foi submetido à digestão em solução fisiológica por quatro horas, em temperatura de 37°C , para a recuperação de nematódeos presentes na mucosa (Ueno e Gonçalves, 1998). Alíquotas de 10% do conteúdo total do intestino e abomaso e todo o sedimento do material obtido na digestão foram colhidas, acondicionadas em frascos

plásticos e preservadas com 5% de formaldeído. Todos os helmintos presentes no material preservado foram quantificados e identificados, de acordo com o estágio de desenvolvimento em que se encontravam (Ueno e Gonçalves, 1998).

2.3.4. Exames histológicos

Duas amostras de tecido do intestino delgado foram colhidas imediatamente antes da abertura deste órgão e fixadas em formalina neutra tamponada a 4%. A primeira amostra foi colhida a 10 cm do piloro e a segunda, a um metro da primeira amostra. Em seguida as amostras foram processadas de acordo com as técnicas de rotina histológica e incluídas em parafina.

As contagens de eosinófilos e de mastócitos foram feitas em secções de 5 μm , coradas de hematoxilina-eosina (H&E) e pelo azul de toluidina, respectivamente. Os leucócitos globulares foram quantificados nas secções coradas de hematoxilina-eosina, sob luz ultravioleta.

As células foram contadas em 30 campos aleatórios, desde a muscular até a superfície da mucosa. Os resultados da contagem das células foram expressos como a média do número de células/ mm^2 de mucosa.

2.3.5. Microscopia eletrônica de varredura

As alterações na superfície do intestino delgado, em especial das vilosidades do duodeno, foram analisadas em microscopia eletrônica de varredura. Nessa análise foram utilizadas amostras colhidas de dois animais, que ao longo do experimento apresentaram as maiores contagens de OPG e também de dois animais do Grupo Controle. O material colhido foi fixado em glutaraldeído 2,5% diluído em tampão fosfato (pH 7,3 – 0,1 M) por 48 horas,

sendo posteriormente processadas com as técnicas de rotina de microscopia eletrônica de varredura.

2.3.6. Exames imunológicos

Nas amostras de soro foram também estimados os níveis séricos dos anticorpos IgA e IgG contra antígeno total de L3 e de adultos de *T. colubriformis* por meio da técnica de Elisa. Também foi estimado o níveis de IgA contra os mesmos antígenos no muco intestinal.

2.3.6.1. Preparação dos antígenos

Para a produção dos antígenos, larvas infectantes foram produzidas em coproculturas (Ueno e Gonçalves, 1998) feitas com as fezes de cordeiros doadores, portadores de infecção pura com *T. colubriformis*. Posteriormente, estes mesmos animais foram sacrificados para a obtenção dos parasitas adultos. Com base na morfologia dos exemplares adultos dos parasitas (Ueno e Gonçalves, 1998), confirmou-se a infecção pura dos animais com a referida espécie.

Os antígenos foram produzidos da seguinte forma: as larvas infectantes foram desembainhadas (MAFF, 1986) e mantidas refrigeradas em um único tubo Falcon, o qual foi submetido à centrifugação. O sobrenadante foi retirado deixando-se um pequeno volume de água, suficiente para cobrir as larvas. Neste tubo foi adicionado 2 mL de tampão fosfato (PBS) a 4^o C, suplementado com inibidor de protease (Complete-Mini[®] – Roche). As L3 foram fragmentadas com a utilização de um sonicador (Vibra-Cell[®] – Sonics & Materials Inc.) para a extração das proteínas solúveis. As larvas foram sonicadas em 20 ciclos de 1 min, com intervalo de 2 min entre eles para evitar aquecimento do material. O

material foi centrifugado por 30 min, 15000 g, 4° C. O sobrenadante foi colhido, aliquotado e estocado em freezer -80 °C até o momento do uso.

Exemplares adultos de *T. colubriformis*, obtidos dos animais infectados, foram lavados cinco vezes em PBS (pH 7,2, 4° C). Os parasitas foram colocados em um tubo com 2 ml de PBS a 4 °C, suplementado com inibidor de protease (Complete-Mini® – Roche). Os parasitas adultos foram fragmentados com a utilização de um Ultra Turrax® (Ika, Staufen, Alemanha) resultando em uma pasta homogênea. Logo após o material foi centrifugado e processado da mesma forma que as L3. O sobrenadante foi colhido, aliquotado e estocado em freezer – 80 °C até o momento do uso.

As concentrações totais de proteína do antígeno foram estimadas através da leitura em espectrofotômetro UV/visível, em densidade ótica de 540 nm (Ultrospec 2100 pro® – Amersham Pharmacia Biotech, Inglaterra), com a utilização de um kit comercial para dosagem de proteínas pela técnica de biureto (Protal método colorimétrico® – Laborlab).

2.3.6.2. Dosagem de IgG e IgA no soro – Elisa

Em microplacas com 96 poços (F96 MicroWell plate - Maxisorp® – NUNC), antígenos brutos de L3 e adultos de *T. colubriformis*, na concentração de 2 µg/mL, foram incubados em tampão carbonato pH 9,6, overnight (16 horas) em temperatura ambiente, no volume de 100 µL por poço. Após a incubação com os antígenos as microplacas passaram por três lavagens com solução de lavagem constituído de 1L de água MilliQ, 0,05% de Tween 20 (ProPure® – Amresco) em máquina de lavagem automática (ELx405® – BioTek). Terminada esta etapa, as microplacas foram incubadas por 1 hora a 37° C com 100 µL por poço do tampão bloqueio PBS-GT, o qual era constituído

de PBS pH 7,0, acrescido de 0,1% de gelatina (Gelatin® – Amresco) e 0,05% de Tween 20 (Pro Pure® – Amresco). As microplacas foram novamente lavadas com solução de lavagem e acrescidas com as amostras de soro dos animais testados, diluídas com PBS-GT na diluição 1:2000 para a dosagem de IgG anti-L3 e anti-adulto e 1:500 para IgA anti-L3 e anti-adulto e aplicadas em duplicata nas microplacas no volume de 100 µL por poço, sendo novamente incubadas durante 1 hora a 37° C.

As incubações seguintes para a dosagem de IgG anti-L3 e anti-adulto foram realizadas primeiro com anticorpo policlonal de coelho anti-IgG ovina na diluição 1:1000 (Rabbit polyclonal to Sheep IgG® – Abcam) e após com conjugado policlonal de cabra anti-coelho (Polyclonal Goat Anti-Rabbit Immunoglobulins/AP® – DAKO, Dinamarca) na diluição 1:4000, ambas no volume de 100 µL por poço e incubadas em 1 hora a 37° C. Já para a determinação de IgA anti-L3 e anti-adulto, utilizou-se incubações com anticorpo monoclonal de camundongo anti-IgA ovina e bovina (Monoclonal Mouse Anti-Bovine/Ovine IgA® – Serotec) na diluição 1:250 e em seguida conjugado policlonal de cabra anti-camundongo (Polyclonal Goat Anti-Mouse Immunoglobulins/AP® – DAKO, Dinamarca) na diluição 1:1000, ambas no volume de 100 µL por poço por 1 hora a 37° C. Ambos os conjugados utilizados eram marcados com fosfatase alcalina.

Finalmente, após a última lavagem, 100 µL do substrato PNPP (p-Nitrofenol fosfato, PNPP kit® – Pierce) foi adicionado em cada poço e a reação enzimática foi desenvolvida em 30 minutos em temperatura ambiente e 90 minutos a 4° C. Logo após este período as placas foram lidas em leitor de ELISA (Amersham-Biosciences), em densidade ótica de 405 nm e os

resultados expressos em porcentagem do valor da densidade óptica (OD) utilizando-se como referência o soro de um animal positivo pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ do valor de OD} = (\text{Média de OD do soro testado} - \text{Média do Branco}) \times 100\%$$

$$(\text{Média de OD do soro padrão positivo} - \text{Média do Branco})$$

2.3.6.3. Dosagem de IgA no muco intestinal

Por ocasião da necropsia dos animais, uma amostra de muco foi colhida de dois segmentos do intestino delgado com 5 cm de comprimento, localizado entre 10 cm e 20 cm do piloro. Os segmentos do intestino delgado foram abertos e a superfície da mucosa raspada com lâmina de vidro. A amostra foi colocada em tubo Falcon de 50 mL, onde foi acrescentado 3 mL de PBS refrigerado suplementado com inibidor de protease (1 tablete de Complete[®] – Roche em 25 mL de PBS pH 7,0).

As amostras foram homogeneizadas por 1 h a 4° C. Após esta etapa, os tubos foram centrifugados (3000 g) por 30 min a 4° C. O sobrenadante foi retirado e novamente centrifugado (15000 g) por 30 min, 4° C e finalmente, aliquotado e estocado a –20° C (Kanobana et al., 2002). A concentração de proteína foi determinada pela técnica de biureto (Protal método colorimétrico[®] – Laborlab) e absorbância foi lida em filtro de 562 nm. As amostras foram ajustadas para que tivessem concentração final de 8 mg de proteína por mL de sobrenadante e as reações de Elisa para a dosagem de IgA anti-L3 e anti-adulto de *T. colubriformis* no muco foram realizadas conforme as descrições do item 2.3.6.2. utilizadas na IgA sérica anti-L3 e anti-adulto de *T. colubriformis*,

utilizando-se a diluição do muco em 1:25. Os resultados foram expressos em OD da amostra – OD Branco.

2.3.7. Pesagem do linfonodo duodenal cranial

Durante a necropsia, o linfonodo duodenal cranial de todos os animais do Grupo Infectado e do Grupo Controle foram pesados.

2.4. Análise estatística

Os dados foram submetidos à Análise da Variância pelo Pacote Estatístico Minitab® (Versão 11). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, com nível de 1 ou de 5% de significância. Os valores referentes às contagens de OPG, células e imunoglobulinas foram previamente transformados para estabilizar a variância pelo $\log_{10}(x+1)$. A associação entre as variáveis da última semana de experimento do Grupo Infectado foi determinada pelo cálculo do coeficiente de correlação de Pearson.

3. Resultados

3.1. Contagem de ovos por grama de fezes (OPG) e carga parasitária

Ovos de *T. colubriformis* foram detectados nas fezes dos cordeiros do Grupo Infectado a partir da terceira semana pós-infecção com ápices nas médias de OPG registrados na quarta e na 13ª semanas (Tabela 1, Figura 1). Oocistos de *Eimeria* spp. também foram observados esporadicamente em alguns animais dos três grupos experimentais até a quarta semana de experimento, porém em pequena quantidade.

Em consequência do parasitismo por *T. colubriformis*, na nona semana após o início das infecções, oito cordeiros do Grupo Infectado, apresentaram diarreia, eliminando cíbalos fecais aglomerados, com aspecto de “cachos de

uva”, estes cíbalos apresentavam consistência variável de semi-sólida a pastosa com presença de muco intestinal (Figuras 2B e 2C). Na 10ª semana pós-infecção os outros dois cordeiros do Grupo Infectado também passaram a eliminar fezes com as características anteriormente citadas. Esta alteração persistiu em todos os indivíduos do Grupo Infectado até o dia de sua eutanásia.

Por outro lado, os animais do Grupo Controle apresentaram fezes com consistência normal (Figura 2A) e não apresentaram qualquer sinal clínico de enfermidade.

Os resultados referentes ao número de exemplares de *T. colubriformis* nos animais do Grupo Infectado encontram-se representados na Tabela 2 e Figura 3. A média aritmética ($\pm$ desvio padrão) e a mediana da carga parasitária do grupo foram respectivamente de $6345,80 \pm 8893,68$ e 1394,50. Seis dos animais apresentaram carga parasitária relativamente discreta que variou de 13 a 1540 parasitas, ou seja, no caso desses cordeiros menos de 1,6% das larvas infectantes administradas conseguiram se estabelecer. Por outro lado, a maior carga parasitária (26830 exemplares adultos de *T. colubriformis*, 14140 fêmeas e 12690 machos) ocorreu no animal C60 da classe 1, o que correspondeu ao estabelecimento de 27,5% das larvas infectantes. Nenhum animal infectado apresentou estágios imaturos do parasita no material analisado.

3.2. Exames hematológicos e proteínas séricas

Nos três grupos os valores médios do volume globular (VG) mostraram-se dentro dos padrões de normalidade para a espécie ovina (Tabela 3 e Figura 4A). Porém, o Grupo Infectado foi o que apresentou as duas menores médias de VG, sendo que apenas na última semana de experimento a média deste grupo foi significativamente inferior ($P < 0,05$) aos outros dois grupos.

Em relação à proteína sérica total (Tabela 4 e Figura 4B), o Grupo Infectado apresentou médias estatisticamente inferiores ($P<0,01$) as do Grupo Controle da semana 10 a 12 e em relação ao Grupo *Pair-Fed* da oitava a 13^a semana pós-infecção. O grupo *Pair-Fed* apresentou média estatisticamente superior ($P<0,05$) ao Grupo Controle apenas na segunda semana de experimento.

Quanto aos valores médios das concentrações séricas de albumina (Tabela 5 e Fig. 4C), o Grupo Infectado apresentou médias significativamente inferiores aos outros dois grupos experimentais na sexta e oitava ($P<0,05$), e da nona a 13^a semanas pós-infecção ($P<0,01$). Na sexta semana a média da concentração sérica do Grupo Controle foi significativamente superior ($P<0,05$) a do Grupo *Pair-Fed*.

No que diz respeito à relação albumina/globulinas (Tabela 6 e Figura 4D), o Grupo Infectado apresentou valores significativamente menores do que o Grupo *Pair-Fed* na sétima ($P<0,05$), nona e 10^a ($P<0,01$) e 11^a ($P<0,05$) semanas pós-infecção e em relação ao Grupo Controle na sexta ($P<0,05$), nona, 10^a, 12^a e 13^a ($P<0,01$) semanas pós-infecção. O grupo Controle apresentou valor significativamente maior ($P<0,05$) do que o *Pair-Fed* na quarta semana de experimento.

3.3. Desempenho e consumo alimentar dos animais

A partir da sexta semana as médias de peso vivo do Grupo Infectado foram as mais baixas (Tabela 7). Porém em nenhuma ocasião detectou-se diferença estatística entre as médias dos três grupos ($P>0,05$). Quanto ao ganho de peso médio diário dos animais, o Grupo Controle apresentou o maior ganho de peso ($157,30 \pm 19,86$ g), seguido pelo grupo *Pair-Fed* ($114,40 \pm$

27,72 g). O Grupo Infectado foi o que apresentou o menor ganho de peso médio diário ($95,93 \pm 28,71$ g), o qual diferiu estatisticamente apenas do Grupo Controle ($P < 0,01$). Houve também diferença estatística entre o Grupo Controle e o *Pair-Fed* ($P < 0,01$).

A ração comercial ofertada aos cordeiros dos três grupos experimentais foi consumida em sua totalidade durante o período analisado. Porém, observaram-se diferenças entre os três grupos em relação ao consumo médio diário de feno (Tabela 8). O Grupo Infectado apresentou média estaticamente inferior a do Grupo Controle apenas na nona ($P < 0,01$) e 12^a ($P < 0,05$) semanas pós-infecção. A média de consumo do grupo Controle foi estatisticamente superior a do *Pair-Fed* na sexta, sétima, oitava ($P < 0,05$), nona ($P < 0,01$), 10^a, 11^a ($P < 0,05$), 12^a e 13^a ($P < 0,01$) semana de experimento. Apesar de não haver diferença estatística no consumo de feno do Grupo Infectado e *Pair-Fed*, o consumo deste último grupo mostrou médias levemente inferiores, pois alguns animais não consumiram o feno fornecido em sua totalidade durante todo experimento.

O Grupo Infectado foi o que apresentou a menor conversão alimentar. Os animais deste grupo necessitaram consumir diariamente 1000 g de alimento para ganhar em média $88,81 \pm 21,19$ g de peso corporal, enquanto o Grupo *Pair-Fed* ganhou $112,07 \pm 24,36$ g para cada 1000 g de alimento consumido e o Grupo Controle $129,07 \pm 12,04$ g. A conversão alimentar do Grupo Infectado foi significativamente inferior a dos outros dois grupos ($P < 0,01$). Não houve diferença significativa entre a conversão alimentar do Grupo Controle e *Pair-Fed*.

Dentro do Grupo Infectado observaram-se quatro animais susceptíveis que apresentaram mais de 6000 parasitas adultos e seis animais resistentes com menos de 1600 exemplares adultos de *T. colubriformis*. Verificou-se que o sub-grupo susceptível e o resistente apresentaram respectivamente, ganho de peso médio diário de $96,7 \pm 20,7$ g e de $97,8 \pm 35,0$ g ($P > 0,05$) e conversão alimentar de $87,6 \pm 24,3$ g e de $92,1 \pm 20,8$ g por quilograma de alimento consumido ($P > 0,05$). Ou seja, o desempenho dos animais com carga parasitária elevada foi similar ao desempenho dos animais que albergavam poucos parasitas.

3.4. Eosinófilos sanguíneos

Ocorreu aumento nas médias do número de eosinófilos sanguíneos do Grupo Infectado, as quais foram significativamente mais altas do que as do Grupo Controle nas semanas oito ($P < 0,01$), 11 ($P < 0,05$) e 13 ($P < 0,01$) pós-infecção (Tabela 9 e Figura 5).

3.5. Contagens de eosinófilos, mastócitos e leucócitos globulares na mucosa do intestino delgado e peso de linfonodo duodenal cranial

O Grupo Infectado apresentou médias superiores no número de eosinófilos no duodeno ($P < 0,05$), eosinófilos no jejuno, mastócitos e leucócitos globulares na mucosa do duodeno e jejuno ($P < 0,01$) em comparação com o Grupo Controle (Tabela 10 e Figura 6). A média de peso do linfonodo duodenal cranial do Grupo Infectado foi de $1,79 \pm 0,80$ g e a média do Grupo Controle foi de $0,89 \pm 0,33$ g.

3.6. Concentrações séricas de IgG e IgA anti-L3 e anti-adulto de *T. colubriformis*

O Grupo Infectado apresentou concentrações séricas de IgG anti-L3 de *T. colubriformis* significativamente superiores ao Grupo Controle na quarta e quinta semanas pós-infecção ($P<0,05$), sendo altamente significativa esta diferença ($P<0,01$) da sexta a 13ª semana pós-infecção (Figura 7). Quanto as concentrações de IgG anti-adulto de *T. colubriformis*, as médias do Grupo Infectado foram significativamente superiores na quarta ($P<0,05$) e altamente significativas da quinta a 13ª ($P<0,01$) semana pós-infecção. O Grupo Infectado também apresentou níveis séricos de IgA anti-L3 significativamente superiores ($P<0,05$) ao Grupo Controle na sexta e décima semana pós-infecção, sendo altamente significativa ($P<0,01$) esta diferença na terceira, da sétima a nona e da 11ª a 13ª semana pós-infecção. O Grupo Controle apresentou médias de IgA anti-L3 superiores estatisticamente ($P<0,05$) ao Grupo Infectado nas semanas zero e dois. Já quanto a IgA anti-adulto de *T. colubriformis* observou-se no Grupo Infectado médias significativamente superiores ao Grupo Controle na sexta semana pós-infecção ($P<0,05$), sendo altamente significativas ($P<0,01$) estas diferenças na quinta semana e da sétima a 13ª semanas pós-infecção. Os níveis de IgA anti-L3 e anti-adulto de *T. colubriformis* presentes no muco (Figura 8) do Grupo Infectado foram significativamente superiores ($P<0,05$ e $P<0,01$ respectivamente) aos encontrados no do muco Grupo Controle. Ao final do experimento o cordeiro com maior carga parasitária pertencente ao sub-grupo dos animais susceptíveis apresentou os maiores níveis de todas as imunoglobulinas analisadas em relação aos outros indivíduos do Grupo Infectado.

3.7. Alterações patológicas na mucosa intestinal do duodeno

Por meio de microscopia eletrônica de varredura e histopatologia foram observadas importantes alterações patológicas na superfície da mucosa intestinal do duodeno nos animais infectados em comparação com o Grupo Controle (Figura 9). Dentre as alterações encontradas destacam-se: atrofia generalizada das vilosidades intestinais com formação de túneis no epitélio duodenal; erosão de epitélio; hiperplasia e hipertrofia das criptas intestinais, com aumento no número das células caliciformes e epiteliais, nestas últimas pode-se observar sobreposição dos núcleos celulares; áreas hemorrágicas e infiltrados inflamatórios com predominância de leucócitos mononucleares.

3.8. Correlações entre as variáveis do Grupo Infectado na última colheita de amostras

Não houve associação entre o peso inicial ou o peso final dos animais com a carga parasitária ($r = 0,181$ e $0,328$, respectivamente, $P > 0,05$). Da mesma forma, o número de parasitas não afetou o ganho de peso médio diário ($r = 0,480$; $P > 0,05$), a conversão alimentar ($r = 0,158$; $P > 0,05$) e o consumo diário de feno ($r = 0,329$; $P > 0,05$). O coeficiente de correlação entre a carga parasitária e a contagem de OPG também foi reduzido ($r = 0,300$; $P > 0,05$).

Em relação à associação entre a carga parasitária e as variáveis hematológicas, associação significativa foi observada entre o número de parasitas com a concentração de albumina sérica ($r = -0,720$; $P < 0,05$). A contagem de eosinófilos sanguíneos também não apresentou correlação significativa com a carga parasitária ($r = -0,242$; $P > 0,05$).

As correlações entre as imunoglobulinas e a carga parasitária não foram significativas, a mais elevada foi entre carga parasitária e IgA anti-adulto no

muco ($r = 0,415$; $P > 0,05$). O mesmo aconteceu entre a contagem de células inflamatórias na mucosa e a carga parasitária, o coeficiente mais elevado foi entre mastócitos no jejuno e carga parasitária ($r = -0,489$; $P > 0,05$). O peso do linfonodo duodenal também não apresentou correlação com a carga parasitária ($r = -0,424$; $P > 0,05$).

Outros coeficientes de correlação significativos calculados com os dados do Grupo infectado, obtidos na última colheita de amostras, foram os seguintes: peso inicial x peso final ($r = 0,935$; $P < 0,01$); ganho de peso médio diário x peso final ($r = 0,753$; $P < 0,05$); conversão alimentar x ganho de peso médio diário ($r = 0,657$; $P < 0,05$); relação albumina/globulinas x conversão alimentar ($r = -0,788$; $P < 0,01$); IgG anti-L3 x peso final ($r = -0,744$; $P < 0,05$); IgG anti-L3 x ganho de peso médio diário ($r = -0,834$; $P < 0,01$); IgG anti-adulto x peso inicial ($r = -0,672$; $P < 0,05$); IgG anti-adulto x peso final ($r = -0,825$; $P < 0,01$); IgG anti-adulto x ganho de peso médio diário ($r = -0,805$; $P < 0,01$); IgA anti-L3 x ganho de peso médio diário ($r = -0,724$; $P < 0,05$); eosinófilos sanguíneos x peso inicial ($r = -0,710$; $P < 0,05$); IgA anti-L3 do muco x peso final ($r = -0,639$; $P < 0,05$); eosinófilos sanguíneos x peso final ($r = -0,779$; $P < 0,01$); relação albumina/globulinas x concentração sérica de albumina ($r = 0,913$; $P < 0,01$); leucócitos globulares do jejuno x consumo diário de feno ($r = -0,638$; $P < 0,05$); peso do linfonodo duodenal x volume globular ($r = 0,784$; $P < 0,01$).

Os coeficientes de correlação entre os níveis das imunoglobulinas no soro foram todos positivos e estatisticamente significativos, variaram de 0,744 (IgA anti-adulto x IgG anti-adulto) a 0,942 (IgG anti-adulto x IgG anti-L3). Os níveis de IgA no muco também apresentaram correlação positiva com os níveis séricos de imunoglobulinas, tanto IgG quanto IgA séricas. As correlações

estatisticamente significativas envolvendo IgA do muco foram as seguintes: IgA anti-L3 no muco x IgG sérica anti-L3 ($r = 0,669$; $P < 0,05$); IgA anti-L3 no muco x IgG sérica anti-adulto ($r = 0,740$; $P < 0,05$); IgA anti-L3 no muco x IgA sérica anti-L3 ($r = 0,829$; $P < 0,01$); IgA anti-L3 no muco x IgA sérica anti-adulto ($r = 0,792$; $P < 0,01$); IgA anti-adulto no muco x IgG sérica anti-adulto ($r = 0,654$; $P < 0,05$); IgA anti-adulto no muco x IgA sérica anti-L3 ($r = 0,731$; $P < 0,05$); IgA anti-adulto no muco x IgA sérica anti-adulto ($r = 0,855$; $P < 0,01$); e IgA anti-adulto no muco x IgA sérica anti-L3 no muco ($r = 0,870$; $P < 0,01$).

Os coeficientes entre os números de células na mucosa também foram positivos e os seguintes foram estatisticamente significativos: eosinófilos do jejuno x eosinófilos do duodeno ($r = 0,739$; $P < 0,05$); mastócitos do jejuno x eosinófilos do jejuno ($r = 0,714$; $P < 0,05$); leucócitos globulares do jejuno x mastócitos do jejuno ($r = 0,719$; $P < 0,05$).

4. Discussão

Nos últimos anos, vários estudos têm demonstrado o papel central da resposta imunológica na resistência contra as infecções por nematódeos gastrintestinais na espécie ovina (Peña et al., 2004; Greer et al., 2008). Nesta resposta destacam-se a eosinofilia, o aumento do número de células inflamatórias na mucosa como eosinófilos, mastócitos e leucócitos globulares, além do aumento da produção de imunoglobulinas específicas contra os parasitas. Neste estudo, os cordeiros infectados artificialmente com *T. colubriformis* demonstraram essa resposta imunológica ao contrário dos animais não infectados do Grupo Controle. Em consequência da resposta imunológica, houve baixo percentual de estabelecimento de larvas infectantes administradas nos cordeiros infectados.

Cordeiros da raça Santa Inês que receberam uma única infecção com 4000 larvas de *T. colubriformis* apresentaram, 28 dias pós-infecção, 1473 parasitas, ou seja, 36,8% das larvas administradas deram origem a nematódeos adultos (Almeida, 2009, comunicação pessoal). Esse percentual de estabelecimento relatado acima foi bem superior ao registrado nos animais do presente estudo e evidencia que a resposta imunológica apresentada pelos cordeiros infectados foi capaz de causar redução acentuada na carga parasitária.

Ovinos machos da raça Santa Inês, com aproximadamente um ano de idade, naturalmente infectados com nematódeos gastrintestinais, apresentaram distribuição binominal negativa dos parasitas com média de 4897 exemplares de *T. colubriformis*, com cargas parasitárias que variaram de 290 e 31300 parasitas (Amarante et al., 2004; Amarante et al., 2007). Da mesma forma, no presente estudo houve acentuada variação no número de parasitas entre os animais: alguns cordeiros albergavam poucos parasitas (13 a 1540 nematódeos em seis animais, estabelecimento inferior a 1,6% do inóculo) enquanto outros quatro cordeiros apresentaram carga parasitária relativamente alta. Entretanto a maior carga parasitária foi de 26830 exemplares (27,5% do inóculo), casualmente registrada no animal que apresentou ao final do experimento os mais elevados níveis de anticorpos no sangue e muco e uma das menores contagens de células inflamatórias na mucosa. Esses resultados indicam que provavelmente exista variação na eficiência da atuação dos diferentes elementos envolvidos na resposta imunológica, ou seja, tão importante quanto a quantidade seria a interação e o funcionamento entre si

dos diferentes efetores da resposta (células inflamatórias, anticorpos, citocinas, entre outros elementos imunológicos).

Com base nas contagens de OPG da última semana de experimento e no número de exemplares adultos de parasitas recuperados após exame detalhado do intestino delgado, calculou-se o coeficiente de correlação entre estas duas variáveis, este foi positivo, porém muito baixo ($r = 0,300$). Talvez a resposta imunológica apresentada pelos animais tenha também interferido no padrão de oviposição das fêmeas de *T. colubriformis*.

Tanto nos animais que apresentaram carga parasitária elevada como naqueles com baixo parasitismo houve significativo prejuízo no desempenho produtivo. Portanto, os efeitos do parasitismo foram decorrentes não apenas dos danos diretos causados pelos vermes adultos na mucosa, mas também das alterações imunopatológicas produzidas pelo contato com as larvas infectantes.

Em concordância com os resultados obtidos por Beriajaya e Copeman (2006), a pior conversão alimentar deste estudo foi registrada no Grupo Infectado, o que demonstrou que as lesões produzidas pelos parasitas na mucosa tiveram como consequência um mau funcionamento do intestino delgado, diminuindo a eficiência da digestão e absorção dos nutrientes. Esta hipótese é reforçada quando comparadas as conversões alimentares dos Grupos Infectado e *Pair-Fed*, neste último grupo a conversão foi significativamente maior, mesmo com os animais tendo a sua disposição a mesma quantidade de alimento que os cordeiros infectados. Além disso, é possível que os animais parasitados também tenham requerido uma alta demanda de nutrientes e energia no desenvolvimento e manutenção da

imunidade e na reparação dos tecidos intestinais danificados, priorizando assim sua sobrevivência em detrimento do seu desenvolvimento corporal. Estas observações concordam com os relatos de Yu et al. (2000). Estes autores observaram que o trato gastrintestinal é um tecido altamente competitivo, que necessita principalmente de grande quantidade de aminoácidos para realizar suas funções. A demanda por aminoácidos aumenta nas infecções subclínicas por *T. colubriformis*, em função da necessidade de reparo dos tecidos lesados e da resposta imunológica. Isto resulta em prejuízo no aporte de aminoácidos para outros tecidos, com conseqüente diminuição do anabolismo nos ovinos, que resulta em efeitos deletérios aos índices produtivos dos animais.

Em relação ao consumo alimentar, em apenas duas das semanas experimentais, o Grupo Infectado apresentou esta variável significativamente inferior ao Grupo Controle, ou seja, assim como relatado por Steel et al. (1980) e Symons (1983) houve redução no apetite nos animais parasitados, porém de uma forma mais discreta que nestes outros dois trabalhos. Portanto, aparentemente, a depressão no apetite não foi o principal transtorno causado pelo parasitismo.

Os cordeiros Santa Inês apresentaram a partir da nona e décima semana até o final do experimento diarreia, eliminando cíbalos fecais agregados com aspecto de “cachos de uva” e consistência de semi-sólida a pastosa com grande presença de muco intestinal. Alterações no aspecto e consistência dos cíbalos fecais foram também relatados por Kimambo et al. (1988) e Kyriazakis et al. (1996) em cordeiros infectados artificialmente com *T. colubriformis*. Sinais clínicos como apatia (animais pouco ativos, alimentando-se vagarosamente) e desconforto (animais em constante decúbito

e/ou em postura arqueada) também foram observados na nona e 11^a semana pós-infecção com duração de uma semana, em três indivíduos do Grupo Infectado, os quais apresentaram ao final deste estudo as menores cargas parasitárias. Os diferentes sinais clínicos exibidos pelos animais do Grupo Infectado resistentes como também nos mais susceptíveis reforçam mais ainda que tanto o parasitismo direto por *T. colubriformis*, bem como a resposta imunológica contra estes nematódeos possuem ação deletéria à sanidade dos ovinos.

Os valores de VG em ovinos hígidos variam entre 27% a 45% (Pugh, 2005), portanto, as médias de VG dos três grupos mostraram-se dentro dos padrões normais da espécie ovina, porém observou-se uma tendência a redução dos valores de VG nos animais infectados a partir da nona semana pós-infecção, sendo esta redução confirmada na última semana de experimento, onde a média do Grupo Infectado foi significativamente inferior aos demais grupos, provavelmente devido as hemorragias causadas na mucosa intestinal pelo parasitismo e diminuição da disponibilidade de nutrientes essenciais a eritropoiese. Quanto aos níveis de proteínas séricas totais, o Grupo Infectado apresentou valores menores aos demais grupos, sendo estes valores também abaixo da normalidade de 6,0 a 7,9 g/dL da espécie (Pugh, 2005) em praticamente toda a segunda metade das semanas do experimento. A diminuição nas concentrações séricas de albumina do Grupo Infectado teve grande destaque, uma vez que esteve abaixo dos outros grupos durante toda a segunda metade deste estudo, além de quase alcançar em vários momentos os valores mínimos da espécie ovina de 2,4 g/dL (Pugh, 2005), esta variável também demonstrou correlação alta e negativa ($r = -0,720$)

com a carga parasitária dos animais infectados. Desta forma, assim como observado por Steel et al. (1980), os animais altamente parasitados tendem a ter maiores perdas desta importante proteína sérica, uma vez que tecidos altamente lesados sofrem forte exsudação desta proteína, além de que grande parte dos aminoácidos absorvidos pelo organismo são disponibilizados na produção de globulinas, principalmente imunoglobulinas, o que também pode ser observado neste experimento, uma vez que o período de maior concentração de globulinas (caracterizado pela menor relação albumina/globulinas) coincidiu com os maiores níveis de todas as imunoglobulinas analisadas. Baixas concentrações séricas de albumina podem prejudicar o metabolismo dos animais, pois esta é responsável pelo transporte de diversas substâncias na circulação sanguínea.

No curto período de duração deste experimento (três meses), não foi possível evidenciar a chamada resiliência (tolerância) dos animais ao parasitismo, apenas pode-se observar que alguns animais apresentaram resistência ou suscetibilidade em relação ao estabelecimento dos parasitas. De acordo com (Albers et al., 1987), os animais tolerantes seriam aqueles que apresentariam redução mínima da produtividade quando parasitados. No presente experimento, os animais parasitados tiveram redução média de 31,2% na conversão alimentar e 39% no ganho de peso médio diário quando comparados aos do Grupo Controle, respectivamente. Essas reduções podem ser consideradas acentuadas e possivelmente teriam implicações na rentabilidade e viabilidade comercial da atividade.

Uma das medidas destinadas a preservar a eficácia dos anti-helmínticos é a utilização de tratamentos seletivos. No caso de regiões de ocorrência de

H. contortus, o mais difundido é o método FAMACHA, no qual, além do tratamento apenas de animais anêmicos, preconiza-se a manutenção dos animais em pastagens contaminadas com larvas infectantes de nematódeos, onde haja a preservação da população “*in refugia*” (Van Wyk et al., 2006). Não há dúvidas de que a aplicação de tal método permite a preservação da vida dos animais, porém faz-se necessário realizar estudos mais detalhados sobre o impacto econômico de tal método na ovinocultura, uma vez que ele negligencia os efeitos do parasitismo por *T. colubriformis*. Os resultados do presente experimento indicaram que a exposição de animais jovens da raça Santa Inês às larvas infectantes de *T. colubriformis* reduz de forma significativa o desempenho dos animais, sendo causa de importante prejuízo a ovinocultura. Portanto, caso se opte pelo tratamento seletivo dos animais, outras duas variáveis deveriam ser incluídas para a identificação dos animais a serem tratados com anti-helmínticos: o desempenho (ganho de peso) e a consistência das fezes.

Diante disso, em relação ao parasitismo por *T. colubriformis*, seria interessante que os animais fossem mantidos, dentro do possível em ambientes com baixa contaminação por larvas infectantes. Nesse contexto, a seleção de animais resistentes para esta espécie de nematódeo também seria uma medida profilática. Os indivíduos resistentes eliminariam apenas pequena quantidade de ovos em suas fezes, conseqüentemente diminuiriam a contaminação das pastagens com larvas infectantes. A baixa incidência das L3 infectantes no ambiente levaria a diminuições significativas na exposição dos rebanhos as infecções, o que suavizaria os prejuízos na produtividade, causados tanto pelo parasitismo quanto pela resposta imunopatológica.

Animais mais resistentes permitem também a diminuição na frequência de tratamentos com drogas anti-helmínticas, reduzindo também o surgimento de populações de *T. colubriformis* resistentes a estes medicamentos.

Os resultados do presente trabalho discordam em parte da sugestão de seleção de animais com baixa reposta imune as infecções por *T. colubriformis* apontada por Larsen et al. (1994), Larsen et al. (1999) e Morris et al. (2000), porém, é necessário ressaltar que estes estudos foram realizados na Nova Zelândia, nas raças Merino e Rommey, sendo a ocorrência de diarreia o principal efeito patogênico encontrado nos ovinos resistentes, a qual diminui a qualidade da lã dos animais, causando importantes prejuízos a esta atividade. Obviamente, futuros estudos a campo, com longa duração, onde os animais são expostos a infecções naturais com grande número de larvas infectantes, devem de ser realizados para se confirmar a eficácia profilática e o impacto epidemiológico da seleção de ovinos resistentes às infecções por *T. colubriformis* de raças nacionais e produtoras de carne como a Santa Inês.

Portanto as infecções artificiais por *T. colubriformis* causaram impacto negativo no desempenho dos cordeiros Santa Inês, já a resposta imune apresentada pelos mesmos impediu o estabelecimento das larvas infectantes, porém interferiu também na produtividade dos animais. A exemplo de Greer et al. (2005) e Greer et al. (2008) que observaram, por meio de imunossupressão com corticóides, significativa melhoria dos índices produtivos e diminuição da ação deletéria da resposta imune em ovinos infectados respectivamente com *T. colubriformis* e *Teladorsagia circumcincta*, novas pesquisas devem ser realizadas no intuito de obter uma maior compreensão do impacto dos efeitos

imunopatológicos também nos cordeiros da raça Santa Inês infectados com *T. colubriformis*.

Referências Bibliográficas

ALBERS, G. A. A.; GRAY, G. D.; PIPER, L. R.; BARKER, J. S. F.; LE JAMBRE, L. F.; BARGER, I. A. The genetic resistance and resiliense to *Haemonchus contortus* infection in young Merino sheep. **Int. J. Parasitol.**, v.17, p.1355-1363, 1987.

ALMEIDA, F. A. **Caracterização da resistência a anti-helmínticos de isolados de *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus colubriformis*, parasitas de ovinos.** Botucatu, 2009. Dissertação de Mestrado em andamento.

AMARANTE, A. F. T.; BARBOSA, M. A.; OLIVEIRA, M. A. G.; CARMELLO, M. J.; PADOVANI, C. R. Efeito da administração de oxfendazol, ivermectina e levamisol sobre os exames coproparasitológicos de ovinos. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.29, p.31-38, 1992.

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

AMARANTE, A. F. T. **Resistência de cordeiros das raças Santa Inês, Suffolk e Ile de France às infecções naturais por nematódeos gastrintestinais.** Botucatu, 2002. 167p. Tese (livre-docência) – IB, Universidade Estadual Paulista.

AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A.; ROCHA, R. A.; GENNARI, S.M. Resistance of Santa Inês, Suffolk and Ile de France sheep to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Vet. Parasitol.** v.120, p.91-106, 2004.

AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A.; ROCHA, R. A. Relationship of intestinal histology with the resistance to *Trichostrongylus colubriformis* infection in three breeds of sheep. **Pesq. Vet. Bras.**, v.27, p.43-48, 2007.

BARKER, I. K. Scanning electron microscopy of the duodenal mucosa of lambs infected with *Trichostrongylus colubriformis*. **Parasitology**, v.3, p.307-314, 1973a.

BARKER, I. K. A study of pathogenesis of *Trichostrongylus colubriformis* infection in lambs with observations on the contribution of gastrointestinal plasma loss. **Int. J. Parasitol.**, v.3, p.743-757, 1973b.

BARKER, I. K. Intestinal pathology associated with *Trichostrongylus colubriformis* infection in sheep: Histology. **Parasitology**, v.70, p.165-171, 1975a.

BARKER, I.K. Intestinal pathology associated with *Trichostrongylus colubriformis* infection in sheep: vascular permeability and ultrastructure of the mucosa. **Parasitology**, v.70, p.173-80, 1975b.

BAHIRATHAN, M.; MILLER, J. E.; BARRAS, S. R.; KEARNEY, M. T. Susceptibility of Suffolk and Gulf Coast Native suckling lambs to naturally acquired strongylate nematode infection. **Vet. Parasitol.**, v.65, p.259-268, 1996.

BERIAJAYA; COPEMAN, D.B. *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in pen-trials with Javanese thin tail sheep and Kacang cross Etawah goats. **Vet. Parasitol.**, v.135, p.315-323, 2006.

BRICARELLO, P. A.; AMARANTE, A. F. T.; ROCHA, R. A.; CABRAL FILHO, S. L.; HUNTLEY, J. F.; HOUDIK, J. G.; ABDALLA, A. L.; GENNARI, S. M. Influence of dietary protein supply on resistance to experimental infections with *Haemonchus contortus* in Ile de France and Santa Ines lambs. **Vet. Parasitol.**, v. 135, p. 99-109, 2005.

BUENO, M. S.; CUNHA, E. A.; VERÍSSIMO, C. J.; SANTOS, L. E.; LARA, M. A. C.; OLIVEIRA, S. M.; SPÓSITO FILHA, E.; REBOUÇAS, M. M. Infección por nematodos em razas de ovelhas carnicas criadas intensivamente em La região Del sudeste Del Brasil. **Arch. Zootec.**, v.51, p.273-280, 2002.

COOP, R. L.; ANGUS K. W. The effect of continuous doses of *Trichostrongylus colubriformis* larvae on the intestinal mucosa of sheep and on liver vitamin A concentration. **Parasitology**. v.70, p.1-9, 1975.

DAWKINS, H. J. S.; WINDOW, R. G.; EAGLESON, G. K. Eosinophil responses in sheep selected for high and low responsiveness to *Trichostrongylus colubriformis*. **Int. J. Parasitol.**, v.19, p.199-205, 1989.

GREER, A. W.; STANKIEWICZ, M.; JAY, N. P.; MCANULTY, R. W.; SYKES, A. R. The effect of concurrent corticosteroid-induced immuno-suppression and infection with the intestinal parasite *Trichostrongylus colubriformis* on feed intake and utilization in both immunologically naive and competent sheep. **Anim. Sci.**, v. 80, p.89–99, 2005.

GREER, A. W.; HUNTLEY, J. F.; MACKELLAR, A.; McAnulfy, R. W.; JAY, N. P.; GREEN, R. S.; STANKIEWICZ, M.; SYKES, A. R. The effect of corticosteroid treatment on local immune responses, intake and performance in lambs infected with *Teladorsagia circumcincta*. **Int. J. Parasitol.**, v.38, p. 1717-1728, 2008.

GREGORY, P. C.; WENHAM, G., POPPI, D.; COOP, R. L.; MACRAE, J.C.; MILLER, S. J. The influence of a chronic subclinical infection of *Trichostrongylus colubriformis* on gastrointestinal motility and digesta flow in sheep. **Parasitology**, v.91, p.381-396, 1985.

HORTON, G. M. J. Selenium and vitamin E for lambs with Trichostongylosis. **J. Anim. Sci.** v.45, p.891-895, 1977.

JONES, D. C. Intestinal enzyme activity in lams chronically infected with *Trichostrongylus colubriformis*: Effect of anthelmintic treatment. **Vet. Parasitol.** v.12, p.79-89, 1983.

KANOBANA, K.; PLOEGER, H.W.; VERVELDE, L. Immune expulsion of the trichostrongylid *Cooperia oncophora* is associated with increased eosinophilia and mucosal IgA. **Int. J. Parasitol.**, v.32, p.1389-1398, 2002.

KEITH, R. K. The differentiation of infective larvae of some common nematode parasites of cattle. **Aust. J. Zool.**, v.1, p.223-235, 1953.

KIMAMBO, A. E.; MacRAE; WALKER, A.; WATT, C. F.; COOP, R. L. Effect of prolonged subclinical infection with *Trichostrongylus colubriformis* on the performance and nitrogen metabolism of growing lambs. **Vet. Parasitol.**, v.28, p.191-203, 1988.

KYRIAZAKIS, I.; ANDERSON, D. H.; OLDHAM, J. D.; COOP, R. L.; JACKSON, F. Long-term subclinical infection with *Trichostrongylus colubriformis*: effects on food intake, diet selection and performance of growing lambs. **Vet. Parasitol.**, v.61, p.297-313, 1996.

LARSEN, J.W.; ANDERSON, N.; VIZARD, A.L., ANDERSON, G.A.; HOSTE, H. Diarrhoea in merino ewes during winter: association with trichostrongylid larvae. **Aust.Vet. J.** v.71, p.365-372, 1994.

LARSEN, J.W.; ANDERSON, N.; VIZARD, A.L. The pathogenesis and control of diarrhea and breech soiling in adult Merino sheep. **Int. J. Parasitol.**, v.29, p.893-902, 1999.

MAFF. **Manual of veterinary parasitological laboratory techniques**. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, London, 1986. 159 p.

MORAES, F. R.; THOMAZ-SOCCOL, V.; ROSSI JUNIOR, P.; WOLFF, F. M.; CASTILHO, G. G. Suscetibilidade de ovinos das raças Suffolk e Santa Inês à infecção natural por tricostrongilídeos. **Arch. Vet. Sci.**, v.6, p.63-69, 2000.

MORRIS, C. A.; VLASSOF, A.; BISSET, S. A.; BAKER, R. L.; WATSON, T. G.; WEST, C. J.; WHEELER, M. Continued selection of Romney sheep for resistance or susceptibility to nematode infection: estimates of direct and correlated responses. **Anim. Sci.**, v.70, p. 17-27, 2000.

PEÑA, M. T.; MILLER, J. E.; HOROHOV, D. W. Effect of dexamethasone treatment on the immune response of Gulf Coast Native lambs to *Haemonchus contortus* infection. **Vet. Parasitol.**, v. 119, p.223–235, 2004.

PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. 1ed. Roca, São Paulo, 2005. 513p.

ROCHA, R. A.; AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A. Comparison of the susceptibility of Santa Ines and Ile de France ewes to nematode parasitism around parturition and during lactation. **Small Rumin. Res.**, v.55, p.65-75, 2004.

ROCHA, R. A.; AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A. Resistance of Santa Ines and Ile de France suckling lambs to gastrointestinal nematodes infections. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v.14, p.17-20, 2005.

ROCHA, R. A.; BRICARELLO, P.A.; ROCHA, G. P.; AMARANTE, A. F. T. . Recuperação de larvas de larvas de *Trichostrongylus colubriformis* em diferentes estratos de *Brachiaria decumbens* e *Panicum maximum*. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 16, p. 77-82, 2007.

ROSEBY, F. B. Effects of *Trichostrongylus colubriformis* (Nematoda) on nutrition and metabolismo f sheep. I. Feed intake, digestion and utilization. **Aust. J. Agri. Res.**, v.24, p.947-953, 1973.

STEEL, J. W; SYMONS, L. E. A.; JONES, W. O. Effects of level of larval intake on the productivity and physiological and Metabolic responses of lambs infected with *Trichostrongylus colubriformis*. **Aust. J. Agri. Res.** v.31, p.821-838, 1980.

SYMONS, L. E. A. Plasma zinc and inappetence in sheep infected with *Trichostrongylus colubriformis*. **J. Comp. Path.**, v.93, p.547-550, 1983.

UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 4 ed. Japan International Cooperation Agency, Tokyo, 1998. 143p.

VAN WYK, J. A.; HOSTE, H.; KAPLAN, R. M.; BESIER, R. B. Targeted selective treatment form worm management – how do we sell rational programs to farmers? **Vet. Parasitol.**, v.139, p. 336-346, 2006.

YU, F.; BRUCE, L.A.; CALDER, A. G.; MILNE, E.; COOP, R. L.; JACKSON, F.; HORGAN, G. W.; MACRAE, J. C. Subclinical infection with the nematode *Trichostrongylus colubriformis* increases gastrointestinal tract leucine metabolism and deduces availability for other tissues. **J. Anim. Sci.**, v.78, p.380-390, 2000.

Tabela 1. Valores médios ($\pm$ desvio padrão) da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriiformis* e alimentado *ad libitum*, ao longo de 13 semanas.

Semana	OPG
0	0,00 $\pm$ 0,00
1	0,00 $\pm$ 0,00
2	0,00 $\pm$ 0,00
3	70,00 $\pm$ 82,33
4	720,00 $\pm$ 352,14
5	520,00 $\pm$ 423,74
6	507,60 $\pm$ 460,93
7	300,00 $\pm$ 278,89
8	284,20 $\pm$ 608,42
9	512,20 $\pm$ 775,51
10	168,00 $\pm$ 349,72
11	504,10 $\pm$ 516,07
12	614,80 $\pm$ 446,29
13	754,00 $\pm$ 530,32

Tabela 2. Carga parasitária dos cordeiros da raça Santa Inês, infectados três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis* e alimentado *ad libitum*, ao longo de 13 semanas (Total de 97500 L3 infectantes).

Animal Identificação	Número de Machos	Número de Fêmeas	Carga Parasitária Total
C60	12690	14140	26830
453	380	869	1249
1206	10	6	16
C63	25	33	58
B1	2	11	13
1179	2630	3680	6310
B9	5290	8580	13870
B13	247	1293	1540
2148	5284	7268	12552
134	281	739	1020

Tabela 3. Valores médios ($\pm$ desvio padrão) do volume globular (VG) dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis* e alimentado *ad libitum* (Infectado), grupo não infectado e alimentado *ad libitum* (Controle) e grupo *Pair-Fed*.

Semana	Infectado	Controle	Pair-Fed
0	34,20 $\pm$ 3,26	35,60 $\pm$ 1,43	33,60 $\pm$ 3,20
1	33,30 $\pm$ 2,58	32,70 $\pm$ 2,21	32,50 $\pm$ 2,76
2	35,00 $\pm$ 2,26	34,40 $\pm$ 1,96	34,10 $\pm$ 2,69
3	32,90 $\pm$ 2,13	32,30 $\pm$ 2,41	33,10 $\pm$ 3,03
4	33,30 $\pm$ 2,06	32,20 $\pm$ 1,93	33,00 $\pm$ 2,83
5	33,00 $\pm$ 1,56	32,20 $\pm$ 1,78	32,30 $\pm$ 4,40
6	32,20 $\pm$ 2,25	32,30 $\pm$ 1,34	32,40 $\pm$ 2,41
7	32,40 $\pm$ 2,12	32,20 $\pm$ 1,93	32,80 $\pm$ 2,70
8	32,70 $\pm$ 1,57	32,60 $\pm$ 1,35	32,30 $\pm$ 2,31
9	31,30 $\pm$ 1,83	32,70 $\pm$ 1,83	33,00 $\pm$ 1,56
10	32,00 $\pm$ 1,33	33,50 $\pm$ 2,07	32,00 $\pm$ 2,54
11	29,40 $\pm$ 2,95	32,00 $\pm$ 3,92	31,80 $\pm$ 2,15
12	31,30 $\pm$ 2,91	32,10 $\pm$ 1,37	30,50 $\pm$ 3,27
13	29,80 $\pm$ 1,55a	32,70 $\pm$ 2,50b	32,30 $\pm$ 2,41b

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa ($P < 0,05$).

Tabela 4. Valores médios ($\pm$ desvio padrão) de proteína sérica total (g/dL) dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis* e alimentado *ad libitum* (Infectado), grupo não infectado e alimentado *ad libitum* (Controle) e grupo *Pair-Fed*.

Semana	Infectado	Controle	Pair-Fed
0	6,08 $\pm$ 0,18	6,12 $\pm$ 0,56	6,49 $\pm$ 0,49
1	6,15 $\pm$ 0,17	6,23 $\pm$ 0,53	6,60 $\pm$ 0,51
2	6,50 $\pm$ 0,50	6,35 $\pm$ 0,39a*	6,86 $\pm$ 0,28b*
3	6,60 $\pm$ 0,49	6,72 $\pm$ 0,55	7,10 $\pm$ 0,38
4	6,23 $\pm$ 0,42	6,24 $\pm$ 0,36	6,53 $\pm$ 0,39
5	6,33 $\pm$ 0,80	6,24 $\pm$ 0,32	6,86 $\pm$ 0,65
6	6,22 $\pm$ 0,34	6,20 $\pm$ 0,28	6,47 $\pm$ 0,31
7	5,50 $\pm$ 1,32	6,44 $\pm$ 0,44	6,56 $\pm$ 0,88
8	5,69 $\pm$ 0,45a**	6,05 $\pm$ 0,28	6,39 $\pm$ 0,26b**
9	5,92 $\pm$ 0,39a**	6,19 $\pm$ 0,20	6,54 $\pm$ 0,41b**
10	5,61 $\pm$ 0,38a**	6,21 $\pm$ 0,35b**	6,37 $\pm$ 0,31b**
11	6,24 $\pm$ 0,38a**	6,84 $\pm$ 0,48b**	6,96 $\pm$ 0,52b**
12	5,66 $\pm$ 0,44a**	6,12 $\pm$ 0,28b**	6,39 $\pm$ 0,35b**
13	6,36 $\pm$ 0,38a**	6,74 $\pm$ 0,37	7,02 $\pm$ 0,41b**

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa. Símbolos * e ** indicam diferença significativa com $P < 0,05$ e $P < 0,01$, respectivamente.

Tabela 5. Valores médios ($\pm$ desvio padrão) das concentrações séricas de albumina (g/dL) dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis* e alimentado *ad libitum* (Infectado), grupo não infectado e alimentado *ad libitum* (Controle) e grupo *Pair-Fed*.

Semana	Infectado	Controle	Pair-Fed
0	3,01 $\pm$ 0,44	3,07 $\pm$ 0,40	2,82 $\pm$ 0,25
1	2,76 $\pm$ 0,21	2,83 $\pm$ 0,13	2,82 $\pm$ 0,22
2	2,95 $\pm$ 0,28	3,02 $\pm$ 0,25	2,90 $\pm$ 0,18
3	2,95 $\pm$ 0,28	3,05 $\pm$ 0,27	3,06 $\pm$ 0,18
4	2,66 $\pm$ 0,29	2,78 $\pm$ 0,19	2,61 $\pm$ 0,20
5	2,98 $\pm$ 0,35	2,78 $\pm$ 0,26	3,18 $\pm$ 0,24
6	2,99 $\pm$ 0,27a*	3,31 $\pm$ 0,22b*	3,27 $\pm$ 0,29ab*
7	2,87 $\pm$ 0,97	3,08 $\pm$ 0,76	3,64 $\pm$ 0,78
8	2,40 $\pm$ 0,36a*	2,86 $\pm$ 0,49b*	2,90 $\pm$ 0,20b*
9	2,59 $\pm$ 0,27a**	3,26 $\pm$ 0,24b**	3,29 $\pm$ 0,24b**
10	2,28 $\pm$ 0,26a**	2,97 $\pm$ 0,38b**	2,98 $\pm$ 0,26b**
11	2,76 $\pm$ 0,24a**	3,43 $\pm$ 0,33b**	3,55 $\pm$ 0,40b**
12	2,68 $\pm$ 0,27a**	3,50 $\pm$ 0,21b**	3,45 $\pm$ 0,31b**
13	2,82 $\pm$ 0,44a**	3,59 $\pm$ 0,37b**	3,43 $\pm$ 0,29b**

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa. Símbolos * e ** indicam diferença significativa com $P < 0,05$ e $P < 0,01$, respectivamente.

Tabela 6. Valores médios ($\pm$ desvio padrão) da relação albumina/globulinas dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis* e alimentado *ad libitum* (Infectado), grupo não infectado e alimentado *ad libitum* (Controle) e grupo *Pair-Fed*.

Semana	Infectado	Controle	Pair-Fed
0	1,02 $\pm$ 0,29	1,08 $\pm$ 0,43	0,79 $\pm$ 0,16
1	0,82 $\pm$ 0,13	0,84 $\pm$ 0,11	0,76 $\pm$ 0,16
2	0,86 $\pm$ 0,19	0,94 $\pm$ 0,23	0,74 $\pm$ 0,10
3	0,82 $\pm$ 0,17	0,87 $\pm$ 0,22	0,77 $\pm$ 0,13
4	0,76 $\pm$ 0,16	0,82 $\pm$ 0,15a*	0,67 $\pm$ 0,07b*
5	0,90 $\pm$ 0,13	0,82 $\pm$ 0,18	0,88 $\pm$ 0,13
6	0,94 $\pm$ 0,18a*	1,16 $\pm$ 0,19b*	1,03 $\pm$ 0,15
7	1,07 $\pm$ 0,28a*	1,32 $\pm$ 0,08	1,41 $\pm$ 0,32b*
8	0,73 $\pm$ 0,11	0,93 $\pm$ 0,25	0,84 $\pm$ 0,13
9	0,78 $\pm$ 0,09a**	1,12 $\pm$ 0,18b**	1,03 $\pm$ 0,18b**
10	0,69 $\pm$ 0,11a**	0,95 $\pm$ 0,25b**	0,90 $\pm$ 0,16b**
11	0,80 $\pm$ 0,10a*	1,04 $\pm$ 0,23	1,09 $\pm$ 0,33b*
12	0,93 $\pm$ 0,22a**	1,37 $\pm$ 0,28b**	1,22 $\pm$ 0,34
13	0,82 $\pm$ 0,21a**	1,15 $\pm$ 0,17b**	0,97 $\pm$ 0,17

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa. Símbolos * e ** indicam diferença significativa com $P < 0,05$ e $P < 0,01$, respectivamente.

Tabela 7. Médias de peso vivo (Kg) ($\pm$ desvio padrão) dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis* e alimentado *ad libitum* (Infectado), grupo não infectado e alimentado *ad libitum* (Controle) e grupo *Pair-Fed*.

Semana	Infectado	Controle	Pair-Fed
0	20,44 $\pm$ 4,84	20,20 $\pm$ 5,03	20,65 $\pm$ 3,96
1	21,77 $\pm$ 5,42	21,60 $\pm$ 5,13	21,95 $\pm$ 4,57
2	22,48 $\pm$ 5,37	22,41 $\pm$ 5,14	22,56 $\pm$ 4,95
3	23,47 $\pm$ 5,98	23,61 $\pm$ 5,50	23,32 $\pm$ 4,76
4	24,56 $\pm$ 6,22	25,18 $\pm$ 5,81	24,49 $\pm$ 5,11
5	25,37 $\pm$ 6,46	25,18 $\pm$ 6,04	25,12 $\pm$ 5,05
6	26,11 $\pm$ 6,56	27,47 $\pm$ 5,92	26,31 $\pm$ 5,42
7	26,34 $\pm$ 6,68	28,70 $\pm$ 6,25	26,94 $\pm$ 5,28
8	27,28 $\pm$ 6,88	29,92 $\pm$ 6,15	28,06 $\pm$ 5,80
9	27,38 $\pm$ 7,17	30,89 $\pm$ 6,47	28,71 $\pm$ 6,19
10	28,42 $\pm$ 7,34	32,47 $\pm$ 6,84	30,48 $\pm$ 5,87
11	29,11 $\pm$ 7,39	33,74 $\pm$ 6,82	31,47 $\pm$ 6,25
12	29,45 $\pm$ 7,28	34,57 $\pm$ 6,89	32,11 $\pm$ 6,29
13	29,17 $\pm$ 6,49	34,51 $\pm$ 6,77	31,06 $\pm$ 5,42

Não houve diferença estatística significativa ($P > 0,05$) entre as médias de peso dos animais pertencentes aos três grupos experimentais.

Tabela 8. Consumo médio diário de feno (g) ($\pm$ desvio padrão) dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis* e alimentado *ad libitum* (Infectado), grupo não infectado e alimentado *ad libitum* (Controle) e grupo *Pair-Fed*.

Semana	Infectado	Controle	Pair-Fed
1	408,50 $\pm$ 97,55	375,21 $\pm$ 114,40	425,37 $\pm$ 80,98
2	429,50 $\pm$ 104,52	418,93 $\pm$ 92,34	426,00 $\pm$ 103,19
3	470,86 $\pm$ 106,95	440,93 $\pm$ 101,81	454,14 $\pm$ 100,82
4	468,07 $\pm$ 117,84	467,14 $\pm$ 110,20	465,14 $\pm$ 115,99
5	489,00 $\pm$ 124,34	493,00 $\pm$ 115,48	486,00 $\pm$ 123,52
6	506,57 $\pm$ 128,63	524,29 $\pm$ 120,34a*	512,00 $\pm$ 139,74b*
7	521,86 $\pm$ 130,90	557,57 $\pm$ 124,20a*	491,79 $\pm$ 119,21b*
8	528,29 $\pm$ 133,29	574,36 $\pm$ 105,81a*	520,64 $\pm$ 135,23b*
9	554,43 $\pm$ 151,80a**	595,86 $\pm$ 122,81b**	541,86 $\pm$ 136,68a**
10	552,14 $\pm$ 142,44	619,79 $\pm$ 128,05a*	551,29 $\pm$ 141,47b*
11	567,14 $\pm$ 148,75	626,21 $\pm$ 161,91a*	566,57 $\pm$ 145,94b*
12	573,36 $\pm$ 138,18a**	662,36 $\pm$ 137,54b**	580,21 $\pm$ 147,88a**
13	589,93 $\pm$ 146,38	691,00 $\pm$ 137,05a**	588,86 $\pm$ 146,69b**

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa. Símbolos * e ** indicam diferença significativa com $P < 0,05$ e $P < 0,01$, respectivamente.

Tabela 9. Valores médios de eosinófilos sangüíneos (células/mL) ($\pm$ desvio padrão) dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis* e alimentado *ad libitum* (Infectado) e grupo não infectado e alimentado *ad libitum* (Controle).

Semana	Infectado	Controle
0	95,00 $\pm$ 97,04	142,50 $\pm$ 101,41
1	137,50 $\pm$ 159,53	267,50 $\pm$ 236,89
2	45,00 $\pm$ 55,03	130,00 $\pm$ 113,53
3	117,50 $\pm$ 126,96	122,50 $\pm$ 86,16
4	345,00 $\pm$ 622,14	217,50 $\pm$ 166,27
5	82,501 $\pm$ 09,96	217,50 $\pm$ 80,62
6	365,00 $\pm$ 287,03	147,50 $\pm$ 192,01
7	380,00 $\pm$ 254,62	217,50 $\pm$ 169,99
8	935,00 $\pm$ 882,33a**	140,00 $\pm$ 117,38b**
9	797,501 $\pm$ 010,39	122,50 $\pm$ 130,41
10	687,50 $\pm$ 604,53	65,00 $\pm$ 63,68
11	1105,00 $\pm$ 1261,16a*	240,00 $\pm$ 428,21b*
12	955,00 $\pm$ 1070,75	235,00 $\pm$ 381,01
13	1292,50 $\pm$ 1273,07a**	65,00 $\pm$ 60,32b**

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa. Símbolos * e ** indicam diferença significativa com $P < 0,05$ e $P < 0,01$, respectivamente.

Tabela 10. Valores médios do número de eosinófilos, mastócitos e leucócitos globulares ($\pm$ desvio padrão) por mm^2 da mucosa do duodeno e jejuno dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis* e alimentado *ad libitum* (Infectado) e grupo não infectado e alimentado *ad libitum* (Controle).

Células/segmento intestinal	Infectado	Controle
Eosinófilos/duodeno	180,58 $\pm$ 74,99a*	106,60 $\pm$ 77,62b*
Eosinófilos/jejuno	269,93 $\pm$ 84,61a**	76,06 $\pm$ 28,43b**
Mastócitos/duodeno	49,68 $\pm$ 34,04a**	8,53 $\pm$ 9,19b**
Mastócitos/jejuno	84,89 $\pm$ 49,47a**	30,05 $\pm$ 35,90b**
Leucócitos globulares/duodeno	32,63 $\pm$ 14,93a**	7,73 $\pm$ 4,18b**
Leucócitos globulares/jejuno	44,33 $\pm$ 28,12a**	8,53 $\pm$ 5,92b**

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa. Símbolos * e ** indicam diferença significativa com $P < 0,05$ e $P < 0,01$, respectivamente.

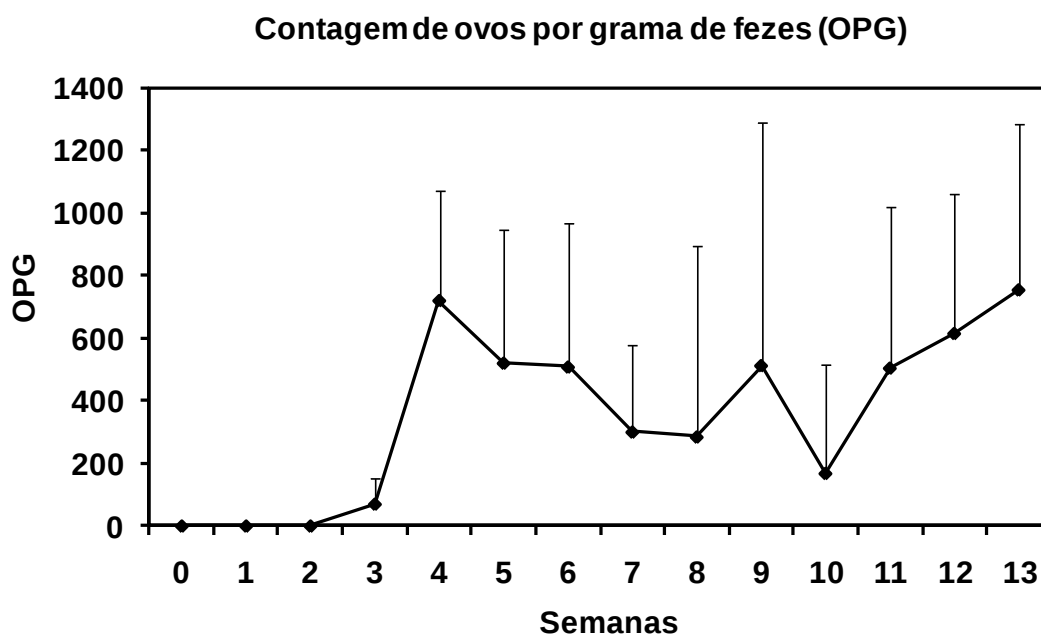


Figura 1. Valores médios da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis* e alimentado *ad libitum*. Barras: desvio padrão.

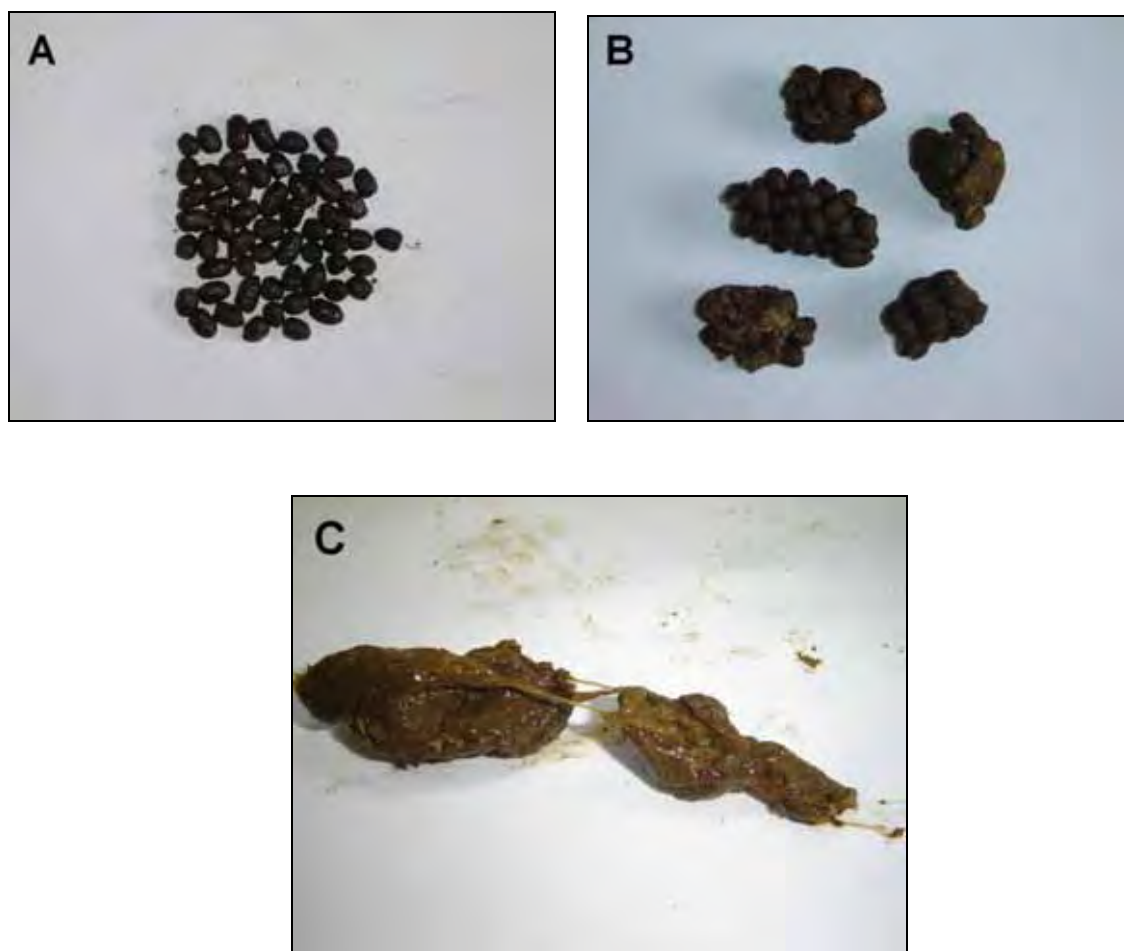


Figura 2. Amostra de cíbalos fecais dos animais do Grupo Controle com aspecto normal (A); amostra de cíbalos fecais dos animais do Grupo Infectado com aspecto de “cacho de uva” (B); fezes amolecidas envoltas por muco denso abundante em um dos animais do Grupo Infectado (C).

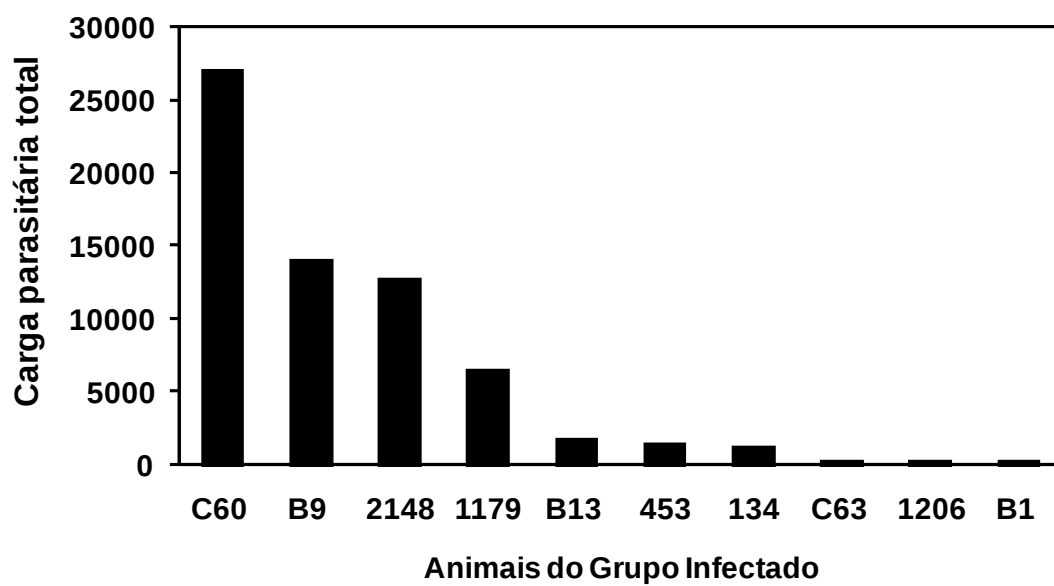


Figura 3 Carga parasitária dos cordeiros da raça Santa Inês, infectados três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis* e alimentado *ad libitum*, ao longo de 13 semanas (Total de 97500 L3).

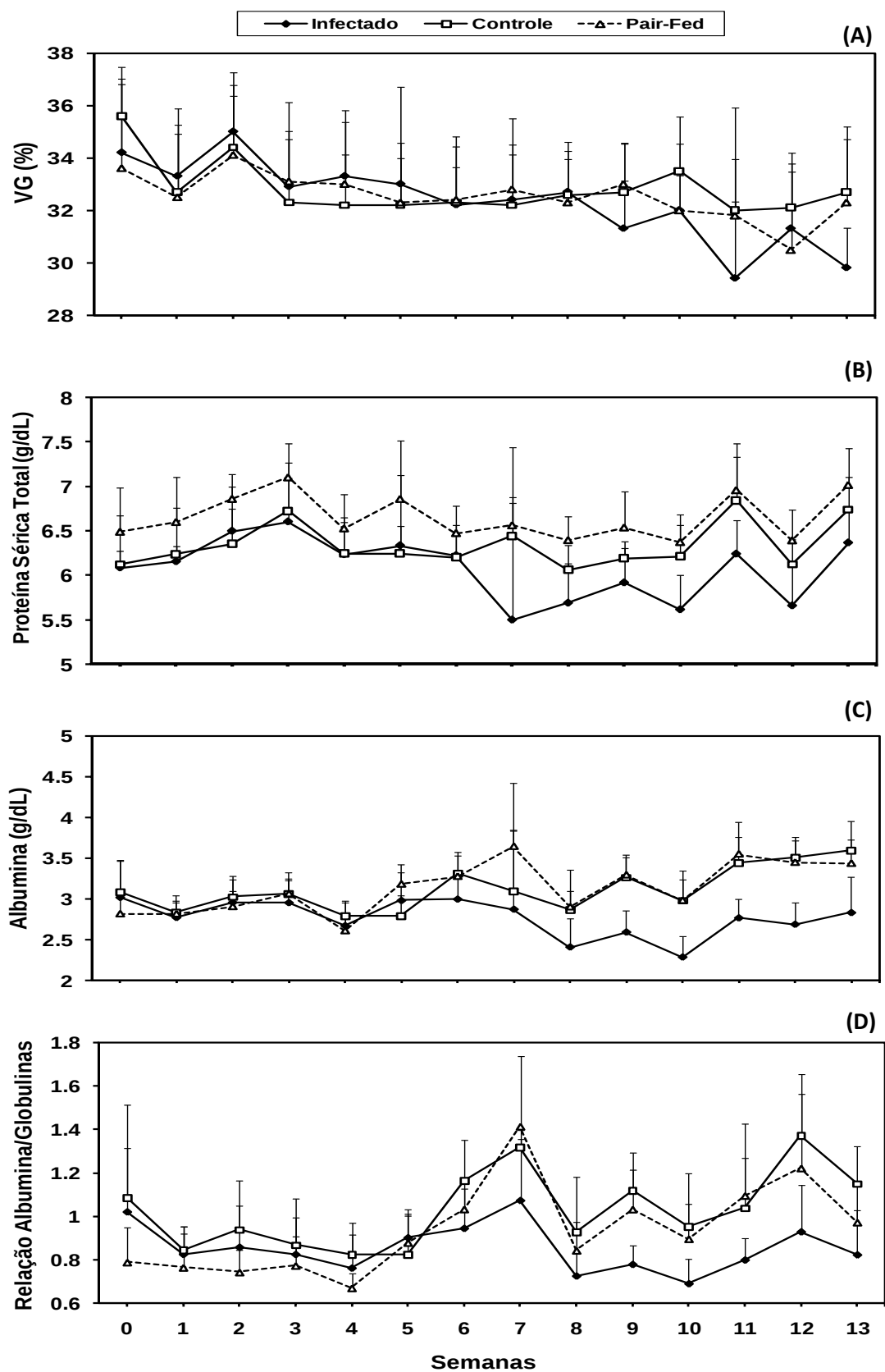


Figura 4. Valores médios do volume globular (VG) (A), da concentração sérica de proteínas totais (B), albumina (C) e relação albumina/globulinas (D) dos cordeiros da Santa Inês do Grupo Infetado, Controle e *Pair-Fed*. Barras: desvio padrão.

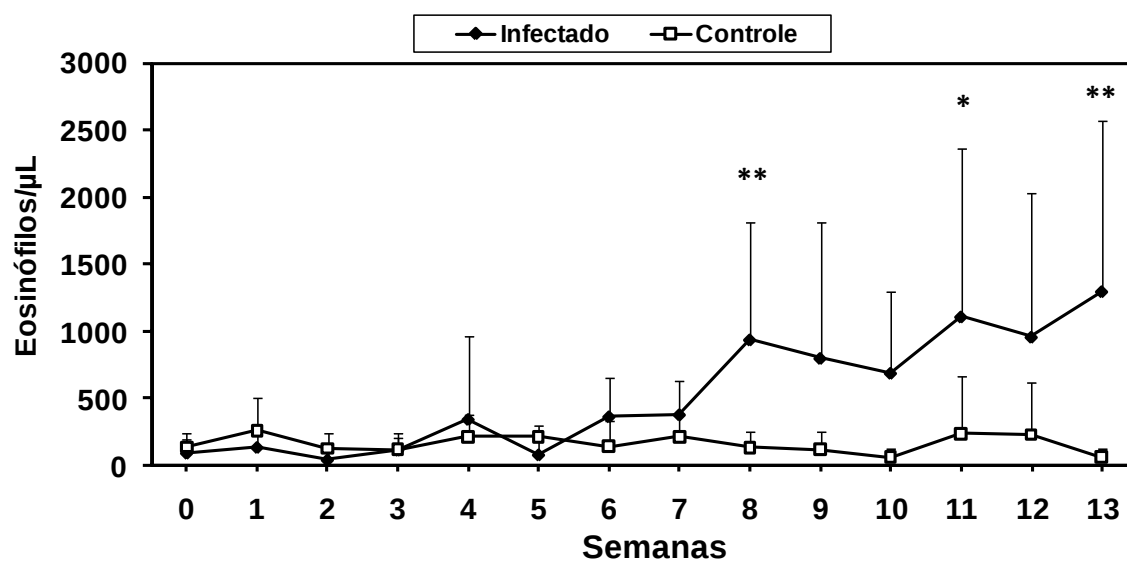


Figura 5. Valores médios de eosinófilos sanguíneos dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis* e alimentado *ad libitum* (Infectado) e grupo não infectado e alimentado *ad libitum* (Controle). Barras: desvio padrão. Símbolos * e **: diferença significativa com $P < 0,05$ e $P < 0,01$, respectivamente.

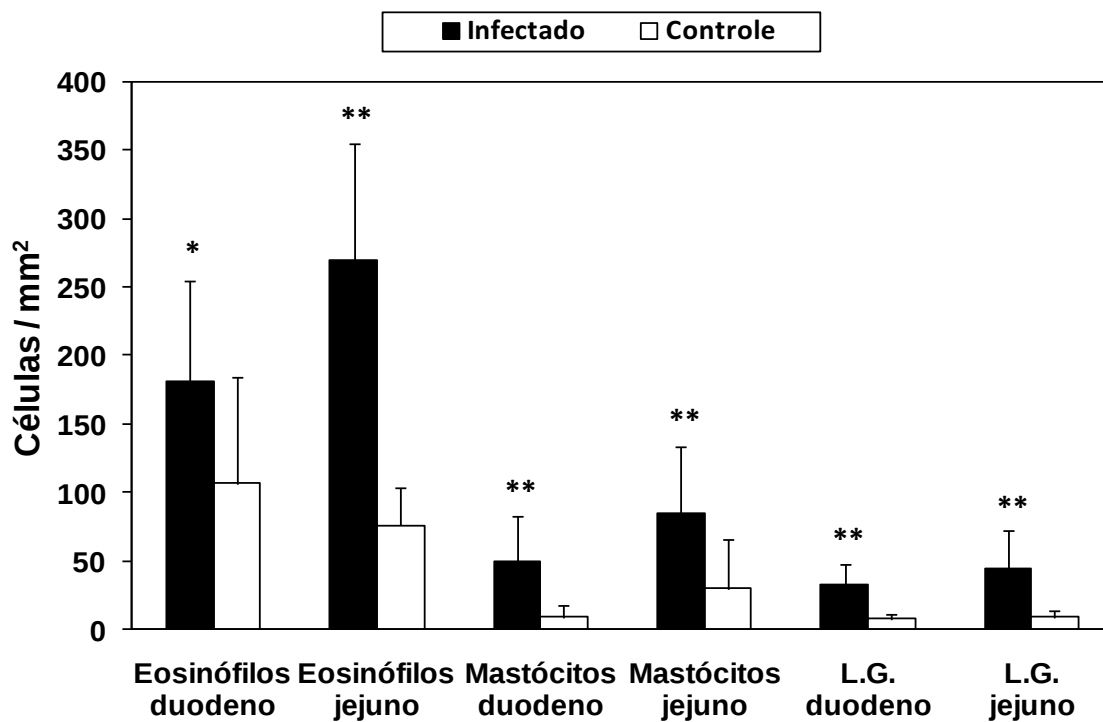


Figura 6. Valores médios do número de eosinófilos, mastócitos e leucócitos globulares (L.G.) por mm² da mucosa do duodeno e jejuno dos cordeiros da raça Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis* e alimentado *ad libitum* (Infectado) e do grupo não infectado e alimentado *ad libitum* (Controle). Barras: desvio padrão. Símbolos * e **: diferença significativa com $P < 0,05$ e $P < 0,01$ respectivamente.

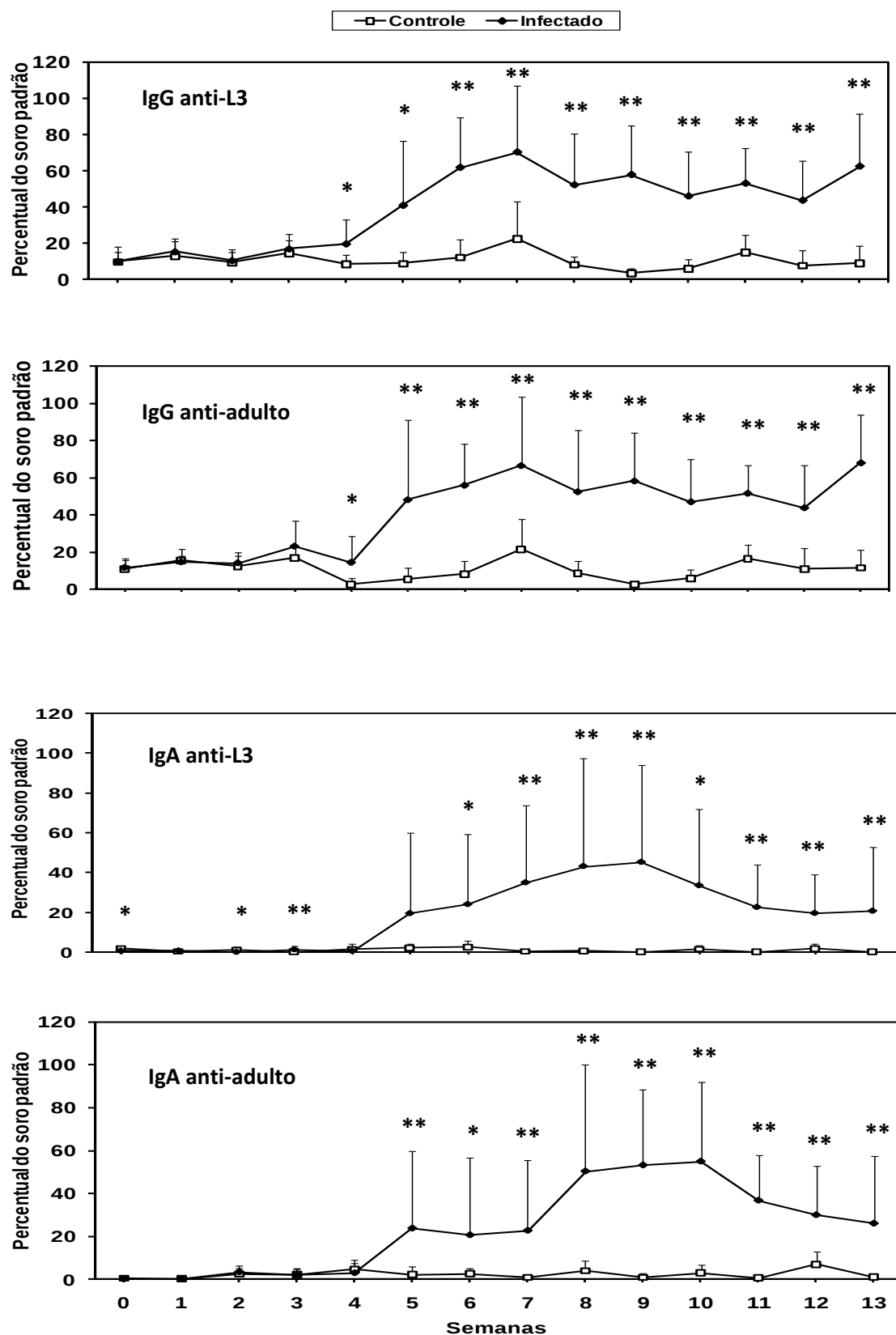


Figura 7. Níveis séricos de IgG anti-L3, IgG anti-adulto, IgA anti L3 e IgA anti-adulto de *Trichostrongylus colubriformis* de cordeiros Santa Inês do Grupo Infectado e do Grupo Controle. Barras: desvio padrão. Símbolos * e **: diferença significativa com $P < 0,05$ e $P < 0,01$.

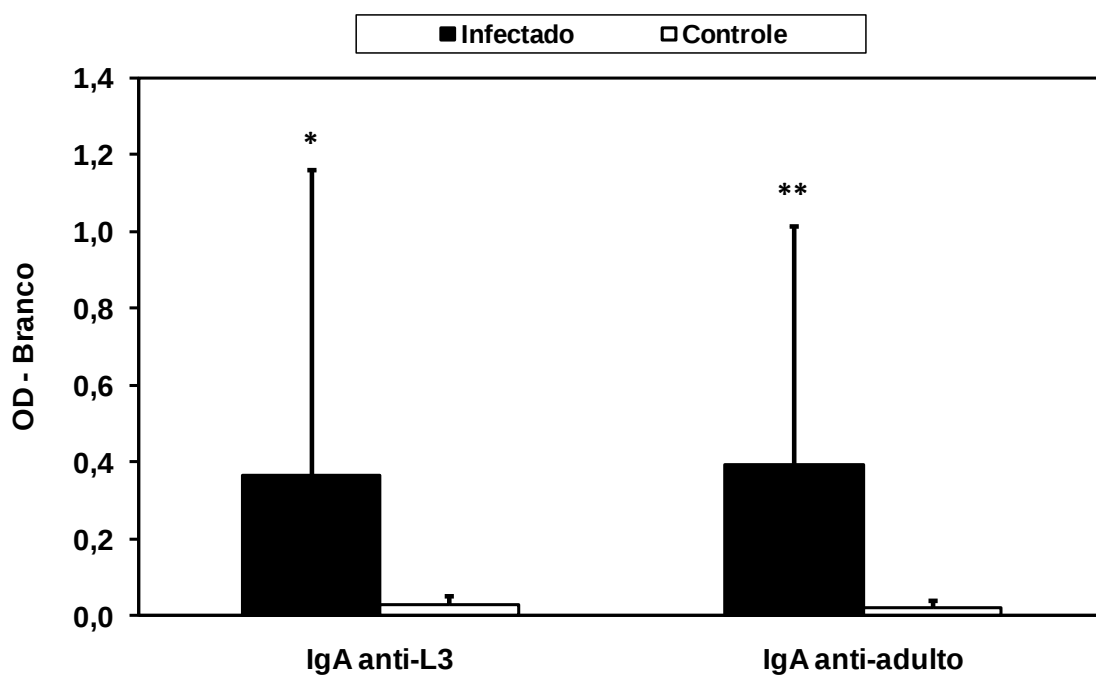


Figura 8. Níveis de IgA anti-L3 e IgA anti-adulto presentes no muco de cordeiros Santa Inês do grupo infectado três vezes por semana com 2500 larvas de *Trichostrongylus colubriformis* (Infectado) e do grupo controle. Barras: desvio padrão. Símbolos * e **: diferença significativa com $P < 0,05$ e $P < 0,01$ respectivamente.

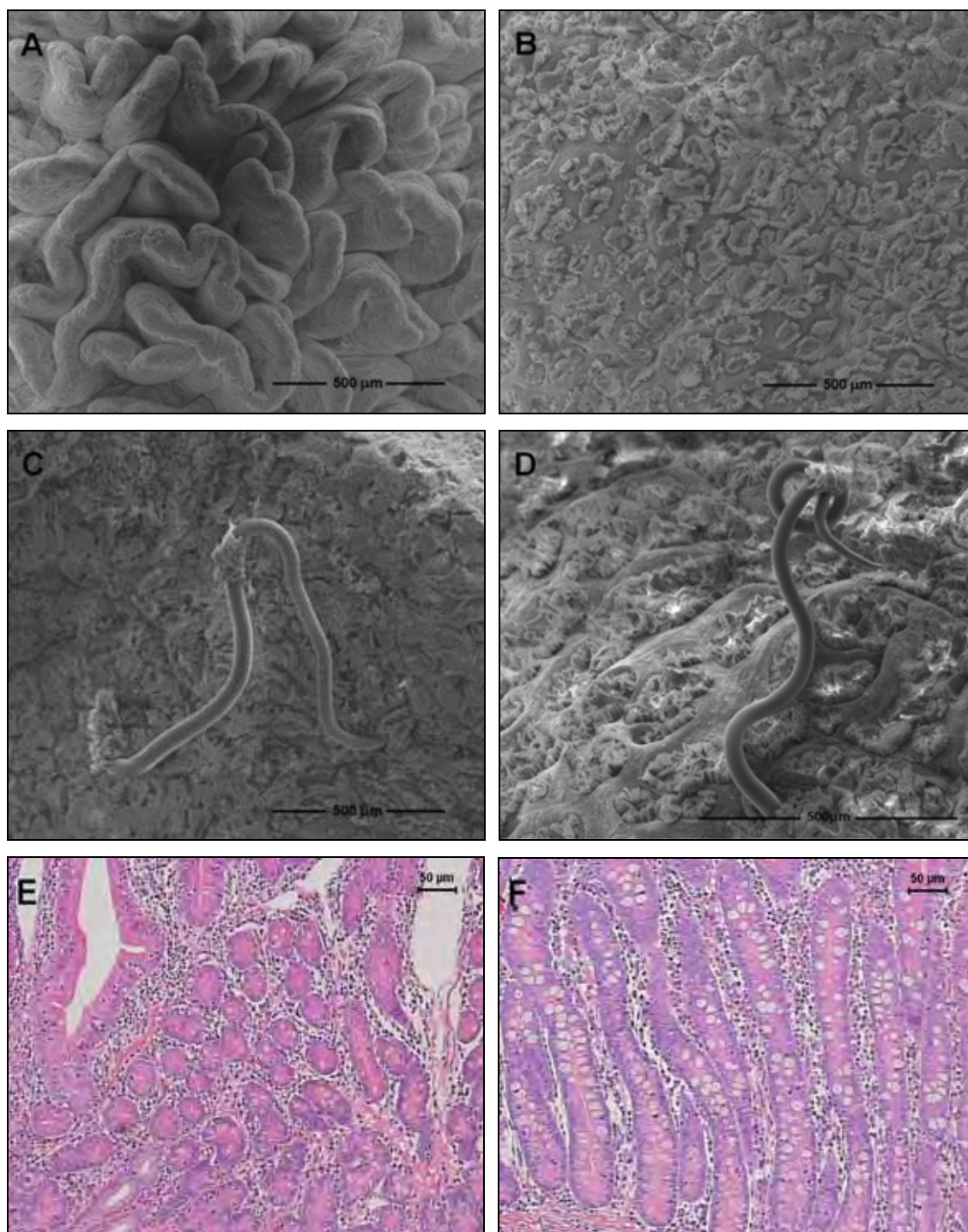


Figura 9. Vilosidades do epitélio duodenal de cordeiro do Grupo Controle, mostrando padrão de normalidade (A); Atrofia generalizada de vilosidades duodenais em cordeiro do Grupo Infectado (B); Exemplar macho de *T. colubriformis* inserido no epitélio lesionado de mucosa duodenal em cordeiro do Grupo Infectado (C); Extremidade anterior de *T. colubriformis* emergindo de túnel na mucosa duodenal em área com atrofia de vilosidades intestinais e erosão de epitélio (D); Criptas intestinais de cordeiro do Grupo Controle, mostrando padrão de normalidade (E); Hipertrofia e hiperplasia das criptas intestinais em animal do Grupo Infectado, com aumento do número de células caliciformes e sobreposição de células epiteliais (F).

CAPÍTULO 3

CONCLUSÕES:

Em relação à resposta imunológica e fisiopatogenia das artificiais por *T. colubriformis* nos cordeiros da raça Santa Inês, as conclusões deste estudo foram as seguintes:

- 6.1. A resposta imunológica causou diminuição da carga parasitária dos animais, demonstrado pelo baixo estabelecimento das larvas infectantes, porém interferiu nos índices produtivos dos animais.
- 6.2. O tempo de infecção não foi suficiente para os cordeiros da raça Santa Inês demonstrarem resiliência (tolerância) às infecções artificiais por *T. colubriformis*, pode-se observar animais resistentes e susceptíveis ao referido nematódeo.
- 6.3. O parasitismo por *T. colubriformis* causou prejuízos no ganho de peso e conversão alimentar dos animais, independentemente de sua carga parasitária.
- 6.4. A ação direta dos parasitas adultos na mucosa, bem como a imunopatologia causada pelas larvas infectantes provocou importantes lesões na mucosa intestinal.
- 6.5. O parasitismo por *T. colubriformis* teve impacto sobre as variáveis hematológicas, destacando-se as concentrações de albumina que foram mais baixas nos indivíduos altamente parasitados.

BIBLIOGRAFIA (Capítulo 1)

ALBERS, G. A. A.; GRAY, G. D.; PIPER, L. R.; BARKER, J. S. F.; LE JAMBRE, L. F.; BARGER, I. A. The genetic resistance and resiliense to *Haemonchus contortus* infection in young Merino sheep. **Int. J. Parasitol.**, v.17, p.1355-1363, 1987.

AMARANTE, A. F. T.; BARBOSA, M. A.; OLIVEIRA, M. R.; SIQUEIRA, E.R. Eliminação de ovos de nematódeos gastrintestinais por ovelhas de quatro diferentes raças durante diferentes fases reprodutivas. **Pesq. agropec. bras.**, v.27, p.47-51, 1992a.

AMARANTE, A. F. T.; BARBOSA, M. A.; OLIVEIRA, M. A. G; CARMELLO, M. J.; PADOVANI, C. R. Efeito da administração de oxfendazol, ivermectina e levamisol sobre os exames coproparasitológicos de ovinos. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.29, p.31-38, 1992b.

AMARANTE, A. F. T.; CRAIG, T. M.; RAMSEY, W. S.; DAVIS, S. K.; BAZER, F. W. Nematode burdens and cellular responses in the abomasal mucosa and blood of Florida Native, Rambouillet and crossbreed lambs. **Vet. Parasitol.**, v. 80, p. 311-324, 1999a.

AMARANTE, A. F.; CRAIG, T. M; RAMSEY, W. S.; EL-SAYED, N. M; DESOUKI, A. Y.; BAZER, F. W. Comparison of naturally acquired parasite burdens among Florida Native, Rambouillet and crossbreed ewes. **Vet. Parasitol.**, v. 85, p. 61-69, 1999b.

AMARANTE, A. F. T. C. Controle das endoparasitoses ovinas. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. **A produção animal na visão dos brasileiros**. Piracicaba: FEALQ, 2001. p.461-473.

AMARANTE, A. F. T. **Resistência de cordeiros das raças Santa Inês, Suffolk e Ile de France às infecções naturais por nematódeos gastrintestinais.** Botucatu, 2002. 167p. Tese (livre-docência) – IB, Universidade Estadual Paulista.

AMARANTE, A. F. T.; AMARANTE, M. R. V. Breeding sheep for resistance to nematode infections. **J. Anim. Vet. Adv.**, v.2, p.147-161, 2003.

AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A.; ROCHA, R. A.; GENNARI, S.M. Resistance of Santa Inês, Suffolk and Ile de France sheep to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Vet. Parasitol.** v.120, p.91-106, 2004.

AMARANTE, A. F. T. Controle da verminose ovina. **Rev. CFMV**, n.34, p.21-32, 2005.

AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A.; ROCHA, R. A. Relationship of intestinal histology with the resistance to *Trichostrongylus colubriformis* infection in three breeds of sheep. **Pesq. Vet. Bras.**, v.27, p.43-48, 2007.

ARAÚJO, J. V.; RODRIGUES, M. L. A.; SILVA, W. W.; VIEIRA, L. S. Controle biológico de nematóides gastrintestinais de caprinos em clima semi-árido pelo fungo *Monacrosporium thaumasium*. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.42, p.1177-1181, 2007.

AUDEBERT, F.; HOSTE, H.; DURETTE-DESSET, M. C. Life cycle of *Trichostrongylus retortaeformis* in its natural host, the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). **J. Helminthol.**, v.90, p. 189-192, 2002.

AUDEBERT, F.; CASSONE, J.; KERBOEUF, D.; DURETTE-DESSET, M. C. Development of *Trichostrongylus colubriformis* and *Trichostrongylus vitrinus*, parasites of ruminants in the rabbit and comparison with *Trichostrongylus retortaeformis*. **Parasitol. Res.**, v.76, p.57-63, 2003.

BAHIRATHAN, M.; MILLER, J. E.; BARRAS, S. R.; KEARNEY, M. T. Susceptibility of Suffolk and Gulf Coast Native suckling lambs to naturally acquired strongylate nematode infection. **Vet. Parasitol.**, v.65, p.259-268, 1996.

BALIC, A., BOWLES, V. M., MEEUSEN, E. N. T. The immunobiology of gastrointestinal nematode infections in ruminants. **Adv. Parasitol.**, v.45, p.181-241, 2000.

BARKER, I. K. Scanning electron microscopy of the duodenal mucosa of lambs infected with *Trichostrongylus colubriformis*. **Parasitology**, v.3, p.307-314, 1973a.

BARKER, I. K. A study of pathogenesis of *Trichostrongylus colubriformis* infection in lambs with observations on the contribution of gastrointestinal plasma loss. **Int. J. Parasitol.**, v.3, p.743-757, 1973b.

BARKER, I. K. Intestinal pathology associated with *Trichostrongylus colubriformis* infection in sheep: Histology. **Parasitology**, v.70, p.165-171, 1975a.

BARKER, I.K. Intestinal pathology associated with *Trichostrongylus colubriformis* infection in sheep: vascular permeability and ultrastructure of the mucosa. **Parasitology**, v.70, p.173-80, 1975b.

BENDIXSEN, T.; EMEREY, D. L.; JONES, W. O. The sensitization of mucosal mast cell during infections with *Trichostrongylus colubriformis* or *Haemonchus contortus* in sheep. **Int. J. Parasitol.**, v.25, p.741-748, 1995.

BERIAJAYA; COPEMAN, D.B. *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in pen-trials with Javanese thin tail sheep and Kacang cross Etawah goats. **Vet. Parasitol.**, v.135, p.315-323, 2006.

BISSET, S. A.; VLASSOFF, A.; DOUCH, P. G. C.; JONAS, W. E.; WEST, C. J.; GREEN, R. S. Nematode burdens and immunological responses following natural challenge in Romney lambs selectively bred for low or high faecal worm egg count. **Vet. Parasitol.**, v.61, p.249-263, 1996.

BRICARELLO, P. A.; GENNARI, S. M.; SEQUEIRA, T. C ; VAZ, C. M. S. L.; GONÇALVES E GONÇALVES, I ; ECHEVARRIA, F. A. M. Worm burden and immunological responses in Corriedale and Crioula Lanada sheep following natural infection with *Haemonchus contortus*. **Small Rumin. Res.**, v. 51, p. 75-83, 2004.

BRICARELLO, P. A; AMARANTE, A. F. T.; ROCHA, R. A.; CABRAL FILHO, S. L.; HUNTLEY, J. F; HOUDIJK, J. G.; ABDALLA, A. L.; GENNARI, S. M. Influence of dietary protein supply on resistance to experimental infections with *Haemonchus contortus* in Ile de France and Santa Ines lambs. **Vet. Parasitol.**, v. 135, p. 99-109, 2005.

BRITO, M. A. A ovinocultura leiteira no Brasil. **Rev. CFMV**, n.39, p.66-69, 2006.

BUDDLE, B. M.; JOWETT, G.; GREEN, R. S.; DOUCH, P. G., RISDON, P.L. Association of blood eosinophilia with the expression of resistance in Romney lambs to nematodes. **Int. J. Parasitol.**, v. 22, p.955-960, 1992.

BUENO, M. S.; CUNHA, E. A.; VERÍSSIMO, C. J.; SANTOS, L. E.; LARA, M. A. C.; OLIVEIRA, S. M.; SPÓSITO FILHA, E.; REBOUÇAS, M. M. Infecção por nematodos em razas de ovelhas carnicas criadas intensivamente em La região Del sudeste Del Brasil. **Arch. Zootec.**, v.51, p.273-280, 2002.

COLDITZ, I. G.; WATSON, D. L.; GRAY, G. D.; EADY, S. J. Some relationship between age, immune responsiveness and resistance to parasites in ruminants. **Int. J. Parasitol.**, v.26, p.869-877, 1996.

COOP, R. L.; ANGUS K. W. The effect of continuous doses of *Trichostrongylus colubriformis* larvae on the intestinal mucosa of sheep and on liver vitamin A concentration. **Parasitology**. v.70, p.1-9, 1975.

COOP, R.L.; KYRIAZAKIS I. Influence of host nutrition on the development and consequences of nematode parasitism in ruminants. **Trends Parasitol.** v.17, p.325-30, 2001.

DAWKINS, H. J. S.; WINDOW, R. G.; EAGLESON, G. K. Eosinophil responses in sheep selected for high and low responsiveness to *Trichostrongylus colubriformis*. **Int. J. Parasitol.**, v.19, p.199-205, 1989.

DOBSON, R. J.; WALLER, P. J.; DONALD, A. D. Population dynamics of *Trichostrongylus colubriformis* in sheep: The effect of infection rate on the establishment of infective larvae parasite fecundity. **Int. J. Parasitol.**, v.20, p.347-352, 1990.

DOBSON, R. J., BARNES, E. H., WINDON, R. G. Population dynamics of *Trichostrongylus colubriformis* and *Ostertagia circumcincta* in single and concurrent infections. **Int. J. Parasitol.** v. 22, p. 997-1004, 1992.

DORNELLES, W. J. M. Ovinocultura de lã e carne – uma verdade que voltou a ser evidenciada. **A Hora Veterinária**, ano 22, n.130, p. 6-8, 2002.

DOUCH, P. G.; HARRISON, G. B.; ELLIOTT, D.C.; BUCHANAN, L. L; GREER, K. S. Relationship of gastrointestinal histology and mucus antiparasite activity with the development of resistance to trichostrongyle infections in sheep. **Vet Parasitol.** v.20, p. 315-331, 1986.

DOUCH, P. G .C. The effects of immunization of sheep with *Trichostrongylus colubriformis* larvae on worm burdens acquired during grazing. **Int. J. Parasitol.** v.19, p.177-18, 1989.

DURETTE-DESSET, M. C. **CIH keys to the nematode parasites of vertebrates. Keys to genera of the superfamily Trichostrongyloidea.** Bureau: Royal, Bucks, 1983, 86p.

DURETTE-DESSET, M. C. Trichostrongyloid Nematodes and their Vertebrate Hosts: Reconstruction of the Phylogeny of a Parasitic Group. **Adv. Parasitol.**, v.24, p.239-306, 1985.

DURETTE-DESSET, M. C.; HUGOT, J. P.; DARLU, P.; CHABAUD, A. G. A cladistic analysis of the Trichostrongyloidea (Nematoda). **Int. J. Parasitol.**, v. 29, p.1065-1086, 1999.

FERNANDES, L. H.; SENO, M. C. Z.; AMARANTE, A. F. T.; SOUZA, H.; ROCHA, R. A.; BRESCIANI, K. D. S.; BARROS, T. F. M.; FERNANDES, L. H.; SILVA, M. B.; AMARANTE, A. F. T. Sheep and cattle grazing alternately: Nematode parasitism and pasture decontamination. **Small Rumin. Res.**, v. 75, p.135-143, 2008.

GREGORY, P. C.; WENHAM, G., POPPI, D.; COOP, R. L.; MACRAE, J.C.; MILLER, S. J. The influence of a chronic subclinical infection of *Trichostrongylus colubriformis* on gastrointestinal motility and digesta flow in sheep. **Parasitology**, v.91, p.381-396, 1985.

HARRISON, G. B.; PULFORD, H. D.; GATEHOUSE, T. K.; SHAW, R. J; PFEFFER, A. ; SHOEMAKER, C. B. Studies on the role of mucus and mucosal hypersensitivity reactions during rejection of *Trichostrongylus colubriformis* from the intestine of immune sheep using an experimental challenge model. **Int. J. Parasitol.**, v.29, p.459-468 1999.

HOLMES, P. H. Pathogenesis of trichostrongylosis. **Vet. Parasitol.**, v.18, p.89-1001, 1985.

HORAK, I. G.; CLARK, R.; GRAY, R. S. The pathological physiology of helminth infestations. III. *Trichostrongylus colubriformis*. **Onderstepoort J. vet. Res.** v.35, p.195-224, 1968.

HORTON, G. M. J. Selenium and vitamin E for lambs with Trichsotrongylosis. **J. Anim. Sci.** v.45, p.891-895, 1977.

HUNTLEY, J. F.; NEWLANDS, G.; MILLER, H. R. P. The isolation and characterization of globule leucocytes: their derivation from mucosal mast cells in parasitized sheep. **Parasite Immunol.**, v.6, p.371-390, 1984.

JONES, D. C. Intestinal enzyme activity in lams chronically infected with *Trichostrongylus colubriformis*: Effect of anthelmintic treatment. **Vet. Parasitol.** v.12, p.79-89, 1983.

JONES, W. O., WINDOW, R. G, STEEL, J. W., OUTERIDGE, P. M. Histamine and leukotriene concentrations in duodenal tissue and mucus of lambs selected for high and low responsiveness to vaccination and challenge with *Trichostrongylus colubriformis* .**Int. J. Parasitol.**, v. 20, p.1075-1079, 1990.

JONES, W. O, EMERY, D. L., MCCLURE, S. J., WAGLAND, B. M. Changes in inflammatory mediators and larval inhibitory activity in intestinal contents and mucus during primary and challenge infections of sheep with *Trichostrongylus colubriformis*. **Int. J. Parasitol.** v. 24, p.519-25,1994.

KAMBARA, T.; MCFARLANE, R.G. Changes in T cell subpopulations of sheep due to age and dietary protein intake; association with protective immunity to *Trichostrongylus colubriformis*. **Vet. Immunol. Immunopathol.** v. 51, p.127-35, 1996.

KIMAMBO, A. E.; MacRAE; WALKER, A.; WATT, C. F.; COOP, R. L. Effect of prolonged subclinical infection with *Trichostrongylus colubriformis* on the performance and nitrogen metabolism of growing lambs. **Vet. Parasitol.**, v.28,

p.191-203, 1988.

KYRIAZAKIS, I.; ANDERSON, D. H.; OLDHAM, J. D.; COOP, R. L.; JACKSON, F. Long-term subclinical infection with *Trichostrongylus colubriformis*: effects on food intake, diet selection and performance of growing lambs. **Vet. Parasitol.**, v.61, p.297-313, 1996.

LANTZ, C. S.; BOESIGER, J.; SONG, C. H.; MACH, N.; KOBAYASHI, T.; MULLINGAN, R. C.; NAWA, Y.; DRANOFF, G.; GALLI, S. J. Role for interleukin-3 in mast-cell and basophil development and immunity to parasites. **Nature**, 392:90-93, 1998.

LARSEN, J.W.; ANDERSON, N.; VIZARD, A.L., ANDERSON, G.A.; HOSTE, H. Diarrhoea in merino ewes during winter: association with trichostrongylid larvae. **Aust.Vet. J.** v.71, p.365-372, 1994.

LARSEN, J.W.; VIZARD, A. L.; ANDERSON, N. Role of larval nematode infection in lamb diarrhea. **Vet. Rec.**, v.137, p.572, 1995.

LARSEN, J.W.; ANDERSON, N.; VIZARD, A.L. The pathogenesis and control of diarrhea and breech soiling in adult Merino sheep. **Int. J. Parasitol.**, v.29, p.893-902, 1999.

LE JAMBRE, L. F. Relationship of blood loss to worm numbers, biomass and egg production in *Haemonchus contortus* infected sheep. **Int. J. Parasitol.**, v.25, p.269-273, 1995.

LETTINI, S. E.; SUKHDEO, V. K. Anhydrobiosis increases survival of trichostrongyle nematodes. **J. Parasitol.**, v.92, n.5, p.1002-1009, 2006.

McCLURE, S. J.; EMERY, D. L.; WAGLAND, B. M.; JONES, W.O. A serial study of rejection of *Trichostrongylus colubriformis* by immune sheep. **Int. J. Parasitol.**, v.22, p.227-234, 1992.

MEEUSEN, E. N. T. Immunopatology of helminth infections, with special reference to immunopathology. **Vet. Parsitol.**, v.84, p.259-273, 1999.

MORAES, F. R.; THOMAZ-SOCCOL, V.; ROSSI JUNIOR, P.; WOLFF, F. M.; CASTILHO, G. G. Suscetibilidade de ovinos das raças Suffolk e Santa Inês à infecção natural por trichostrongilídeos. **Arch. Vet. Sci.**, v.6, p.63-69, 2000.

MORRIS, C. A.; VLASSOF, A.; BISSET, S. A.; BAKER, R. L.; WATSON, T. G.; WEST, C. J.; WHEELER, M. Continued selection of Romney sheep for resistance or susceptibility to nematode infection: estimates of direct and correlated responses. **Anim. Sci.**, v.70, p. 17-27, 2000.

OLIVEIRA-SEQUEIRA, T. C. G.; AMARANTE, A. F. T. **Parasitologia Animal: Animais de Produção**. Rio de Janeiro: EPUB, 2001, 158p.

POPPI, D.P.; MACRAE, J. C.; BREWER, A. C.; DEWEY, P. J.; WALKER, A. Calcium and phosphorus absorption in lambs exposed to *Trichostrongylus colubriformis*. **J. Comp. Pathol.**, v.95, p.453-464, 1985.

PRICHARD, R. K.; HENNESSY, D. R.; GRIFFITHS, D. A. Endocrine responses of sheep to infection with *Trichostrongylus colubriformis*. **Res. Vet. Sci.**, v.17, p.182-187, 1974.

PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. 1ed. Roca, São Paulo, 2005. 513p.

ROCHA, R. A.; AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A. Comparison of the susceptibility of Santa Ines and Ile de France ewes to nematode parasitism around parturition and during lactation. **Small Rumin. Res.**, v.55, p.65-75, 2004.

ROCHA, R. A.; AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A. Resistance of Santa Ines and Ile de France suckling lambs to gastrointestinal nematodes infections. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v.14, p.17-20, 2005.

ROCHA, R. A; BRESCIANI, K. D. S.; BARROS, T. F. M.; FERNANDES, L. H.; SILVA, M. B.; AMARANTE, A.F.T. Sheep and cattle grazing alternately: nematode parasitism and pasture decontamination. **Small Ruminant Research.**, v.75, p.135-143, 2008.

ROSEBY, F. B. Effects of *Trichostrongylus colubriformis* (Nematoda) on nutrition and metabolism of sheep. I. Feed intake, digestion and utilization. **Aust. J. Agri. Res.**, v.24, p.947-953, 1973.

SANTIAGO, M. A. M.; COSTA, U. C.; BENEVENGA, S. F. Estudo comparativo da prevalência de helmintos em ovinos e bovinos criados na mesma pastagem. **Pesq. agropec. bras.**, v.10, p.51-56, 1975.

SANTIAGO, M. A. M.; COSTA, U. C.; BENEVENGA, S. F. Oviposição média diária e o período pré-patente dos principais helmintos parasitas de ovinos no Rio Grande do Sul. **Rev. Centro de Ciências Rurais**, v.11, p.87-91, 1981.

SIMPLÍCIO, A. A.; SIMPLÍCIO, K. M. M. G. Caprinocultura e ovinocultura de corte: Desafios e oportunidades. **Rev. CFMV**, n.39, p.07-18, 2006.

SHAW, R. J.; GATEHOUSE, T. K.; McNEILL, M. M. Serum IgE responses during primary and challenge infections of sheep with *Trichostrongylus colubriformis*. **Int. J. Parasitol.**, v.28, p.293-302, 1998.

STEAR, M. J; MURRAY, M. Genetic resistance to parasitic disease: particularity of resistance in ruminants to gastrointestinal nematodes. **Vet. Parasitol.**, v.54, p. 161-176, 1994.

STEEL, J. W; SYMONS, L. E. A.; JONES, W. O. Effects of level of larval intake on the productivity and physiological and Metabolic responses of lambs infected with *Trichostrongylus colubriformis*. **Aust. J. Agri. Res.** v.31, p.821-838, 1980.

STEAR, M. J.; BISHOP, S. C.; DOLIGALSKA, M.; DUNCAN, J. L.; HOLMES, P. H. IREVINE, J.; McCRIRIE, L.; McKELLER, Q. A.; SINISKI, E.; MURRAY, M. Regulations of egg production, worm burden, worm length and worm fecundity by host responses in sheep infected with *Ostertagia circumcincta*. **Parasite Immunol.**, v. 17., p.643-652, 1995.

SYKES, A. R.; COOP, R. L.; ANGUS, K. W. Experimental production of osteoporosis in growing lambs by continuous dosing with *Trichostrongylus colubriformis* larvae. **J. Comp. Pathol.** v.85., p.549-559, 1975.

SYMONS, L. E.; HENNESSY, D. R. Cholecystokinin and anorexia in sheep infected by the intestinal nematode *Trichostrongylus colubriformis*. **Int. J. Parasitol.** v.11, p.55-58., 1981.

SYMONS, L. E. A. Plasma zinc and inappetence in sheep infected with *Trichostrongylus colubriformis*. **J. Comp. Path.**, v.93, p.547-550, 1983.

TIZARD, I. R. **Imunologia Veterinária**. 6ed. Roca, São Paulo, 2002. 532p.

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

WALLER, P.J. Anthelmintic resistance. **Vet. Parasitol.**, v. 72, p.391-412, 1997.