

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**VARIÁVEIS HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS SÉRICAS EM
BORREGAS NATURALMENTE INFECTADAS POR NEMATÓDEOS
GASTROINTESTINAIS EM SISTEMA INTEGRADO DE PRODUÇÃO
AGROPECUÁRIA**

RAPHAELA MOREIRA DE OLIVEIRA

Botucatu – SP
2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**VARIÁVEIS HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS SÉRICAS EM
BORREGAS NATURALMENTE INFECTADAS POR NEMATÓDEOS
GASTROINTESTINAIS EM SISTEMA INTEGRADO DE PRODUÇÃO
AGROPECUÁRIA**

RAPHAELA MOREIRA DE OLIVEIRA

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

Orientador: Prof^a. Ass. Dr^a Elizabeth Moreira
dos Santos Schmidt

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Oliveira, Raphaela Moreira de.

Variáveis hematológicas e bioquímicas séricas em
borregas naturalmente infectadas por nematódeos
gastrointestinais em sistema integrado de produção
agropecuária / Raphaela Moreira de Oliveira. - Botucatu,
2019

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

Orientador: Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt
Capes: 50502042

1. Ovino - Criação. 2. Nematoides. 3. Hematologia. 4.
Proteínas séricas.

Palavras-chave: bioquímica sérica; hematologia;
nematódeos; ovinocultura.

Nome da Autora: Raphaela Moreira de Oliveira

Título: Variáveis hematológicas e bioquímicas séricas em borregas naturalmente infectadas por nematódeos gastrointestinais em sistema integrado de produção agropecuária.

COMISSÃO EXAMINADORA

Profª Drª Elizabeth Moreira Dos Santos Schmidt

Presidente e Orientadora

Departamento de Clínica Veterinária

FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Ciniro Costa

Membro Titular

Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal

FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Ivan Roque de Barros Filho

Membro Titular

Departamento de Medicina Veterinária

UFPR – Setor de Ciências Agrárias Curitiba

Data da defesa: 05 de julho de 2019.

Dedico

Aos meus pais, Renata Moreira e Eurípedes Oliveira que tanto trabalham para
garantir minha educação.

Ao Danilo Jorge, presente em todas as etapas do desenvolvimento deste
trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), UNESP, *câmpus* Botucatu, pela oportunidade de realizar o curso de pós-graduação.

A Professora Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt pela orientação, pelo tempo dedicado ao meu trabalho e aos momentos de incentivo, estes foram fundamentais para meu desenvolvimento acadêmico e pessoal.

Ao Laboratório de Enfermidades Parasitárias dos Animais da FMVZ, que me proporcionou tanto aprendizado ao longo das minhas etapas de formação profissional como estagiária, residente e mestranda.

Ao Setor de Forragicultura da FMVZ por tornar possível o desenvolvimento do experimento. Aos Professores Ciniro Costa e Paulo Roberto de Lima Meirelles, assim como ao pesquisador Cristiano Magalhaes Pariz.

A minha parceira de experimento, Daniele Floriano Fachiolli. Foi uma honra trabalhar com uma profissional tão dedicada.

Ao Professor Alessandro Francisco Talamini do Amarante, por ceder o Laboratório de Helminologia Veterinária do IBB onde grande parte das análises foram realizadas. A Fabiana Alves Almeida, sou grata por todos ensinamentos transmitidos. Agradeço também aos pesquisadores Renan Zappavigna Costa Starling, César Cristiano Basseto e Ana Claudia Albuquerque pelos auxílios prestados.

Ao Professor Luciano Barbosa pela ajuda com as análises estatísticas.

Aos Professores membros da banca do Exame Geral de Qualificação, Ciniro Costa e Regina Kiomi Takahira, cujas contribuições foram de grande importância no desenvolvimento do trabalho.

Aos servidores técnico-administrativos da Seção de Pós-graduação da FMVZ, obrigada pela ajuda prestada sempre que necessário.

Ao médico veterinário Gilson Avelino Providelo por todo o apoio durante as análises laboratoriais. Agradeço também pela amizade sincera e estar presente tanto nos bons momentos, assim como nos mais difíceis.

Aos estagiários Aline Rocha, Isabella Vergili, Larissa Ferry, Mallu Soares, Pedro Ricardo e Raissa Scapol. Toda dedicação e cuidado com os animais foram fundamentais no decorrer do trabalho.

Aos meus pais, obrigada pelos constantes incentivos de estudo. Desde sempre se empenhando ao máximo para que nunca faltasse uma boa educação na minha formação acadêmica.

A minha irmã, Isabella Moreira de Oliveira, obrigada pelas ilustrações.

Danilo Jorge, eu agradeço imensamente pelo seu companheirismo e humanidade, sempre disposto a ajudar em qualquer situação. No momento mais difícil e doloroso que passei durante o mestrado você estava ali para segurar minha mão. Obrigada por ser minha família em Botucatu.

Ao meu mestre e amigo professor Humberto Eustáquio, o qual sempre me incentivou a ser alguém melhor, me sinto privilegiada pelo período em que trabalhamos juntos. Ao Sr. Hélio Alberto que me inspira com seu carisma e garra para enfrentar os problemas. Ao Laboratório de Patologia da Universidade de Uberaba, que tanto me orgulho de ter feito parte.

Aos animais utilizados no estudo, minha eterna gratidão.

A Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo auxílio financeiro no projeto de pesquisa nº 2017/05055-17, intitulado de “Produção de soja, sorgo, eucalipto, pastagem de aveia-preta e ovinos de corte em sistemas integrados de produção agropecuária”.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela I - Porcentagens dos gêneros de nematódeos nas coproculturas (%) das borregas naturalmente infectadas por nematódeos gastrointestinais nos diferentes momentos...	66
Tabela II - Ovos por grama de fezes (OPG) das borregas naturalmente infectadas por nematódeos gastrointestinais nos diferentes momentos. Valores de média, desvio padrão e amplitude (mínimo e máximo).....	66
Tabela III - Variáveis hematológicas (série vermelha) das borregas naturalmente infectadas por nematódeos gastrointestinais nos diferentes momentos. Valores de média, desvio padrão e amplitude (mínimo e máximo).....	67
Tabela IV - Concentrações das proteínas plasmáticas totais e contagem totais de leucócitos das borregas naturalmente infectadas por nematódeos gastrointestinais nos diferentes momentos. Valores de média, desvio padrão e amplitude (mínimo e máximo).	69
Tabela V - Variáveis bioquímicas (proteínas séricas totais, albumina e lipase) das borregas naturalmente infectadas por nematódeos gastrointestinais nos diferentes momentos. Valores de média, desvio padrão e amplitude (mínimo e máximo).	70
Tabela VI - Variáveis bioquímicas (perfil lipídico) das borregas naturalmente infectadas por nematódeos gastrointestinais nos diferentes momentos. Valores de média, desvio padrão e amplitude (mínimo e máximo).	71
Tabela VII. Variáveis bioquímicas (cálcio total e magnésio) das borregas naturalmente infectadas por nematódeos gastrointestinais nos diferentes momentos. Valores de média, desvio padrão e amplitude (mínimo e máximo).	72

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1. Ciclo de vida geral dos parasitas gastrointestinais pertencentes à Superfamília Trichostrongyloidea	21
Figura 2. Ciclo de vida do parasita <i>Strongyloides papillosus</i> , incluindo as formas de infecção ao hospedeiro: 1. Infecção oral, infecção transcutânea e 3. Infecção transmamária.	24

LISTA DE ABREVIACÕES

% - porcentagem

< - menor

°C – graus Celsius

Ca – cálcio

CHCM – concentração de hemoglobina corpuscular média

cm – centímetros

dL – decilitro

EDTA – ácido etilenodiaminotetracético

fL – fentolitro

FMB – Faculdade de Medicina de Botucatu

FMVZ – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

g – grama

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

HT – hematócrito

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IgA – imunoglobulina A

IgG – imunoglobulina G

ILP – Integração Lavoura-Pecuária

kDa – kilodáton

Kg – quilogramas

L – litro

L₁ – larva de primeiro estágio

L₂ – larva de segundo estágio

L₃ – larva de terceiro estágio

L₄ – larva de quarto estágio

L₅ – larva de quinto estágio

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

Mg – magnésio

mg – miligramas

mL – mililitros

mm – milímetros

OPG – ovos por grama de fezes

PPP – período pré-patente

RDW-SD – amplitude de distribuição dos eritrócitos medido como desvio padrão (*Red Cell Distribution Width*)

spp. – espécies

SIPA – Sistema Integrado de Produção Agropecuária

U – unidade

μL – microlitro

Unesp – Universidade Estadual Paulista

Unipex – Unidade de Pesquisa Experimental

VCM – volume corpuscular médio

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

Súmario

RESUMO	12
ABSTRACT	13
INTRODUÇÃO	14
CAPÍTULO 1	16
REVISÃO DE LITERATURA	17
1 Sistema integrado de produção agropecuária	17
2 Nematódeos gastrointestinais de ovinos	18
2.1 Superfamílias de nematódeos gastrointestinais	19
2.1.1 Superfamília Trichostrongyloidea	19
2.1.2 Superfamília Strongyloidea	22
2.1.3 Superfamília Rhabditoidea (<i>Strongyloides papillosus</i>)	23
2.2 Hipobiose	24
2.3 Patogenia dos principais nematódeos gastrointestinais parasitas de ovinos	26
2.3.1 Parasitas do abomaso	26
2.3.1.1 <i>Haemonchus</i> spp.	26
2.3.1.2 <i>Teladorsagia circumscrita</i>	27
2.3.2.3 <i>Trichostrongylus axei</i>	27
2.3.2 Parasitas do intestino delgado	28
2.3.2.1 <i>Cooperia</i> spp.	28
2.3.2.3 <i>Nematodirus</i> spp.	29
2.3.2.3 <i>Trichostrongylus colubriformis</i>	30
2.3.2.4 <i>Strongyloides papillosus</i>	30
2.3.3 Parasita do intestino grosso	31
2.3.3.1 <i>Oesophagostomum</i> spp.	31
3 Hematologia clínica em ovinos	32
3.1 Série vermelha	32
3.2 Série branca	33
4 Bioquímica clínica em ovinos	34
4.1 Perfil sérico das proteínas	34
4.2 Perfil lipídico	35
4.3 Perfil enzimático	36
4.3.1 Lipase	36

4.4	Perfil mineral	37
4.4.1	Cálcio	37
4.4.2	Magnésio	38
5	Objetivos	39
5.1	Objetivos gerais	39
5.2	Objetivos específicos	39
REFERÊNCIAS		40
CAPÍTULO 2		46
CONSIDERAÇÕES FINAIS		73
ANEXOS		74

OLIVEIRA, R.M. Variáveis hematológicas e bioquímicas séricas em borregas naturalmente infectadas por nematódeos gastrointestinais em sistema integrado de produção agropecuária. 2019. 76p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, *câmpus* de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

A ovinocultura brasileira apresentou crescimento nos últimos anos e é responsável pela produção de carne e leite, assim como lã e couro, e as infecções por nematódeos gastrointestinais são o maior problema sanitário. O objetivo do estudo foi avaliar a infecção natural por nematódeos gastrointestinais de borregas inseridas em um sistema de produção agropecuária. Borregas da raça Corriedale foram divididas em três grupos de dez animais cada, definidos de acordo com o OPG e hematócrito obtidos após a primeira coleta. O grupo 1 (G1) foi composto por animais com OPG (ovos por grama de fezes) maior do que 5.000 e hematócrito menor ou igual a 24%; o grupo 2 (G2) com OPG maior do que 5.000 e hematócrito maior do que 24% e o grupo 3 (G3) com OPG menor do que 5.000 e hematócrito maior do que 24%. Amostras de fezes (testados para OPG e coprocultura) e sangue (hemograma e a determinação de variáveis bioquímicas séricas) foram coletadas em quatro ao longo do período experimental de 70 dias. Ao final do estudo duas borregas foram abatidas para coleta e identificação de parasitas adultos. Todas as variáveis foram avaliadas pelo teste de normalidade e variância homogênea, posteriormente testada pelo ANOVA, e comparação de médias pelo teste Tukey. Os gêneros *Haemonchus*, *Trichostrongylus* e *Cooperia* foram recuperados em coprocultura. As contagens de OPG apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$) nos três grupos, nos momentos 1 e 2. Os valores do hematócrito foram significativamente menores ($P < 0,05$) para o G1 no M1 e no G2 no M2. As variáveis CHCM, leucócitos totais, lipase, colesterol, triglicérides, HDL, cálcio total e magnésio não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) entre os grupos nos quatro momentos. Conclui-se que as variáveis hematológicas e bioquímicas séricas, associadas ao OPG, constituíram ferramentas úteis para avaliar o estado de saúde das borregas inseridas em um sistema integrado de produção agropecuária ao longo do período experimental.

Palavras-chave: ovinocultura, nematódeos, hematologia, bioquímica sérica

OLIVEIRA, R.M. Hematological and biochemical serum variables in lambs naturally infected by gastrointestinal nematodes in an integrated crop-livestock system. 2019. 76p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, *câmpus* de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

Brazilian sheep population has grown in recent years, and It's responsible for meat and milk production, as well as wool and leather, and gastrointestinal nematode infections are the major sanitary problem. Our aim was to evaluate natural infection by gastrointestinal nematodes of lambs inserted in a integrated crop-livestock system. Corriedale's lambs were divided into three groups of ten animals each, defined according to the EPG (eggs per gram of faeces) and hematocrit obtained after the first collection. Group 1 (G1) was composed by animals with EPG greater than 5,000 and hematocrit less than or equal to 24%; group 2 (G2) with EPG greater than 5,000 and hematocrit greater than 24% and group 3 (G3) with EPG lower than 5,000 and hematocrit greater than 24%. Stool samples (tested for EPG and stool test) and blood (blood count and determination of serum biochemical variables) were collected over the 70 day trial period.. At the end of the study, two ewes were slaughtered for collect and identification of adult parasites. All variables were evaluated by the normality test and homogeneous variance, later tested by ANOVA, and a comparison of means by the Tukey test. *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, and *Cooperia* genera were recovered in a stool test. EPG counts presented significant differences ($P < 0.05$) in the three groups at moments 1 and 2. The hematocrit values were significantly lower ($P < 0.05$) for G1 in M1 and G2 in M2. The variables CHCM, total leukocytes, lipase, cholesterol, triglycerides, HDL, total calcium and magnesium showed no significant difference ($P \geq 0.05$) between the groups at the four moments. It was concluded that hematological and serum biochemical associated with OPG were useful tools to evaluate the health status of lambs inserted in an integrated system of agricultural production throughout the experimental period.

Key-words: sheep, gastrointestinal nematodes, hematology, serum biochemistry

INTRODUÇÃO

A espécie ovina foi uma das primeiras a ser domesticada pelo ser humano e está distribuída mundialmente, pois consegue se adaptar as diferentes condições ambientais de clima, relevo e vegetação. A ovinocultura pode estar relacionada à exploração econômica, assim como atividade de subsistência familiar (VIANA, 2008).

De acordo com os dados obtidos pelo IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) na pesquisa da Produção da Pecuária Municipal, em 2016, o rebanho ovino brasileiro era composto por 18,43 milhões de animais. A região nordeste detinha 63% do efetivo nacional e a região sul 23,9%.

Em 2017 houve aumento do número de propriedades produtoras de ovinos, com crescimento de 20% em todo território nacional. A região nordeste foi a única do país que apresentou crescimento no rebanho ovino entre os anos de 2006 e 2017, enquanto na região sudeste apresentou redução de 33% das propriedades criadoras, o que é explicado pela redução de criadores nos estados de Minas Gerais e São Paulo. Pelo levantamento estatístico do Senso Agropecuário de 2017, o Brasil possui 750 estabelecimentos agropecuários produzindo leite de ovelhas, com produtividade média de 300 litros/cabeça/ano (NOBREGA, 2018).

A ovinocultura brasileira apresentou crescimento nos últimos anos, impulsionada pela demanda no consumo de produtos como a carne, o leite e seus derivados e também pelos produtos não alimentícios, como o couro e a lã. Mesmo com as atividades no setor ovino em expansão no agronegócio brasileiro, ainda existem desafios a serem enfrentados, como a falta de informação sistematizada, assistência técnica especializada, programas sanitários específicos, tecnologias adequadas, entre outros (CÂMARA SETORIAL DA CADEIA PRODUTIVA DE CAPRINOS E OVINOS, 2006). O maior problema sanitário responsável pelos prejuízos econômicos na exploração dos pequenos ruminantes é relacionado à verminose gastrointestinal (VIEIRA, 2008).

Desta forma, o atual estudo foi dividido em dois capítulos. O capítulo 1 tem como objetivo apresentar uma revisão de literatura a respeito da biologia dos principais nematódeos parasitas da espécie ovina, assim como conceitos de hematologia e bioquímica sérica em ovinos. O capítulo 2 apresenta o emprego da hematologia e bioquímica sérica como ferramentas para avaliar borregas naturalmente infectadas por nematódeos gastrointestinais criadas em SIPA, e está apresentado em forma de artigo científico.

CAPÍTULO 1

Neste capítulo é apresentada a revisão de literatura.

REVISÃO DE LITERATURA

1 Sistema integrado de produção agropecuária

O Brasil conta com atividades agropecuárias, em diferentes sistemas produtivos e tal situação é explicada pelas diferenças geográficas ao longo do território nacional. Com a finalidade de otimizar a eficiência agropecuária, um sistema de integração entre lavoura e pecuária foi criado (FERNANDES e FINCO, 2014)

Denominado Sistema Integrado de Produção Agropecuária (SIPA), com várias modalidades de integração conjuntas de lavoura e pecuária com produção de grãos, pastagem, carne e leite na mesma área e em momentos diferentes. As atividades que acontecem por meio de plantios em rotação, consorciação e/ou sucessão de atividades agropecuárias (GONÇALVES e FRANCHINI, 2007).

O SIPA atua buscando o sinergismo entre produção de culturas anuais e a produção de forragem para a pecuária, resultando em interações solo-planta-animal (MORAES, 2014).

Uma das principais vantagens do sistema de integração agropecuária é a recuperação ou reforma de pastagens degradadas, por meio da produção de grãos. De forma geral, o SIPA tem importância nas questões de sustentabilidade e produtividade, pois reduz custos devido ao menor uso de insumos, diversifica as atividades da área produtiva e reduz problemas ambientais. Ademais, promove a redução da sobrevivência das larvas infectantes de parasitas na pastagem (GONÇALVES e FRANCHINI, 2007).

Em relação ao SIPA e as infecções parasitárias, em estudo conduzido em Bagé, Rio Grande do Sul, por meio da implementação do SIPA, foi possível observar que após o plantio de soja, a área de pastagem foi considerada livre de contaminação por larvas infectantes de nematódeos gastrointestinais, demonstrando que a alternância de culturas agrícolas e pecuárias pode ser um método eficaz no controle do parasitismo (ECHEVARRIA et al., 1993).

Em Botucatu, São Paulo, Almeida et al. (2018), observaram que o emprego do sistema integrado de produção agropecuária produziu pastos livres de contaminação por nematódeos parasitas de ovinos e que a associação de tal sistema produtivo com o manejo nutricional adequado demonstraram influência na redução da carga parasitária dos animais.

2 Nematódeos gastrointestinais de ovinos

No atual cenário da ovinocultura, os nematódeos gastrointestinais são considerados o principal entrave dentro da cadeia produtiva, podendo causar redução no desempenho e até a mortalidade dos animais caso o controle sanitário adequado não seja aplicado. De forma geral, os ovinos podem ser parasitados simultaneamente por várias espécies de nematódeos (AMARANTE, 2014).

Os principais nematódeos parasitas de ovinos estão inseridos na Ordem Strongylida, que é dividida nas superfamílias Trichostrongyloidea e Strongyloidea (ANDERSON, 2000). Das espécies parasitas do trato gastrointestinal de ovelhas, o grupo dos tricostrongilídeos é o mais comumente encontrado, sendo os gêneros *Haemonchus* spp., *Trichostrongylus* spp., *Cooperia* spp., *Teladorsagia* spp. e *Nematodirus* spp. os mais frequentes e responsáveis por grandes prejuízos na produção animal (O'CONNOR et al., 2006).

Outro helminto que frequentemente parasita os ruminantes é o *Strongyloides papillosus*, pertencente à Ordem Rhabditida e a superfamília Rhabditoidea (TAYLOR et al., 2017).

Em um rebanho ovino, 100% dos animais podem ser considerados susceptíveis nas primeiras semanas de vida, porém à medida que vão crescendo e amadurecendo poderão desenvolver imunidade de tal forma que na idade adulta muitos deles poderão apresentar resistência (AMARANTE, 2004).

Conhecer as espécies de nematódeos responsáveis pelas infecções em ovelhas, assim como sua biologia é de importância para que medidas profiláticas estratégicas sejam implementadas nas propriedades com a finalidade de controlar as infecções e, conseqüentemente, evitar as perdas econômicas (BURGESS et al., 2012).

2.1 Superfamílias de nematódeos gastrointestinais

2.1.1 Superfamília Trichostrongyloidea

O ciclo evolutivo da superfamília Trichostrongyloidea, com algumas exceções, é semelhante para seus representantes. Trata-se de um ciclo com duas fases distintas: pré-parasitária, que ocorre no ambiente e parasitária, que se dá no hospedeiro (Figura 1) (TAYLOR et al., 2017).

A fase pré-parasitária começa com os ovos embrionados sendo eliminados junto às fezes do hospedeiro e, ao se desenvolverem, dão origem a larva de primeiro estágio (L_1). Esta, por sua vez, ao eclodir, se alimenta de matéria orgânica e microorganismos presentes nas fezes. A L_1 perde sua cutícula e em seguida sofre muda para L_2 , que também se alimenta e se desenvolve até o terceiro estágio (L_3) (forma infectante). A L_3 permanece com a cutícula retida da L_2 e por esse motivo não se alimenta, sobrevive no ambiente por meio das reservas energéticas acumuladas dos estádios anteriores (AMARANTE, 2014). Ao permanecer com a cutícula da L_2 , a larva de terceiro estágio se torna mais resistente às condições climáticas, como temperaturas extremas e a dessecação (O'CONNOR et al., 2006).

A fase parasitária acontece quando o hospedeiro ingere a L_3 na pastagem. Após a ingestão, a larva penetra na mucosa do trato gastrointestinal (abomaso ou intestino delgado) e realiza a muda para o quarto estágio (L_4) (ANDERSON, 2000). O desenvolvimento completo do parasita ocorre quando há a muda para L_5 , quando tais nematódeos atingem, portanto, a maturidade sexual (AMARANTE, 2014).

O período pré-patente (PPP) irá variar de acordo com o gênero de nematódeo em questão, podendo ser de 18 a 21 dias para o *Haemonchus contortus*, 17 a 21 dias para a *Teladorsagia circumscrita*, 13 a 14 dias para o gênero *Cooperia*, 21 dias para as espécies de *Trichostrongylus* spp. (ANDERSON, 2000).

Fatores ambientais, tais como temperatura e umidade atuam de forma determinante no ciclo dos tricostrongilídeos, influenciando os estádios de vida livre e no microclima no qual estão inseridos e podem variar de acordo com o gênero de tricostrongilídeo envolvido (O'CONNOR et al., 2006).

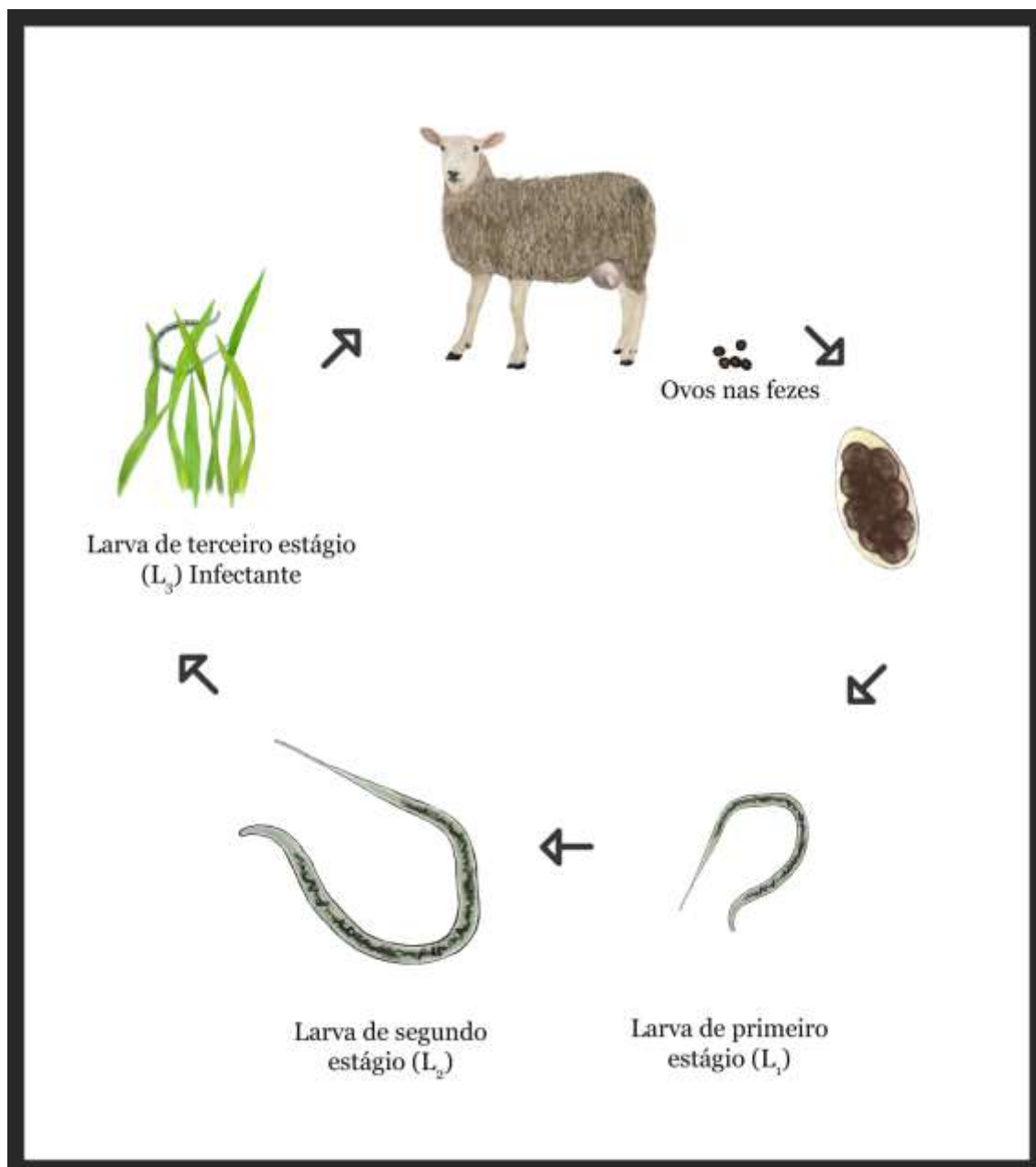


Figura 1. Ciclo de vida geral dos parasitas gastrointestinais pertencentes à Superfamília Trichostrongyloidea¹

¹ Ilustração elaborada por Isabella Moreira de Oliveira em 08/12/2017

2.1.2 Superfamília Strongyloidea

Os helmintos membros da superfamília Strongyloidea são caracterizados por serem dotados de cápsula bucal, a qual frequentemente possui uma coroa radiata, que se trata de estruturas em forma de folha na borda da região labial do parasita. A superfamília é dividida nas famílias Strongylidae, Syngamidae, Deletrocephalidae e Chabertidae, sendo esta última com espécies de importância para os ovinos, como os parasitas *Oesophagostomum columbianum* (Curtice, 1890) e o *O. venulosum* (Rudolphi, 1809) (BOWMAN, 2016).

Os ovos do *Oesophagostomum* spp. têm formato elíptico e regular, são morulados e podem conter de 8 a 16 blastômeros quando eliminados nas fezes do hospedeiro. O ciclo de vida destes parasitas é dividido em fase pré-parasitaria e fase parasitária (TAYLOR et al., 2017).

Em condições ambientais adequadas de temperatura e umidade, os ovos se desenvolvem e ocorre a eclosão da larva L₁, que rapidamente se desenvolve para L₂ e posteriormente ao estágio infectante, L₃. A infecção usualmente acontece quando o hospedeiro faz a ingestão da L₃ e embora a via oral seja a mais comum, a infecção cutânea foi observada em bezerros. A larva do *Oesophagostomum* invade a mucosa intestinal com três dias de infecção, onde há a formação de uma cápsula transparente. Nesta capsula a larva irá se desenvolver até L₄, neste estágio já é possível observar o dimorfismo sexual. As larvas de quarto estágio migram do intestino delgado posterior até o ceco e colón, realizam a última muda duas semanas após a infecção, porém as fêmeas só irão produzir ovos cerca de um mês pós-infecção (ANDERSON, 2000).

2.1.3 Superfamília Rhabditoidea (*Strongyloides papillosus*)

O ciclo de vida do gênero *Strongyloides* possui particularidades que o diferencia dos demais grupos de nematódeos (Figura 2). Apenas as fêmeas atuam como parasita, de forma que seus ovos são produzidos pelo fenômeno da partenogênese. O período pré-patente varia entre 8 a 14 dias (THAMBORG et al., 2016).

A fêmea parasita realiza a postura dos ovos embrionados, que são eliminados junto às fezes do hospedeiro. No ambiente ocorre a eclosão e liberação da larva de primeiro estágio. Desta forma, irão surgir duas gerações distintas de larvas, sendo elas: geração homogônica e geração heterogônica (BOWMAN, 2016).

Na geração homogônica ou direta é aquela no qual após a eclosão dos ovos, as larvas de primeiro estágio passam pela muda para L₂ e em seguida para a L₃ infectante. Ao passo que na geração heterogônica ou indireta, as larvas de vida livre, se desenvolvem até fêmeas e machos adultos, estes se reproduzem sexualmente, originando uma nova geração de larvas infectantes (VINEY e LOK, 2018).

A respeito das formas de transmissão, elas podem ocorrer pela ingestão de larvas infectantes no pasto (via oral); por meio da ingestão do leite materno (transmissão transmamária, neste caso, decorrente das larvas hipobióticas) e também através da penetração ativa das L₃ na pele dos hospedeiros (transmissão transcutânea). Após a infecção, as L₃ atingem a corrente sanguínea, chegam até os pulmões, onde irão passar por muda para L₄, são expectoradas, deglutidas e chegam ao seu habitat, o intestino delgado, onde se desenvolvem em vermes adultos (AMARANTE, 2014; VINEY e LOK, 2018).

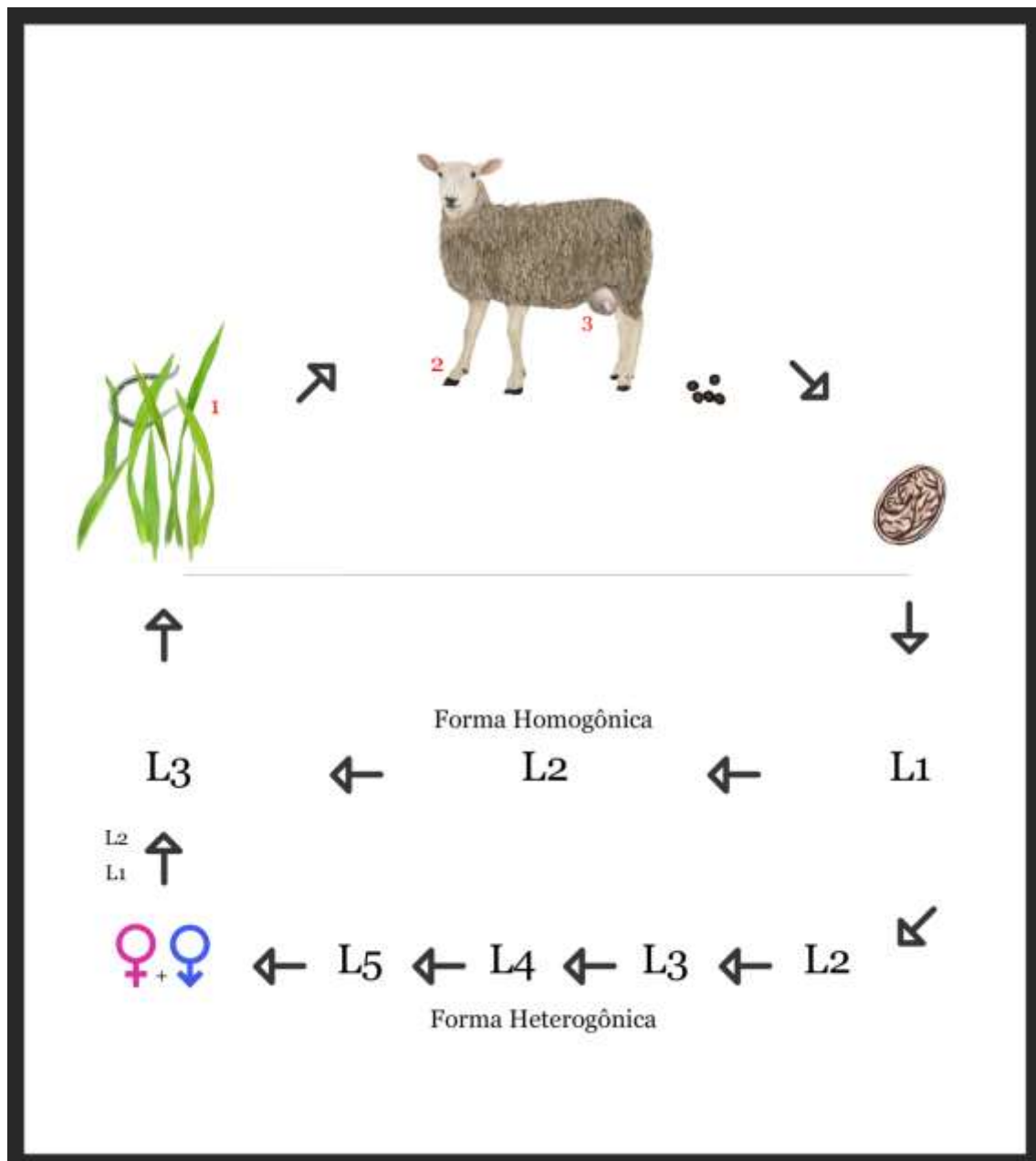


Figura 2. Ciclo de vida do parasita *Strongyloides papillosus*, incluindo as formas de infecção ao hospedeiro: 1. Infecção oral, infecção transcutânea e 3. Infecção transmamária.²

2.2 Hipobiose

A hipobiose é um fenômeno também conhecido como desenvolvimento larvário temporariamente inibido, comum em nematódeos. Trata-se de uma adaptação das formas larvais do parasita que confere resistência e

² Ilustração elaborada por Isabella Moreira de Oliveira em 08/12/2017

sobrevivência no hospedeiro. De forma geral, a interrupção do desenvolvimento larval tem caráter facultativo e pode acontecer em determinadas circunstâncias, tais como: o hospedeiro envolvido ou época do ano. Desta forma, a hipobiose mantém correlação com as interações entre o hospedeiro, o parasita e o meio ambiente no qual estará inserido (GIBBS,1986).

Normalmente, tal fenômeno ocorre em larvas no estágio L₄ e já foi observado nas espécies *Ostertagia ostertagi* e *H. placei*, em bovinos e *H. contortus*, *T. circumcincta*, *T. colubriformis* em ovelhas (BALIC et al., 2000).

A inibição do desenvolvimento das larvas pode ocorrer em apenas uma parte da população, e pode ser resposta às condições adversas após a sua ingestão. Em hospedeiros com infecções maciças, o número de larvas inibidas está associado com a atividade do parasita com a IgA e IgG. Algumas cepas de parasitas tem maior tendência de hipobiose do que outras (STEAR et al., 1997).

A importância epidemiológica que a hipobiose desempenha é de que a larva ao interromper o seu desenvolvimento assegura a sobrevivência do parasita durante períodos de adversidade. Porém, quando estas retornam ao desenvolvimento e consequente maturação, podem favorecer a contaminação ambiental e causar doença clínica em seu hospedeiro (TAYLOR et al., 2017).

O desenvolvimento de imunidade ao processo de infecção gastrointestinal é complexo e tem alta variabilidade, podendo depender da raça ovina, espécie de parasita e intensidade de infecção (MCRAE et al., 2015).

2.3 Patogenia dos principais nematódeos gastrointestinais parasitas de ovinos

2.3.1 Parasitas do abomaso

2.3.1.1 *Haemonchus* spp.

O gênero *Haemonchus* é classificado como um dos mais importantes parasitas de ruminantes, sendo as espécies, *H. contortus* (Rudolphi, 1803), *H. placei* (Place, 1893), e *H. similis* (Travassos, 1914) as de maior relevância na medicina veterinária (ANDERSON, 2000).

A espécie *H. contortus* acomete principalmente ovinos e caprinos, ao passo que em bovinos, *H. placei* tem maior destaque. Indivíduos adultos de *H. contortus* medem de 2 a 3 cm, possuem papilas cervicais e uma lanceta na cápsula bucal. Na hemocose, o abomaso pode se apresentar edemaciado e com hemorragias focais (TAYLOR et al., 2017).

Em exame necroscópico as vísceras podem se apresentar pálidas. Há casos em que o abomaso pode não apresentar alterações, ou ainda podem ser observadas lesões difusas ou focais nas pregas abomasais, com presença de congestão e áreas de edema (CARLTON e MCGAVIN, 1998).

De acordo com Bowman (2016) os cordeiros são os indivíduos mais sensíveis em um rebanho, porém animais mais velhos em situações de estresse também podem sofrer com os quadros de anemia desencadeada pela hemocose. A anemia observada em infecções por *H. contortus* é geralmente uma consequência do hábito de hematofagia do parasita (MCRAE et al., 2015).

Estudos sobre as infecções gastrointestinais causadas por nematódeos em ovelhas criadas no município de Botucatu, São Paulo revelaram de 100% a prevalência do *H. contortus* e não houve correlações significativas entre as contagens de parasitas desta espécie e as variáveis climáticas, o que pode indicar que as condições ambientais de tal região se mostram extremamente

favoráveis para a transmissão de tal parasita durante todo o ano (WILMSEN et al., 2014).

2.3.1.2 *Teladorsagia circumscrita*

Teladorsagia circumscrita (Stadelmann, 1894), originalmente agrupada no gênero *Ostertagia* se trata de um parasita de abomaso dos ruminantes, apresentando importância na espécie ovina. Embora existam outras espécies de *Ostertagia* que podem infectar os ruminantes como *O. ostertagi*, que normalmente parasita os bovinos (ANDERSON, 2000).

Os exemplares adultos da *T. circumscrita* possuem a cavidade bucal curta e corpo de coloração castanho-avermelhado; os machos podem medir de 6-8mm e as fêmeas 8-10mm, São distribuídos mundialmente, tendo maior importância nas regiões de clima temperado (TAYLOR et al., 2017; SANTIAGO et al., 1976).

No Planalto Catarinense, a espécie *T. circumcincta* teve prevalência de 100% (RAMOS et al., 2004).

2.3.2.3 *Trichostrongylus axei*

As espécies de *Trichostrongylus* parasitam o trato gastrointestinal dos ruminantes, especificamente a espécie *T. axei* (Cobbold, 1879) tem como habitat o abomaso. Enquanto o *T. colubriformis* (Giles, 1852) parasita o intestino delgado. São nematódeos relativamente discretos, medindo aproximadamente 7 mm. Desta forma, mesmo nos casos de infecções maciças seus exemplares podem passar despercebidos em necropsia (BOWMAN, 2016).

SANTIAGO et al. (1976), relataram que a espécie *T. axei* é encontrada em todos os meses do ano parasitando ovinos criados no município de Itaquí,

Rio Grande do Sul, tendo maior ocorrência nas estações do inverno e primavera. Os ovinos em infecções puras pelo *T. axei* e que demonstravam contagens de ovos por grama de fezes maiores que 500, desenvolveram sinais clínicos de desnutrição, anorexia e nos animais jovens, atraso no crescimento.

Na região de Jaboticabal, no estado de São Paulo, a prevalência do *T. axei* foi de 22,7%, enquanto do *T. colubriformis* foi de 90,9% (MACIEL et al., 2014).

2.3.2 Parasitas do intestino delgado

2.3.2.1 *Cooperia* spp.

Os membros do gênero *Cooperia* são cosmopolitas e podem ser parasitas tanto dos pequenos ruminantes, como dos bovinos. Entre seus representantes se encontram as seguintes espécies *C. curticei* (Railliet, 1893), *C. oncophora* (Railliet, 1898), *C. pectinata* (Ransom, 1907) e *C. punctata* (Linstow, 1907) (ANDERSON, 2000).

Os parasitas adultos são relativamente pequenos, não sendo observados macroscopicamente. Podem apresentar a dimensão de 10 a 20 mm de comprimento (AMARANTE, 2014).

Trata-se de um parasita pouco patogênico, podendo ser associado à redução na taxa de crescimento e inapetência dos animais jovens. Em infecções baixas e moderadas, normalmente não há sinais clínicos, enquanto em infecções maciças, podem ocorrer atrofia nas vilosidades intestinais (TAYLOR et al., 2017).

Na microrregião de Jaboticabal, no Noroeste do Estado de São Paulo, o gênero *Cooperia*, houve os seguintes achados de prevalência: *C. curticei* 56,0%(256,5); *C. punctata* 30,3% (94,5); *C. pectinata* 10,6% (12,9) parasitando

ovinos mestiços (lanados e deslanados), com idades entre quatro e 36 meses (MACIEL et al., 2014).

2.3.2.3 *Nematodirus* spp.

Cerca de 40 espécies de *Nematodirus* foram descritas, sendo um gênero de parasitas de ruminantes, domésticos e silvestres que ocorre essencialmente nas regiões de clima frio e temperado. No entanto, é um gênero que eventualmente pode ser encontrado em regiões mais quentes ou em climas de transição, o que pode ser explicado pelo transporte de animais parasitados de uma área para outra. Entre as principais espécies de *Nematodirus* parasitas de ovinos estão: *N. filicollis* (Rodolph, 1802), *N. spathiger* (Railliet, 1896), *N. helvetianus* (May, 1920) e *N. battus* (Crofton e Thomas, 1951) (ANDERSON, 2000).

São nematódeos parasitas de intestino delgado, de coloração esbranquiçada e delgados. Os machos podem medir de 10 a 15 mm e as fêmeas de 15 a 24 mm. Seus exemplares possuem uma vesícula cefálica e a bolsa copulatória dos machos possui lobos laterais e espículos longos e finos, as fêmeas possuem cauda curta. Quanto ao ciclo evolutivo do *Nematodirus*, a fase pré-parasitária se difere dos demais tricostrongilídeos, pois neste gênero, o desenvolvimento larvário até a fase L₃ ocorre no interior do ovo (TAYLOR et al., 2017).

Em condições laboratoriais, foi possível observar que os ovos de *N. battus* tiveram alta taxa de eclosão quando expostos a temperaturas constantes na faixa de 8 a 15° C, sendo um parasita adaptado a condições climáticas mais frias (CHRISTIE, 1962).

A infecção por *Nematodirus* foi evidenciada no Brasil na região do planalto catarinense, sendo recuperados exemplares adultos em necropsia de todos os animais avaliados por Ramos et al. (2004).

2.3.2.3 *Trichostrongylus colubriformis*

São helmintos que tem como habitat a região cranial do intestino delgado. A larva infectante é resistente a situações ambientais adversas, como baixa umidade, assim como tem boa tolerância às baixas temperaturas (ANDERSON, 2000).

Os parasitas desta espécie são cosmopolitas e seu tamanho pode variar de 4 – 5,5 mm nos machos e de 5,5 – 7,5 mm nas fêmeas. Os espículos dos machos são espessos, de cor acastanhada e comprimento igual. Além dos ruminantes, ocasionalmente suínos e os seres humanos podem ser seus hospedeiros (TAYLOR et al., 2017).

Após a infecção, as larvas alcançam o intestino delgado e penetram na mucosa, os parasitas em desenvolvimento se alojam em canais superficiais abaixo da superfície epitelial. Com 10 – 12 dias pós-infecção, os túneis subepiteliais se rompem e há a liberação dos parasitas, tal ação gera hemorragia e edema (TAYLOR et al., 2017). Embora as infecções por *Trichostrongylus* spp. possam ser assintomáticas, manifestações como diarreia aquosa e de cor escura podem ser observadas, o que irá debilitar o animal parasitado (BOWMAN, 2016).

2.3.2.4 *Strongyloides papillosus*

Os exemplares do gênero *Strongyloides* são helmintos relativamente pequenos, podendo medir de 3 a 8mm de comprimento. Suas espécies parasitam o intestino delgado de uma diversidade de hospedeiros. O *S. papillosus* parasita os ruminantes, *S. westeri* os equinos, *S. ransomi* os suínos e o *S. stercoralis* cães e os seres humanos (BOWMAN, 2016).

O *S. papillosus* tem distribuição mundial e sua prevalência pode variar de acordo com a faixa etária, sistema de manejo e o clima da região no qual os

ruminantes estão inseridos. Os indivíduos jovens são os mais comprometidos, podendo apresentar sinais de diarreia e desnutrição (THAMBORG et al., 2016).

Os parasitas adultos causam erosões nas vilosidades intestinais promovendo enterite com presença de muco e aumento do peristaltismo, consequentemente, levando a má absorção dos alimentos. Pode também ocorrer dermatite localizada, devido à penetração ativa das larvas no tecido cutâneo no momento da infecção. As formas imaturas do parasita ao migrarem pelo pulmão do hospedeiro podem desencadear quadros de bronquite e pneumonia (MONTEIRO, 2011).

A anemia em infecções por *S. papillosus* pode ser decorrente das erosões na mucosa intestinal, pois há perda de sangue nos focos de enterite. As alterações nos parâmetros hematológicos associadas à má absorção dos nutrientes pode desencadear o atraso no crescimento dos indivíduos jovens, enquanto os animais adultos podem apresentar perda progressiva de peso (DIMITRIJEVIĆ et al., 2016).

2.3.3 Parasita do intestino grosso

2.3.3.1 *Oesophagostomum* spp.

Os ovinos podem ser parasitados pelo gênero *Oesophagostomum*, sendo o *O. columbianum* e o *O. venulosum* seus representantes nesses hospedeiros. São helmintos que possuem grandes asas cervicais, tem como habitat o intestino grosso (TAYLOR, 2017). O período pré-patente da infecção por *O. columbianum* é de 37 a 41 dias, e do *O. venulosum* corresponde à 28 dias (ANDERSON, 2000).

O ciclo deste parasita possui particularidades, pois as formas larvais ao chegarem ao lúmen do intestino grosso, iniciam a fase histotrófica intestinal. Desta forma, há a formação de nódulos macroscópicos no intestino, sendo

nódulos pequenos no intestino delgado e nódulos caseosos no intestino grosso, decorrente da ação histotrófica (AMARANTE, 2014).

Os relatos de patogenicidade ocorrem quando as formas larvais se encistam na submucosa da região distal do intestino delgado e região cranial do intestino grosso, surgindo nódulos que podem medir entre 2 a 3 cm de diâmetro e tendem a ser mais pronunciados ao decorrer do processo parasitário. Nestas condições, a diarreia pode aparecer como sinal clínico (SCOTT e SUTHERLAND, 2006).

Em estudo necroscópico, o parasita *O. columbianum* teve prevalência de 48,4% dos ovinos avaliados na microrregião de Jaboticabal, no estado de São Paulo (MACIEL et al., 2014).

3 Hematologia clínica em ovinos

3.1 Série vermelha

A produção dos eritrócitos é mediada por um hormônio secretado pelos rins, a eritropoietina. A medula óssea pode acelerar este processo, porém nutrientes em quantidades adequadas como: proteína, ferro, cobre, cobalto e determinadas vitaminas devem estar disponíveis. A avaliação da porcentagem do sangue total composta pelos eritrócitos é determinada pelo hematócrito (ou volume globular), e por meio deste, é possível calcular o volume celular médio (VCM) e a concentração de hemoglobina celular média (CHCM) (THRALL et al., 2015).

Em infecção natural por nematódeos gastrointestinais em cordeiros, houve significativa redução nos valores do hematócrito e das concentrações de hemoglobina no período em que coincidiram com os picos de OPG (KAWANO et al., 2001).

Em ovelhas da raça Shahabadi infectadas experimentalmente com larvas L₃ de *H. contortus*, foi feita uma investigação dos parâmetros hematológicos. Nestes animais foi possível observar redução significativa dos

valores de hematócrito, eritrócitos e hemoglobina quando comparados aos animais livres de infecção. A redução do hematócrito e eritrócitos apresentou redução entre os dias 21 e 28 pós-infecção, enquanto a hemoglobina demonstrou redução nos seus valores a partir do dia 21º pós-infecção e permaneceu até o final do experimento (BORDOLOI et al., 2012).

3.2 Série branca

Os leucócitos podem ser classificados morfolologicamente, em granulócitos, que são aquelas células que tem um núcleo segmentado e citoplasma com grânulos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) e agranulócitos linfócitos e monócitos (RAPAPORT, 1990).

Os eosinófilos e mastócitos são as principais células efetoras tipicamente associadas a infecções por helmintos. Embora os eosinófilos não estejam normalmente presentes em grande número no sangue periférico, maiores contagens são encontradas nos tecidos, em particular no trato gastrointestinal. Após infecções por helmintos, o número de eosinófilos pode aumentar drasticamente, gerando a eosinofilia no sangue e tecidos. Além da eosinofilia, pode ocorrer a hiperplasia de mastócitos, surgimento de leucócitos globulares, presença de substâncias inibidoras de muco e aumento de sua produção, assim como produção de anticorpos específicos (BALIC et al., 2000).

Em infecção natural pelo nematódeo *T. colubriformis* avaliou-se a associação entre o número de células inflamatórias do intestino delgado e a resistência à infecção parasitária em três raças ovinas: Santa Inês, Suffolk e Ile de France. A resposta celular foi semelhante na mucosa intestinal das três raças e os animais que apresentaram número menor de células inflamatórias tiveram cargas parasitárias maiores, assim como contagens de ovos por grama de fezes mais altas e exemplares de *T. colubriformis* maiores. Tais achados demonstraram que a presença de células inflamatórias como mastócitos, eosinófilos e leucócitos na mucosa intestinal, dificulta o processo de parasitismo, prejudicando o desenvolvimento e sobrevivência dos helmintos (AMARANTE et al., 2007).

4 Bioquímica clínica em ovinos

4.1 Perfil sérico das proteínas

No plasma há a presença de proteínas, que em sua maioria são sintetizadas no fígado e sua produção depende de fatores como o estado nutricional e função hepática do indivíduo. A albumina é uma das proteínas mais relevantes, constituindo, nos animais domésticos, aproximadamente 35 a 50% das proteínas totais. Assim como a maioria as proteínas plasmáticas, a albumina é sintetizada no tecido hepático e o seu catabolismo ocorre pelo tecido vascular. A produção de albumina pode ser prejudicada quando há deficiência em aminoácidos como leucina, arginina e isoleucina (EVANS, 2002).

De forma geral, a redução das concentrações séricas da albumina pode estar associada a sua perda ou pela diminuição na sua síntese. Por se tratar de uma proteína de fase aguda negativa, pode apresentar concentrações diminuídas em casos de doenças inflamatórias. No caso das enfermidades parasitárias intestinais, a hipoalbuminemia é agravada pelo aumento do seu catabolismo (ECKERSALL, 2008). Em infecções pelo *T. colubriformis*, os parasitas se desenvolvem em túneis subepiteliais, os vermes retornam ao lúmen intestinal. Neste processo pode acontecer hemorragia e consequentemente extravasamento de proteínas plasmáticas, levando a hipoalbuminemia e hipoproteinemia (TAYLOR et al., 2017).

A qualidade da nutrição oferecida aos animais atua diretamente nas concentrações sanguíneas de albumina dos animais. Em ovinos, foi observado que quando há redução do aporte de proteínas na ração ocorre diminuição das concentrações de albumina, mas não de globulinas (GONZÁLEZ, et al. 2000).

Alencar et al. (2007), em uma avaliação do proteinograma e do exame coproparasitológico de ovelhas, no período do parto, das raças Ideal e Suffolk, determinaram por meio do exame de coprocultura que as ovelhas estavam parasitadas pelos seguintes gêneros de nematódeos: *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Oesophagostomum* e *Cooperia*. Os mesmos autores

observaram no proteinograma, que em ambas as raças as concentrações séricas de proteína total foram menores do que os intervalos de referência. A concentração sérica de albumina revelou redução em ambas as raças, porém, sem alcançar os intervalos de referência inferiores aos descritos na literatura. Com relação aos valores séricos das globulinas, estes se mantiveram baixos durante todo o experimento na raça Ideal e nos momentos pré-parto e de lactação da raça Suffolk, quando comparado ao intervalo de referência descrito na literatura.

Ovelhas com hemoncose induzida experimentalmente, apresentaram redução significativa nas concentrações de proteína total sérica quando comparadas com os valores pré-infecção, assim como comparadas com o grupo controle (não infectado). As concentrações de albumina sérica nos animais infectados apresentaram reduções a partir do sétimo dia pós-infecção, e se mantiveram até o 42º dia após-infecção (BORDOLOI et al., 2012).

4.2 Perfil lipídico

Os ruminantes podem receber suplementação lipídica pela dieta, que tem a finalidade de aumentar a densidade energética (BERCHIELLI et al., 2011). Os lipídeos são compostos solúveis em solventes orgânicos de origem biológica. Atuam como fonte de energia para o organismo, por meio de triglicerídeos e ácidos graxos como componentes estruturais das membranas celulares: fosfolipídios e colesterol como substratos para hormônios. Dos compostos lipídicos no sangue ou em outros fluidos corporais, o colesterol e os triglicerídeos são os mais frequentemente determinados (STOCKHAM e SCOTT, 2011; VOET et al., 2014).

As lipoproteínas são constituídas por uma associação entre lipídeos e proteínas, e são organizadas em cinco classes: quilomícrons, VLDL (lipoproteínas de muito baixa densidade), IDL (lipoproteína de densidade intermediária), LDL (lipoproteína de baixa densidade) e HDL (lipoproteína de alta densidade). Sendo a VLDL, IDL e LDL responsáveis pelo transporte dos triacilgliceróis e colesterol endógenos do fígado para outros tecidos e o HDL responsável por transportar o colesterol e outros lipídeos dos tecidos de volta

para o fígado (VOET et al., 2014). Grande parte das lipoproteínas são sintetizadas no fígado e, durante a absorção dos ácidos graxos no intestino, uma pequena porcentagem do HDL é produzida no epitélio intestinal (GUYTON e HALL, 2011).

O colesterol pode ser obtido por meio da dieta ou pode ser sintetizado pelo organismo. Ele é um importante precursor de hormônios esteroidais, vitamina D e ácidos biliares, também estão presentes nas membranas celulares e micelas (BRUSS, 2008). No fígado, ocorre a maior parte de sua produção. Em casos de insuficiência hepática, pode ocorrer menor síntese e consequentemente menor concentração de colesterol no sangue (hipocolesterolemia). Uma vez que sua excreção ocorre por meio da bile, se houver distúrbios no fluxo biliar, como nos casos de colestase, pode ocorrer o aumento da concentração de colesterol no sangue (hipercolesterolemia) (ALISSON, 2015).

Os triglicerídeos, ou triacilgliceróis, são um grupo de lipídios que têm a presença de três ácidos graxos ligados a uma cadeia principal de glicerol. É transportado do intestino e fígado para os músculos por meio das lipoproteínas, e garante energia ao ser estocado no tecido adiposo (STOCKHAM e SCOTT, 2011).

4.3 Perfil enzimático

4.3.1 Lipase

A lipase é uma enzima secretada pelo pâncreas, que tem a função de quebrar os ácidos graxos, auxiliando o processo digestivo. Assim como a lipase, existem outras enzimas pancreáticas podem digerir os lipídios, sendo elas a colesterol esterase e a fosfolipase (KLEIN, 2014).

Para que a digestão dos lipídeos aconteça, o pâncreas irá produzir e liberar a enzima lipase para o lúmen do trato gastrointestinal. Desta forma, para que a lipase tenha ação sobre as moléculas de lipídeos é necessário que os

sais biliares sejam secretados para o lúmen do trato gastrointestinal. Estes sais biliares agem como uma substância detergente, dispersando os lipídeos e assim liberando a ação da lipase (HILL et al., 2012).

4.4 Perfil mineral

4.4.1 Cálcio

O cálcio é um mineral que exerce ações intra e extracelulares, e entre outras funções, apresenta ação mediadora das contrações musculares, condução nervosa, atua na secreção de hormônios, reações enzimáticas e na coagulação sanguínea, além de apresentar importância na sustentação óssea (BOHN, 2015).

As plantas forrageiras podem ser uma boa fonte de cálcio para os ruminantes e a concentração deste mineral pode ter variações de acordo com a espécie de forragem ingerida, porção da planta, entre outros (BERCHIELLI et al., 2011).

O cálcio ingerido pela alimentação é absorvido pelo trato gastrointestinal, em sua maior parte no duodeno, e sua excreção ocorre pela urina. Os rins reabsorvem cerca de 98% ou mais do cálcio filtrado, sendo importante para manter a regulação deste mineral (ROSOL e CAPEN, 1997).

Alguns mecanismos endócrinos também estão envolvidos na regulação das concentrações de cálcio presentes na circulação, sendo o paratormônio (PTH), a calcitonina e a vitamina D os mediadores mais frequentes (KLEIN, 2014).

4.4.2 Magnésio

O magnésio é o principal cátion intracelular e é um cofator necessário para que ocorram reações enzimáticas vitais nas principais vias metabólicas. Pode atuar em diversas enzimas celulares que são envolvidas no metabolismo energético e síntese de proteínas. Além disso, também desempenha função extracelular de condução nervosa (REECE, 2006; BERCHIELLI et al., 2011).

A absorção do magnésio em ruminantes jovens ocorre primariamente no íleo e no cólon, porém conforme o rúmen e retículo passam a se desenvolver, se tornam a via de absorção deste mineral. A concentração plasmática do magnésio em ovinos varia entre 1,8 a 2,3mg/100 mL (REECE, 2006).

Alterações neuromusculares como hiperexcitabilidade, ataxia e tremores, espasmos e fasciculações musculares podem ocorrer em animais domésticos com deficiência de magnésio (hipomagnesemia), juntamente com casos de hipocalcemia. Ao passo que o excesso do magnésio, ou hipermagnesemia, pode causar alterações cardíacas e neurológicas; que pode ser desencadeada via iatrogênica ou pela redução da excreção renal (BOHN, 2015).

5 Objetivos

5.1 Objetivos gerais

O presente estudo tem como objetivo investigar as variáveis hematológicas e bioquímicas séricas em borregas naturalmente infectadas por nematódeos gastrointestinais inseridas em um sistema integrado de produção agropecuária.

5.2 Objetivos específicos

Avaliar de forma quantitativa a infecção natural por nematódeos gastrointestinais pelos exames coproparasitológicos.

Identificar os gêneros dos parasitas pelas larvas infectantes obtidas no exame de coprocultura e identificar os gêneros de parasitas adultos recuperados em procedimento de necropsia.

Avaliar variáveis hematológicas (série vermelha e leucócitos totais) e também as variáveis bioquímicas séricas: proteína total, albumina, triglicérides, colesterol total, lipoproteínas de alta densidade (HDL), cálcio, magnésio e lipase das borregas naturalmente infectadas por nematódeos gastrointestinais.

Correlacionar os achados parasitológicos com os resultados das variáveis hematológicas e bioquímicas séricas das borregas ao longo do período de produção em um SIPA.

REFERÊNCIAS

- ALENCAR, N. X.; KOHAYAGAMA, A.; RODRIGUES, C. F. C.; CIARLINI, P. C. RAMOS, P. R. R.; CAMPOS, K. C. H. Proteinograma e exame coproparasitológico de ovelhas das raças Ideal e Sulffolk durante o parto. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 14, n. 2, p. 111-116, 2007.
- ALISSON, R. W. Avaliação laboratorial da função hepática. In THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*, 2 ed. Guanabara Koogan. cap. 26. p. 126 – 366, 2015.
- ALMEIDA, F. A., PIZA, M. L. S. T., BASSETTO, C. C., STARLING, R. Z. C., ALBUQUERQUE, A. C. A., PROTES, V. M., PARIZ, C. M., CASTILHOS, A. M., COSTA C., AMARANTE, A. F. T. Infection with gastrointestinal nematodes in lambs in different integrated crop-livestock systems (ICL). *Small Ruminant Research*, v. 166, p. 66–72, 2018.
- AMARANTE, A. F. T. *Os parasitas de ovinos*. 1. ed. Unesp Digital, p. 13 - 85, 2014.
- AMARANTE, A., F. T.; ROCHA, R. A.; BRICARELLO P. A. Relationship of intestinal histology with the resistance to *Trichostrongylus colubriformis* infection in three breeds of sheep. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.27 no.1, p. 43-48, 2007.
- AMARANTE, A. F. T. Resistência genética a helmintos gastrointestinais. In: Simpósio da Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, Pirassununga. Anais. *Simpósio da Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal*, São Paulo. p. 1-5, 2004.
- ANDERSON, R. C. Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission,,: CABI Publishing, p. 48-306, 2000.

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

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. *Nutrição de Ruminantes*. 2 ed. Jaboticabal: Funep, p. 169-170, 2011.

BOHN, A. A. Avaliação laboratorial dos eletrólitos. In THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*, 2 Ed. Guanabara Koogan. cap. 24. p. 126 – 138, 2015.

BOWMAN, D. *Parasitologia Veterinária*. 10. ed. Elsevier Brasil. p. 149-161, 2016.

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

BRUSS, M. L. In KANEKO, J. J.; HARVERY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical biochemistry of domestic animals*, 6. ed, cap. 4, p. 81-115, 2008.

BURGESS, C. G.; BARTLEY, Y.; REDMAN, E.; SKUCE, P. J.; NATH, M.; WHITELOW, F.; TAIT, A.; GILLEARD, J. S.; JACKSON, F. A survey of the trichostrongylid nematode species present on UK sheep farms and associated anthelmintic control practices. *Veterinary Parasitology*, v.189, p. 299-307, 2012.

Câmara Setorial da Cadeia Produtiva de Caprinos e Ovinos. In: Vilela D, Araújo PMM. (Org.). *Contribuições das câmaras setoriais e temáticas à formulação de políticas públicas e privadas para o agronegócio*. Brasília: MAPA/SE/CGAC, p.248-263, 2006.

CARLTON, W. W.; MCGAVIN, M. D. *Patologia Veterinária Especial de Thomson*, 2. ed. Porto Alegre: Artmed, p. 43-44, 1998.

CHRISTIE, M. G. On the hatching of *Nematodirus battus*, with some remarks on *N. filicollis*. *Parasitology*, v. 52, p. 297-313, 1962.

DIMITRIJEVIĆ, B.; JOVIĆ, S.; OSTOJIĆ-ANDRIĆ, D.; SAVIĆ, M.; BEČKEI, Ž.; DAVIDOVIĆ, V.; JOKSIMOVIĆ-TODOROVIĆ, M. Infection with

Strongyloides papillosus in sheep: effect of parasitic infection and treatment with albendazole on basic haematological parameters. *Biotechnology in Animal Husbandry*, v. 32. p. 369-381, 2016.

ECHEVARRIA, F. A. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J. L.; PINHEIRO, A. C. Use of reseeded pastures as an aid in the control of gastrointestinal nematodes. *Veterinary Parasitology*, v. 50, p. 151-155, 1993.

ECKERSALL, P. D. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias. In KANEKO, J. J.; HARVERY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical biochemistry of domestic animals*, 6. ed, cap. 5, p. 117-156, 2008.

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

FERNANDES, M. S.; FINCO, M. V. A. Sistemas de integração lavoura-pecuária e políticas de mudanças climáticas. *Pesquisa Agropecuária Tropical*. v. 44, n. 2, p. 182-190, 2014.

GIBBS, H. C. Hypobiosis in Parasitic Nematodes - An Update. *Advances in Parasitology*, v. 25. p. 129-174, 1986.

GONÇALVES, S. L.; FRANCHINI, J. C. Integração lavoura-pecuária. *Circular Técnica*. n. 44. p. 1-7. Embrapa. 2007.

GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.; PATIÑO, H.O.; RIBEIRO, L.A. Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre: *Universidade Federal do Rio Grande do Sul*. p. 23-30, 2000.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Tratado de fisiologia médica. 12^a Ed. Editora: ELSEVIER, Rio de Janeiro. p. 21, 2011.

HILL, R. W.; WYSE, G. A.; ANDERSON, M. *Fisiologia animal*, 2. Ed. Porto Alegre: Artmed. p. 134-135, 2012.

IBGE. *Produção da Pecuária Municipal 2016*. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/media/com_mediaibge/arquivos/a5bf983fc879908c3a2adf1bbfe8e243.pdf> Acesso em: 13 dez, 2017.

KAWANO, E. L.; YAMAMURA, M. H.; RIBEIRO, E. L. A. Efeitos do tratamento com anti-helmíntico em cordeiros naturalmente infectados com helmintos gastrintestinais sobre os parâmetros hematológicos, ganho de peso e qualidade da carcaça. *Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS*. v. 29(2), p. 113-121, 2001.

KLEIN, B. G. *Cunningham tratado de fisiologia veterinária*, 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 400-409, 2014.

MACIEL, W. G.; FELIPPELLI, G.; LOPES, W. D. Z.; TEIXEIRA, W. F. P.; CRUZEIRO, B. C.; SANTOS, T. R.; BUZZULINI, C.; FAVERO, F.; GOMES, L. C.; OLIVEIRA, G. O.; COSTA, A. J.; MATOS, L. V.S. Fauna helmintológica de ovinos provenientes da microrregião de Jaboticabal, estado de São Paulo, Brasil. *Ciência Rural*, v. 44, n. 3, p. 492-497, 2014.

MCRAE, K. M.; STEAR, M. J.; GOOD, B.; KEANE, O. M. The host immune response to gastrointestinal nematode infection in sheep. *Parasite Immunology*. v. 3, p. 605-613, 2015.

MONTEIRO, S. *Parasitologia Veterinária*. Ed. Roca. p. 219-222. 2011.

MORAES, A.; CARVALHO, P. C.; ANGHINON, I.; LUTOSA, S. B. C.; COSTA, S. E. V. G. A.; KUNRATH, T. R. Integrated crop-livestock systems in the brazilian subtropics. *European Journal of Agronomy*. v. 57. p. 4-9, 2014.

MORAES, A.; CARVALHO, P. C.; ANGHINON, I.; LUTOSA, S. B. C.; COSTA, S. E. V. G. A.; KUNRATH, T. R. Integrated crop-livestock systems in the brazilian subtropics. *European Journal of Agronomy*. v. 57. p. 4-9, 2014.

NOBREGA, A. *Novo Censo Agropecuário mostra crescimento de efetivo de caprinos e ovinos no Nordeste*. EMBRAPA. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/modelo/busca-de-noticias/-/noticia/36365362/novo-censo-agropecuário-mostra-crescimento-de-efetivo-de-caprinos-e-ovinos-no-nordeste>>.

Acesso em: 21 de dezembro de 2018.

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

OLIVEIRA, I. P.; MORAES, R. A. Sistema de integração lavoura pecuária no cerrado. Disponível em: <<http://faculadademontesbelos.com.br/sistema-integracao-lavoura-pecuaria-no-cerrado-2/>> Acesso em: 15 de março de 2019.

RAMOS, C. I.; BELLATO, V.; SOUZA, A. P.; AVILA, V. S.; COUTINHO, G. C.; DALAGNOLL, C. A. Epidemiologia das helmintoses gastrintestinais de ovinos no Planalto Catarinense. *Ciência Rural*, v. 34, n.6, p. 1889-1895, 2004.

RAPAPORT, Samuel I. *Hematologia: introdução*. 2. ed. São Paulo: Roca. p. 8-55, 1990.

REECE, W. O. *Dukes fisiologia dos animais domésticos*, 12. ed. Guanabara Koogan. p. 538-540, 2006.

ROSOL, J. T.; CAPEN, C. C. Calcium-Regulating Hormones and Diseases of abnormal mineral (calcium, phosphorus, magnesium) metabolism. In KANEKO, J. J.; HARVERY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical biochemistry of domestic animals*, 5th Ed., cap. 23, p. 619-702, 1997.

SANTIAGO, M. A. M.; BENEVENGA, S. F.; COSTA, U. C. Epidemiologia e controle da helmintose ovina no município de Itaquí, Rio Grande do Sul. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. v. 11, p. 1-7, 1976.

SCOTT, I.; SUTHERLAND, I. *Gastrointestinal nematodes of sheep and cattle: biology and control*. 1.ed. Wiley. p. 43, 2006.

STEAR, M.J.; BAIRDEN, K.; BISHOP, S. C.; BUITKAMP, J.; DUNCAN, J. L.; GETTINBY, G.; MCKELLAR, Q. A.; PARK, M.; PARKINS, J. J.; REID, S. W. J.; STRAIN, S.; MURRAY, M. The genetic basis of resistance to *Ostertagia circumcincta* in lambs. *The Veterinary Journal*, v.145, issue 2, p. 111-119, 1997.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. *Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária*. 2 Ed., Guanabara Koogan. p. 633-648, 2011.

TAYLOR, M.A.; COOP, R.L.; WALL, R.L. *Parasitologia Veterinária*, 4. ed. edição, Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, p. 439-468, 2017.

THAMBORG, S. M.; KETZIS, J.; HORII, Y.; MATTHEWS, J. B. *Strongyloides* infections of veterinary importance. *Parasitology*, v. 144. p. 274-284, 2016.

THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*, 2 Ed. Guanabara Koogan. p. 32–117, 2015.

VIANA, J. G. A. Panorama geral da ovinocultura no mundo e no Brasil. *Revista Ovinos*. Ano 4. v. 12, 2008.

VIEIRA L.S. Métodos alternativos de controle de nematóides gastrintestinais em caprinos e ovinos. *Revista Ciência y Tecnología Agropecuaria* . n.2, p.28-31, 2008.

VINEY, M. E.; LOK, J. B. *Strongyloides* spp. in: *WormBook*: the online revview of *C. Elegans* Biology. [Internet]. Passadenha (CA): *WormBook*, 2005-2018. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK19795/>. Acesso em: 8 ago. 2019.

VOET, D.; VOET, J.; PRATT, C. W. *Fundamentos de bioquímica: a vida em nível molecular*, 4. Ed. Porto Alegre: Artmed, p. 660-661, 2014.

WILMSEN, M. O.; SILVA, B. F.; BASSETTO C. C.; AMARANTE, A. F. T. Gastrointestinal nematode infections in sheep raised in Botucatu, state of São Paulo, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 23. p. 348-354, 2014.

CAPÍTULO 2

Neste capítulo consta o artigo: **“Variáveis hematológicas e bioquímicas séricas em borregas naturalmente infectadas por nematódeos gastrointestinais em sistema integrado de produção agropecuária”** (Hematological and biochemical serum variables in lambs naturally infected by gastrointestinal nematodes in an integrated crop-livestock system), que está submetido de acordo com as exigências para publicação do periódico: *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*.

As normas do periódico podem ser encontradas no link: <http://www.scielo.br/revistas/mioc/pinstruc.htm#02>



Variáveis hematológicas e bioquímicas séricas em borregas naturalmente infectadas por nematódeos gastrointestinais em sistema integrado de produção agropecuária

Journal:	<i>Memórias do Instituto Oswaldo Cruz</i>
Manuscript ID:	Draft
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Oliveira, Raphaela; UNESP Campus de Botucatu, Clínica Veterinária Fachioli, Daniele; UNESP Campus de Botucatu, Melhoramento e Nutrição Animal Alves Almeida, Fabiana; UNESP Campus de Botucatu, Instituto de Biociências Pariz, Cristiano; UNESP Campus de Botucatu, Melhoramento e Nutrição Animal Providelo, Gilson; UNESP Campus de Botucatu, Clínica Veterinária Raffi, Maria Clara; UNESP Campus de Botucatu, Clínica Veterinária Luciano Barbosa, Luciano; UNESP Campus de Botucatu, Instituto de Biociências Meirelles, Paulo; UNESP Campus de Botucatu, Melhoramento e Nutrição Animal Costa, Ciniro; UNESP Campus de Botucatu, Melhoramento e Nutrição Animal Schmidt, Elizabeth; UNESP Campus de Botucatu, Clínica Veterinária
Keyword:	sheep, gastrointestinal nematodes, hematology, serum biochemistry
Theme:	Parasitology, Helminthiasis

SCHOLARONE™
Manuscripts

Submission Confirmation



Thank you for your submission

Submitted to Memórias do Instituto Oswaldo Cruz

Manuscript ID MIOC-2019-0329

Title Variáveis hematológicas e bioquímicas séricas em bovinos naturalmente infectados por nematódeos gastrointestinais em sistema integrado de produção agropecuária

Authors Oliveira, Raphaela
Fachini, Daniele
Alves Almeida, Fabiana
Pereira, Cristiano
Provedelo, Gelson
Raffi, Maria Clara
Luciano Barbosa, Luciano
Mendes, Paulo
Costa, Cleon
Schmidt, Elizabeth

Date Submitted 30-Aug-2019

Variáveis hematológicas e bioquímicas séricas em borregas naturalmente infectadas por nematódeos gastrointestinais em sistema integrado de produção agropecuária

Raphaela Moreira de Oliveira^{1*}; Daniele Floriano Fachioli¹; Fabiana Alves Almeida²; Cristiano Magalhaes Pariz¹; Gilson Avelino Providelo¹; Maria Clara Bonni Raffi¹; Luciano Barbosa²; Paulo R.L. Meirelles¹; Ciniro Costa¹; Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt^{1**}.

¹ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), campus Botucatu, SP.

² Instituto de Biociências (IBB), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), campus Botucatu, SP.

CORRESPONDENCE

^{1,*} Departamento de Clínica Veterinária - FMVZ, Unesp, *câmpus* de Botucatu Distrito de Rubião Júnior, s/n, 18.618-970. Botucatu - SP, Brasil

^{1,*} Raphaela Moreira de Oliveira - raphaelamoreira7@gmail.com

RESUMO

A ovinocultura brasileira apresentou crescimento e é responsável pela produção de carne e leite, assim como lã e couro, e as infecções por nematódeos gastrointestinais são o maior problema sanitário. O objetivo do estudo foi avaliar a infecção natural por nematódeos gastrointestinais de borregas inseridas em um sistema de produção agropecuária. Borregas da raça Corriedale foram divididas em três grupos de dez

animais cada, definidos de acordo com o OPG e hematócrito obtidos após a primeira coleta. O grupo 1 (G1) foi composto por animais com OPG (ovos por grama de fezes) maior do que 5.000 e hematócrito menor ou igual a 24%; o grupo 2 (G2) com OPG maior do que 5.000 e hematócrito maior do que 24% e o grupo 3 (G3) com OPG menor do que 5.000 e hematócrito maior do que 24%. Amostras de fezes e sangue foram coletadas em quatro momentos ao longo do período experimental. Ao final do estudo duas borregas foram abatidas para coleta e identificação de parasitas adultos. Todas as variáveis foram avaliadas pelo teste de normalidade e variância homogênea, posteriormente testados pelo ANOVA, e comparação de médias pelo teste Tukey. As contagens de OPG apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$) nos três grupos, nos momentos 1 e 2. Os valores do hematócrito foram significativamente menores ($P < 0,05$) para o G1 no M1 e no G2 no M2. As variáveis CHCM, leucócitos totais, lipase, colesterol, triglicérides, HDL, cálcio total e magnésio não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) entre os grupos nos quatro momentos. Conclui-se que as variáveis hematológicas e bioquímicas séricas, associadas ao OPG, constituíram ferramentas úteis para avaliar o estado de saúde das borregas inseridas em um sistema integrado de produção agropecuária ao longo do período experimental.

Palavras-chave: ovinocultura, nematódeos, hematologia, bioquímica sérica

ABSTRACT

Brazilian sheep population has grown and gastrointestinal nematode infections are the major sanitary problem in sheep production. Our aim was to evaluate natural infection by gastrointestinal nematodes of lambs inserted in a integrated crop-livestock system. Corriedale lambs were divided into three groups of ten animals each, defined according

to the EPG (eggs per gram of faeces) and hematocrit obtained after the first sampling. Stool samples and blood were collected at four different time. All variables were evaluated by the normality test and homogeneous variance, later tested by ANOVA, and a comparison of means by the Tukey test. There were significant differences ($P < 0.05$) for EPG between the three groups at time points 1 and 2. The packed cell volume (PCV) was significantly decreased ($P < 0.05$) for G1 in M1 and G2 in M2. There were no significant differences for white blood cell counts (WBC) and the mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) between the different time points. Lipase, tryglicerides, cholesterol, HDL-cholesterol, total calcium, and magnesium concentrations were not significantly different between groups. Hematological and serum biochemical analytes associated with EPG were useful tools to evaluate the health status of lambs in an integrated crop-livestock system during the experimental period.

Keywords: sheep, gastrointestinal nematodes, hematology, serum biochemistry.

INTRODUÇÃO

A ovinocultura brasileira caracteriza-se por contrastes organizacionais entre as regiões produtoras, sendo a região nordeste a maior produtora. É uma atividade pecuária que apresentou crescimento nos últimos anos, entre eles destacam-se o estado do Paraná, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e São Paulo [21]. No atual cenário da ovinocultura, os nematódeos gastrointestinais são considerados o principal entrave dentro da cadeia produtiva, podendo causar redução no desempenho e até a mortalidade dos animais caso o controle sanitário adequado não seja aplicado. De forma geral, os ovinos podem ser parasitados simultaneamente por várias espécies de nematódeos [5].

O sistema integrado de produção agropecuária (SIPA) busca o sinergismo entre a produção de culturas anuais e a produção de forragem para a pecuária, promovendo interações solo-planta-animal [16], diminuindo a contaminação do pasto pelas larvas infectantes de nematódeos gastrointestinais, sendo alternativa para o controle da verminose em ovinos [11,17,3]. Desta forma, o presente estudo tem como objetivo avaliar, por meio de exames coproparasitológicos, as variáveis hematológicas e bioquímicas do soro no parasitismo gastrointestinal em borregas inseridas em um SIPA.

MATERIAL E MÉTODOS

A área experimental utilizada faz parte de um sistema integrado de produção agropecuária (SIPA). O estudo foi conduzido no Setor de Forragicultura da Fazenda Experimental Lageado, pertencente à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), localizada no município de Botucatu, região centro-oeste do estado de São Paulo.

Foram utilizadas 30 borregas, da raça Corriedale, provenientes da região sul do Brasil, oriundas de criação comercial, com idade aproximada de 90 dias. Antes do início do período experimental os animais foram identificados por meio de brincos e receberam uma dose da vacina (Poli-Star®, Vallée), profilática para botulismo, carbúnculo sintomático, gangrena gasosa, enterotoxemias e morte súbita dos ruminantes. As borregas receberam uma dose de vitamina (Vitagold®), para suplementação de vitaminas lipo e hidrossolúveis.

As borregas foram separadas em três grupos, de dez animais cada, definidos de acordo com os resultados da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) e hematócrito (Ht), obtidos após a primeira coleta de fezes e de sangue, respectivamente [2], ou seja, com valor de corte de OPG para 5.000, porém, com modificações, seguindo o intervalo

mínimo dos intervalos de referência do hematócrito (24 – 50%) para a espécie ovina [14]. Desta forma, o grupo 1 (G1) foi composto por animais com OPG maior do que 5.000 e hematócrito menor ou igual a 24%; o grupo 2 (G2) com OPG maior do que 5.000 e hematócrito maior do que 24% e o grupo 3 (G3) com OPG menor do que 5.000 e hematócrito maior do que 24%. A partir dos resultados obtidos para o OPG e Ht, na primeira coleta, optou-se por realizar tratamento anti-helmíntico, somente para o G1, com a base farmacológica closantel, 10 mg/Kg peso vivo (Diantel®).

As borregas foram mantidas durante o dia em pastagem de aveia preta (*Avena strigosa*), sobressemeada em área após a colheita do milho em consórcio com capim-marandu (*Urochloa brizantha*) para produção de silagem em SIPA, que foi oferecida aos animais. Durante a noite, os animais eram mantidos em galpão de terra batida, forrado com casa de café. Desta forma, pela manhã os animais eram soltos do galpão para os piquetes onde pastavam. Todos os piquetes possuíam bebedouros com fornecimento de água à vontade e sombrite. No final da tarde, os animais eram recolhidos no galpão, onde passavam a noite. Uma vez no galpão, era ofertada aos animais uma alimentação a base da mistura de silagem de milho e concentrado (a relação volumoso:concentrado era de 30:70). A ração continha em sua fórmula: farelo de milho (71,4%), farelo de soja (21,4%), sal mineral (4,1%), calcário (1,8%), ureia (1,5%) e monensina sódica (1,5%). A dieta das borregas foi formulada no programa computacional Small Ruminant Nutrition System (SRNS) com base no Cornell Net Carbohydrate and Protein System para ovinos [10].

O experimento foi desenvolvido no inverno, no período de 28 de junho a 06 de setembro do ano de 2017, totalizando 70 dias. Durante o período experimental foram realizadas quatro coletas de fezes e de sangue, nos seguintes momentos: momento 1 (M1) (28/06/2017), momento 2 (M2) (12/07/2017), momento 3 (M3) (09/08/2017) e

momento 4 (M4) (06/09/2017). Como foi necessário realizar tratamento para as borregas do G1, após a obtenção dos resultados no M1, optou-se por realizar a segunda coleta de amostras (M2) em intervalo de 14 dias. As coletas 3 e 4 (M3 e M4) foram realizadas em intervalos de 28 dias.

As coletas de fezes e sangue eram realizadas, de cada animal, pela manhã, a partir das 06h30min, com os animais em jejum, ainda no galpão. As coletas de amostras fecais foram feitas diretamente da ampola retal das borregas e acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados. As análises foram conduzidas no Laboratório de Helminologia Veterinária do Instituto de Biociências, da UNESP, campus Botucatu.

A partir do material fecal, foi realizada a contagem dos ovos por grama de fezes (OPG) e a coprocultura. O OPG foi feito pela técnica de McMaster modificada (Gordon e Whitlock, 1939) [12], preconizando as especificações de pequenos ruminantes (2 g de fezes diluídas em 58 mL de solução hipersaturada de NaCl), onde cada ovo contado representava 100 ovos/g de fezes. As coproculturas (Roberts e O'Sullivan, 1950) [19] foram feitas em pool de amostras de todos os animais para identificação dos gêneros das larvas infectantes de terceiro estágio (L3) [22].

Foram coletados 4 mL de sangue por venopunção da jugular, em sistema a vácuo (Sistema Vacutainer®). Foram obtidas duas amostras de cada animal (2 mL/amostra), onde uma delas era destinada para a obtenção do sangue total para o hemograma (tubo com anticoagulante EDTA K3, BD Vacutainer®) e outra para a obtenção do soro e determinação das variáveis bioquímicas (tubo sem anticoagulante, BD Vacutainer®).

Após a coleta do sangue, as amostras permaneceram conservadas em caixas de isopor refrigeradas até o momento da análise, que foram realizadas no Laboratório de Pesquisa em Proteínas de Fase Aguda e Monitoramento Não Invasivo da Reprodução e

do Bem-Estar Animal, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da UNESP, campus de Botucatu.

A contagem total de eritrócitos, concentração da hemoglobina (Hb), volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e leucócitos totais, foram realizados utilizando-se o analisador hematológico BC-5.000 (Mindray®). O hematócrito (Ht) foi determinado pela técnica do micro-hematócrito e as concentrações das proteínas plasmáticas totais (PPT) por refratometria [14]. As amostras de soro foram obtidas por centrifugação (3.000 rpm por 10 minutos) e as amostras foram aliquotadas em tubos do tipo Eppendorf® de 2mL identificados, que permaneceram congelados a -20°C até a determinação das variáveis bioquímicas (proteína total, albumina, triglicérides, colesterol total, HDL, cálcio total, magnésio e lipase). As determinações dessas variáveis foram realizadas na Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPEX) da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB), por meio do Analisador Bioquímico BS-200 (Mindray®), utilizando kits comerciais (Bioclin®, MG – Brasil).

Ao final do experimento, duas borregas, ambas do G1, foram selecionadas, de acordo com o valor de OPG (acima de 5.000) no primeiro momento do estudo, para análise parasitológica post-mortem. Essas borregas permaneceram em um jejum de 12 horas até o momento do abate. Durante o procedimento de necropsia, durante ao abate, o abomaso, o intestino delgado e o intestino grosso foram retirados e foram feitas ligaduras com barbante na transição de tais órgãos a fim de evitar a passagem de parasitas de uma víscera para a outra. Foram seccionados e, posteriormente, lavados cuidadosamente para coleta do conteúdo. Foram coletados 10% do conteúdo, preservado em formol 5% e mantido congelado até o momento das análises. A avaliação do conteúdo foi realizada no Laboratório de Helminologia Veterinária do Instituto de

Biociências, da UNESP, campus Botucatu. Os parasitas machos foram identificados por meio dos espículos [22]. Foram obtidos fragmentos do abomaso (medindo 50 x 17 x 3 mm) e do intestino delgado (medindo 26 x 28 x 5mm) de duas borregas, que foram fixados em formalina, corados com hematoxilina-eosina, e processados no Centro Veterinário de Diagnóstico Anátomo-Patológico e Biologia Molecular, em Botucatu, SP.

Para as análises estatísticas foi utilizado o programa estatístico Sigma Stat 3.5. Todas as variáveis avaliadas foram testadas pelo teste de normalidade (teste K) e aquelas que não apresentaram distribuição normal, foram novamente testadas pelo teste F (variância homogênea). Os dados do OPG, por não possuírem uma distribuição normal nos testes (teste K e teste F), foram transformados em logaritmo antes das análises estatísticas. Como houve normalidade na distribuição dos dados, utilizou-se o ANOVA (teste paramétrico), para avaliar as variáveis: grupo, momento e grupo x momento, permitindo determinar se a interação estatística das variáveis era significativa ou não. Naqueles em que houve interação estatística significativa ou diferença significativa, realizou-se o teste de Tukey para comparar as médias de tais variáveis. As médias de todos os resultados obtidos foram comparadas pelo teste “Two Way Repeated Measures” ANOVA (teste paramétrico de análise de variância de medidas repetidas). Para os valores que apresentaram diferença significativa ($P < 0,001$) no ANOVA, foi realizado o teste de Tukey (teste para comparar duas médias ou mais), onde a diferença foi significativa quando $P < 0,05$.

RESULTADOS

Nas coproculturas, em todos os momentos, foram identificadas L3 dos gêneros *Haemonchus* e *Trichostrongylus*. As L3 do gênero *Cooperia* foram recuperadas nos momentos 2, 3 e 4 (Tabela I). As contagens médias de OPG apresentaram diferenças (P

$< 0,05$) nos três grupos, nos momentos 1 e 2 (Tabela II). No M1, os grupos 1 e 2 apresentaram médias significativamente elevadas quando comparadas ao G3. No M2, o G2 apresentou média significativamente superior em relação ao G1 e G3.

Os valores médios do Ht foram menores ($P < 0,05$) para o G1 no M1 e no G2 no M2 (Tabela III). As contagens totais de eritrócitos e os valores médios da Hb foram maiores ($P < 0,05$) para o G3 nos M1, M2 e M3, quando comparados ao G1 e G2 nos mesmos momentos (Tabela III). Por outro lado, os valores médios do VCM foram maiores ($P < 0,05$) para o G1 no M1, e para o G2 no M2 (Tabela III).

As concentrações das PPT apresentaram diferenças ($P < 0,05$) entre os três grupos no M1 e foram superiores ($P < 0,05$) para o G3 no M2 (Tabela IV). Os valores médios das concentrações das proteínas totais séricas e albumina foram menores ($P < 0,05$) para o G1 e G2 no M1. No M2 e no M3, as concentrações das proteínas séricas totais foram maiores ($P < 0,05$) para o G3, quando comparadas ao G1 e ao G2. As concentrações de albumina foram menores para o G2 no M2 e no M3 (Tabela V).

As variáveis CHCM, contagens totais de leucócitos, lipase, colesterol, triglicérides, HDL, cálcio total e magnésio, não apresentaram diferenças significativas ($P \geq 0,05$) entre os grupos nos quatro momentos avaliados (Tabelas IV, V, VI e VII).

As lesões microscópicas dos fragmentos dos abomasos foram caracterizadas por infiltrado inflamatório linfoplasmocitário moderado em lâmina própria e discreto infiltrado inflamatório composto por eosinófilos e linfócitos em submucosa. Nos fragmentos de intestino delgado, foram observados infiltrados inflamatórios acentuados em lâmina própria compostos por linfócitos, plasmócitos e raros eosinófilos.

Ao final do experimento, espécimes de parasitas adultos recuperados nas necropsias das duas borregas, foram encontrados no abomaso e intestino delgado, sendo

identificadas as espécies *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus axei*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Cooperia curticei* e *Nematodirus spathiger*.

DISCUSSÃO

Investigação anterior realizada em SIPA [3] indicou, como no presente estudo, os gêneros *Haemonchus* spp. e *Trichostrongylus* spp., como os mais prevalentes em ovinos. Observou-se predominância de L3 do gênero *Haemonchus* spp. nas coproculturas realizadas nas quatro coletas para os três grupos avaliados (Tabela I). Esses resultados estão em acordo com a prevalência deste gênero de nematódeo em ovinos, no município de Botucatu [24], na região sudeste e no Brasil, de forma geral [4, 5]

As borregas do G1, no M1, que apresentaram valores médios de OPG elevados (Tabela II), acompanhados de dos valores médios diminuídos do Ht, Hb e contagens totais de eritrócitos (Tabela III), foram tratadas com Closantel, base farmacológica de espectro restrito, indicada contra parasitas do gênero *Haemonchus* spp. [15]. Esses resultados demonstraram a ação espoliativa, pela hematofagia, promovida pelo gênero em questão, caracterizando a condição de anemia, acompanhada de hipoproteinemia e hipoalbuminemia [1,25,23], observadas nas borregas do G1 (Tabelas IV e V). Ovelhas da raça Corriedale apresentaram hipoproteinemia sérica e hipoalbuminemia em infecção natural por *H. contortus* [7]. Paralelamente, no G1, às alterações no Ht, Hb e contagens totais de eritrócitos, as borregas apresentaram aumento ($P<0,05$) dos valores médios do VCM (Tabela 3), com eritrócitos de maior volume na circulação sanguínea (macrocitose), demonstrando que, mesmo com a ação dos endoparasitas, os animais apresentaram atividade da medula óssea, com liberação de eritrócitos jovens na

circulação sanguínea, caracterizando a evolução do processo anêmico [13], que ocorre na verminose em pequenos ruminantes [20,6].

O tratamento anti-helmíntico realizado para o G1 foi eficaz, uma vez que os resultados médios das contagens de OPG diminuíram significativamente (Tabela II) ao longo dos outros três momentos experimentais. Após tratadas, observou-se que essas borregas apresentaram aumento significativo, a partir do M2, das variáveis Ht, Hb, contagens totais de eritrócitos, PPT, proteínas séricas totais e albumina (Tabelas III, IV e V). Por outro lado, o G2, que não foi tratado, apresentou diminuição ($p < 0,05$) das contagens totais de eritrócitos, Ht, Hb, PPT, proteínas séricas e albumina no M2, com aumento no índice VCM (Tabelas III, IV e V), quando comparados ao G1 e ao G3 no M2. Esses resultados sugeriram o processo de hematofagia e espoliação causados pelos nematódeos gastrointestinais, apesar de que os resultados médios das variáveis em questão estiveram dentro dos intervalos de referência para a espécie ovina [14,13]. Ademais, a partir do M3, com a diminuição dos valores médios do OPG, mesmo sem tratamento anti-helmíntico, o G2 continuou com valores médios inferiores ($p < 0,05$) para as contagens totais de eritrócitos, Hb, PPT, proteínas séricas e albumina, quando comparados ao G1, que recebeu tratamento. Assim, as borregas do G2 levaram um tempo maior para recuperação dos efeitos deletérios do parasitismo gastrointestinal.

O parasitismo por nematódeos gastrointestinais em ovinos promove a resposta imune nos hospedeiros [5]. No entanto, a avaliação da variável contagem total de leucócitos, no presente estudo, não apresentou diferenças significativas para os grupos nos momentos avaliados (Tabela IV). Esta variável também não se mostrou útil para avaliar a resposta imune na infecção experimental por *H. contortus* em três raças diferentes de ovinos [25]. Contudo, pode-se inferir, nesta investigação, que a inflamação, promovida por lesão tecidual do trato gastrointestinal pelos nematódeos, foi

localizada, uma vez que as lesões microscópicas dos abomasos e dos fragmentos do intestino delgado demonstraram abomasite linfoplasmocitária e enterite linfoplasmocitária e eosinofílica moderada. Assim, a partir dos resultados das contagens totais de leucócitos e dos exames histopatológicos, aparentemente, não houve reação inflamatória sistêmica nos grupos de ovelhas avaliados neste estudo.

Infecções naturais por nematódeos gastrointestinais em bezerros e equinos demonstraram alterações no perfil lipídico e da lipase, com prejuízos na absorção intestinal de lipídeos, diminuição do apetite e baixa digestibilidade dos alimentos, pelas lesões na mucosa do trato intestinal [9,18]. As borregas avaliadas neste estudo não apresentaram alterações para essas variáveis (Tabelas V e VI) ao longo de todo o período em que estiveram inseridas no SIPA, recebendo suplementação com silagem de milho e concentrado. Desta forma, o manejo nutricional adequado pode ter auxiliado os animais a combater e evitar os efeitos deletérios do parasitismo em ovinos [3,8] sem causar prejuízos na absorção e no metabolismo lipídico.

As cinco espécies de nematódeos gastrointestinais adultos recuperados do trato gastrointestinal: *H. contortus*, *T. axei*, *T. colubriformis*, *C. curticei* e *Nematodirus spathiger*, foram semelhantes às recuperadas em ovinos inseridos em um SIPA, no município de Botucatu [4]. A espécie *N. spathiger*, não é endêmica da região de Botucatu, no entanto, a recuperação destes nematódeos ocorreu pelo fato das borregas utilizadas neste estudo serem oriundas da região sul do Brasil, onde há presença e evidência deste nematódeo [4]

A produção de ovinos, inseridos em um SIPA, como alternativa de auxílio ao controle da verminose, apresenta resultados satisfatórios, pois há diminuição da contaminação da pastagem, reduzindo o desenvolvimento e a sobrevivência de larvas

infectantes no pasto [3,11], fato constatado também neste estudo, uma vez que houve diminuição ($P<0,05$) para as contagens médias de OPG ao longo do período e estabilização das variáveis hematológicas e bioquímicas séricas para os três grupos avaliados, principalmente a partir do M3. Pode-se inferir que as variáveis hematológicas e bioquímicas séricas foram úteis para avaliar o estado de saúde das borregas, independentemente do parasitismo gastrointestinal ao longo do período experimental. Por outro lado, as variáveis hematológicas (contagem total de eritrócitos, Ht, Hb e VCM) e bioquímicas séricas (proteínas totais e albumina), utilizadas na rotina de atendimento da clínica de ruminantes, também poderiam ser utilizadas como biomarcadores do monitoramento da infecção natural por nematódeos gastrintestinais, principalmente pelo gênero *Haemonchus* spp., o mais prevalente durante a investigação, desde que associadas ao OPG, como ferramentas para auxiliar o diagnóstico clínico e também para compreender os processos patológicos associados ao parasitismo no sistema integrado de produção agropecuária.

CONCLUSÕES

As variáveis hematológicas e bioquímicas séricas como biomarcadores do monitoramento da infecção natural de ovinos por nematódeos gastrintestinais, quando associadas ao OPG, constituem ferramenta para auxiliar no diagnóstico clínico, especialmente em relação à anemia. O sistema integrado de produção agropecuária, com suplementação dos animais, constitui medida profilática eficiente no controle da verminose na produção de ovinos em pastejo.

AGRADECIMENTOS

O presente estudo foi realizado com recursos financeiros FAPESP (Auxílio processo n. 2017/05055) e foi contemplado com uma bolsa de mestrado CAPES. Este

estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da FMVZ – Unesp câmpus de Botucatu (protocolo 0152/2017 – CEUA).

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

Raphaela Moreira de Oliveira: autora e análises laboratoriais; Daniele Floriano Fachiolli, Fabiana Alves Almeida, Cristiano Magalhaes Pariz, Gilson Avelino Providelo, Maria Clara Bonni Raffi: análises laboratoriais; Luciano Barbosa: análises estatísticas; Paulo R.L. Meirelles, Ciniro Costa: Professor; Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt: professora orientadora.

REFERÊNCIAS

- 1 Abbott, E.M.; Parkins, J.J. & Holmes, P.H. Influence of dietary protein on the pathophysiology of haemonchosis in lambs given continuous infections. *Res Vet Sci.* 1998. 45: 41-49.
- 2 Albuquerque, A.C.A.; Bassetto, C.C., De Almeida, F.A. & Amarante, A.F.T. Development of *Haemonchus contortus* resistance in sheep under suppressive or targeted selective treatment with monepantel. *Vet Parasitol.* 2017. 246: 12-117.
- 3 Almeida, F. A., Piza, M. L. S. T., Bassetto, C. C., Starling, R. Z. C., Albuquerque, A. C. A., Protes, V. M., Pariz, C. M., Castilhos, A. M., Costa C. & Amarante, A. F. T. Infection with gastrointestinal nematodes in lambs in different integrated crop-livestock systems (ICL). *Small Rumin Res.* 2018. 166: 66–72.
- 4 Almeida, F. A.; Bassetto, C. C.; Amarante, M. R. V.; Albuquerque, A. C. A.; Starling, R. Z. C. & Amarante, A. F. T. Helminth infections and hybridization between *Haemonchus contortus* and *Haemonchus placei* in sheep from Santana do Livramento, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 2018. 27(3): 280-288.

- 5 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.* 2004. 120: 91-106.
- 6 Birgel, D. B.; Muller, A. F.; Fantinato-Neto, P.; Storillo, V. M.; Benesi, F. J. & Birgel-Junior, E. H. B. Avaliação do quadro eritrocitário e da repercussão do estado anêmico no leucograma de caprinos com verminose gastrintestinal. *Pesq Vet Bras.* 2014. 34: 199-204.
- 7 Bricarello, P. A.; Gennari, S. M.; Oliveira-Sequeira, T. C. G.; Vaz, C. M. S. L.; Gonçalves De 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.* 2004. 51: 75–83.
- 8 Carvalho, N.J.; Neves, J.H.; Louvandini, H. & Amarante, A.F.T. The effects of Diet and corticosteroid-induced immune suppression during infection by *Haemonchus contortus* in lambs. *Vet Parasitol.* 2015. 214: 289-294.
- 9 Cezaro, M. C.; Tvarijonaviciute, A.; Tecles, F.; Céron, J. J.; Eckersall, D. P.; Ferreira, J. C. P. & Schimidt, E. M. S. Changes in biochemical analytes in calves infected by nematode parasites in field conditions. *Vet Parasitol.* 2016. 219: 1-6.
- 10 Cornell Net Carbohydrate And Protein System. The net carbohydrate and protein system for evaluationg herd nutrition and nutrients excretion, version 5.0. CNCPS. Ithaca. 2000. 237.
- 11 Echervarria, F.A.M.; Armour, J.; Duncan, J.L. & Pinheiro, A.C. Use of reseeded pastures as an aid in the control of gastrointestinal nematodes. *Vet Parasitol.* 1993. 50: 151-155.

- 12 Gordon, H.M.L. & Whitlock, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. Journal of the Council for Scientific and Industrial Research. 1939. 12: 50.
- 13 Harvey, J.W. Veterinary Hematology: a diagnostic guide and color atlas. St. Louis: Elsevier Saunders. 2012. 368p.
- 14 Jain, N.C. Schalm's Veterinary Hematology. 4th edn. Philadelphia: Lea & Febiger. 1986. pp 837.
- 15 Melo, A.C.F.L. & Bevilaqua, C.M.L. Resistência anti-helmíntica em nematóides de pequenos ruminantes: uma revisão. Rev Acad Ciênc Anim. 2002. 12: 35-45.
- 16 Moraes, A.; Carvalho, P. C.; Anghinon, I.; Lutosa, S. B. C.; Costa, S. E. V. G. A. & Kunrath, T. R. Integrated crop-livestock systems in the brazilian subtropics. Eur J Agron. 2014. 57: 4-9.
- 17 Pariz, C.M.; Costa, C.; Crusciol, C.A.C.; Castilhos, A.M.; Meirelles, P.R.L.; Roça, R.O.; Pinheiro, R.S.B.; Kuwahara, F.A.; Martello, J.M.; Cavasano, F.A.; Yasuoka, J.L.; Sarto, J.R.W., Melo, V.F.P. & Franzleubbers, A.J. Lamb production responses to grass grazing in a companion crop system with corn silage and oversowing of yellow oat in tropical region. Agric Syst. 151: 1-11.
- 18 Petty, D.P.; Lange, A.L.; Verster, A. & Hattingh, J. 1992. Necropsies of eight horses infected with *Strongylus equinus* and *Strongylus edentatus*. J S Afri Vet Assoc. 2017. 63: 66-69.
- 19 Roberts, F.H.S.; O'sullivan, J.P. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. Aust J Agric Res. 1950. 1: 99.

- 20 Silva, A. S.; Andressa S. Schafer, A. S.; Aires, A. R.; Tonin, A. A.; Pimentel, V. C.; Oliveira, C. B.; Zanini, D.; Schetinger, M. R. C.; Lopes, S. T. A. & Leal, M. L. R. E-Ada. Activity in erythrocytes of lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus* and its possible functional correlations with anemia. Res Vet Sci. 2013. 95: 1026–1030.
- 21 Souza, J. D. F.; Souza, O. R. G. & Campeão, P. Mercado e comercialização na ovinocultura de corte no Brasil. Rev Econ Sociol Rural. 2012. 1: 1-16.
- 22 Ueno, H. & Gonçalves, P. C. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes. 4th edn. Tóquio: Japan International Cooperation Agency. 1998. pp. 4-45.
- 23 Taylor, M.A.; Coop, R.L. & Wall, R.L. Parasitologia Veterinária, 4th edn, Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2017. pp. 965.
- 24 Wilmsen, M. O.; Silva, B. F.; Bassetto C. C. & Amarante, A. F. T. Gastrointestinal nematode infections in sheep raised in Botucatu, state of São Paulo, Brazil. Vet Parasitol. 2014. 23: 348-354.
- 25 Zajac, A.M.; Krakowka, S.; Herd, R.P. & McClure, K.E. Experimental *Haemonchus contortus* infection in three breeds of sheep. Vet Parasitol. 1990. 36: 221-235.

Tabela I - Porcentagens dos gêneros de nematódeos nas coproculturas (%) das borregas naturalmente infectadas por nematódeos gastrointestinais nos diferentes momentos.

	Gêneros de nematódeos (L ₃)		
	<i>Haemonchus</i> spp. (%)	<i>Trichostrongylus</i> spp. (%)	<i>Cooperia</i> spp. (%)
Momento 1	94,5	5,5	0
Momento 2	86,1	11,5	2,3
Momento 3	88,5	11,3	0,1
Momento 4	73,1	23	3,8

Tabela II - Ovos por grama de fezes (OPG) das borregas naturalmente infectadas por nematódeos gastrointestinais nos diferentes momentos. Valores de média, desvio padrão e amplitude (mínimo e máximo).

	Momento 1			Momento 2			Momento 3			Momento 4		
	G1	G2	G3	G1	G2	G3	G1	G2	G3	G1	G2	G3
OPG	15.120 ^{Aa}	18.070 ^{Aa}	1.421 ^{Ab}	1.920 ^{Ba}	7.740 ^{Ab}	1.750 ^{Aa}	1.610 ^B	2.020 ^B	750 ^A	650 ^B	320 ^B	520 ^A
	± 5.319,1	± 6.676,08	± 1.391,89	± 1.345,95	± 5.968,28	± 1.851,62	± 1.014	± 2.632,79	± 904,20	± 665,20	± 256,12	± 614,49
	(6.900- 23.800)	(9.300- 33.000)	(0-4.300)	(100- 5.100)	(1.500- 18.900)	(0-5.000)	(100- 3.700)	(0-9.200)	(0-2.400)	(0-1.900)	(0-700)	(0-2.100)

Teste Tukey para comparação de duas médias (interação grupo x momento) $P < 0,05$. Letras maiúsculas subscritas diferentes representam diferença significativa entre os momentos no mesmo grupo. Letras minúsculas sobrescritas diferentes representam diferença significativa entre os grupos no mesmo momento.

Tabela III - Variáveis hematológicas (série vermelha) das borregas naturalmente infectadas por nematódeos gastrointestinais nos diferentes momentos. Valores de média, desvio padrão e amplitude (mínimo e máximo).

	Momento 1			Momento 2			Momento 3			Momento 4		
	G1	G2	G3	G1	G2	G3	G1	G2	G3	G1	G2	G3
Eritrócitos	6,54 ^a	7,53 ^a	11,01 ^b	8,53 ^a	7,05 ^a	10,86 ^b	9,63 ^{ab} ±0,97 (7,7-10,7)	8,98 ^a	11,12 ^b	10,01	9,99	11,27
Totais	±1,12	±1,56	±2,46	±0,89	±1,31	±2,76		±1,71	±2,28	±0,85	±1,58	±1,69
(x10 ⁶ /μL)	(4,57- 8,52)	(4,84- 9,81)	(8,37- 15,73)	(7,0- 10,61)	(4,91- 9,56)	(8,13- 17,44)		(6,08- 11,48)	(8,17- 15,29)	(8,58- 11,39)	(6,59- 12,39)	(9,06- 15,19)
Hematócrito	22,10 ^a	28,50 ^b	31,5 ^b	31,1 ^{ab}	27,40 ^a	34,7 ^b	30,9 ^a	32 ^a	37,1 ^b	33,3	33,3	36,10
(%)	±1,64 (19-24)	±2,24 (25-32)	±5,85 (19-42)	±2,7 (28-37)	±5,8 (18-40)	±5,86 (29-50)	±3,88 (23-35)	±3,6 (25-37)	±5,12 (30-47)	±1,61 (31-35)	±3,7 (25-39)	±2,21 (33-40)
Hemoglobina	7,61 ^a	8,37 ^a	11,3 ^b	10 ^{ab}	8,6 ^a	11,5 ^b	10,9 ^{ab}	10,53 ^a	12,09 ^b	11,39	11,34	12,37
(g/dL)	±1,22 (5,6-9,5)	±1,53 (6,1- 10,6)	±1,82 (9,2- 14,2)	±1,6 (8,1-11,9)	±1,3 (5,7-10,8)	±1,96 (9,4-16,1)	±0,6 (9,5-11,8)	±1,33 (8,8-12,6)	±1,59 (9,8-14,7)	±0,4 (10,6- 12,1)	±1,25 (9,0-13,3)	±0,9 (10,9-14,3)
	38,32 ^a	37,08 ^{ab}	33,76 ^b	38,08 ^{ab}	40,98 ^a	34,67 ^b	35,85	38,46	34,96	34,67	34,9	

VCM	±1,58	±3,64	±2,79	±1,58	±3,64	±2,79	±2,05	±3,57	±3,81	±2,70	±3,19	
(fL.)	(37,3- 42,2)	(33,7- 44,9)	(28,4- 38,2)	(37,3- 42,2)	(33,7- 44,9)	(28,4- 38,2)	(33,0- 39,8)	(34,9- 46,2)	(29,2- 40,6)	(31,4- 38,9)	(32,0- 41,9)	33,87 ±3,19 (29,3-38,0)
CHCM	30,5	30,3	31,1	30,3	29,8	31,1	31,7	30,9	31,6	33		32,8
(%)	±12,68 (27,3- 32,1)	±11,43 (28,2- 32,5)	±9,57 (29,6- 33,1)	±7,6 (29,1- 31,7)	± 9,36 (28,4- 33,4)	±9,36 (29,8- 33,4)	±4,02 (30,9- 32,3)	±6,57 (29,9- 32,5)	±10,36 (30,0- 33,3)	±7,41 (31,4- 34,3)	32,8 ±5,60 (32,2-34)	±8,09 (31,8-34,1)

Letras minúsculas sobreescritas diferentes representam diferença significativa entre os grupos no mesmo momento.

Tabela IV - Concentrações das proteínas plasmáticas totais e contagem totais de leucócitos das borregas naturalmente infectadas por nematódeos gastrointestinais nos diferentes momentos. Valores de média, desvio padrão e amplitude (mínimo e máximo).

	Momento 1			Momento 2			Momento 3			Momento 4		
	G1	G2	G3	G1	G2	G3	G1	G2	G3	G1	G2	G3
Proteína Plasmática (g/dL)	4,64 ^a	5,54 ^b	6,36 ^c	5,97 ^{ab}	5,40 ^a	6,54 ^b	6,12	5,92	6,56	6,26	6,20	6,38
	±0,52	±0,88	±1,13	±0,66	±0,80	±0,98	±0,31	±0,46	±0,4	±0,41	±0,61	±0,49
	(4,0-5,6)	(3,4-6,6)	(4,8-9,2)	(4,5-6,8)	(4,2-7,0)	(5,4-8,8)	(5,4-6,4)	(4,8-6,6)	(5,4-6,8)	(5,4-7,0)	(5,8-8,0)	(5,6-7,4)
Leucócitos Totais (x10 ³ /μL)	5,89	5,81	8,14	7,09	6,11	8,50	6,31	6,96	9,24	6,38	7,38	8,14
	±1,24	±1,01	±3,36	±2,24	±1,81	±4,50	±2,21	±1,67	±6,69	±1,21	±1,97	±3,43
	(3,1-7,9)	(3,8-7,4)	(3,8 - 16,2)	(4,9-13,2)	(4,3-10,2)	(3,6-19,3)	(4,6-8,3)	(4,8-11,1)	(4 - 27,4)	(5,1-10,2)	(4,2-11,2)	(4,2-14,9)

Letras minúsculas sobrescritas diferentes representam diferença significativa entre os grupos no mesmo momento.

Tabela V - Variáveis bioquímicas (proteínas séricas totais, albumina e lipase) das borregas naturalmente infectadas por nematódeos gastrointestinais nos diferentes momentos. Valores de média, desvio padrão e amplitude (mínimo e máximo).

	Momento 1			Momento 2			Momento 3			Momento 4		
	G1	G2	G3	G1	G2	G3	G1	G2	G3	G1	G2	G3
Proteína	4,87 ^a	4,82 ^a	6,93 ^b	5,55 ^{ab}	4,84 ^a	6,29 ^b	6,0 ^{ab}	5,53 ^a	6,38 ^b	6,16	6,0	6,51
Total Sérica	±0,64	±0,80	±1,08	±0,50	±0,49	±0,14	±0,24	±0,56	±0,65	±0,32	±0,47	±0,48
(g/dL)	(4,0-6,0)	(3,6-6,2)	(5,6-8,7)	(4,8-6,30)	(4,1-5,7)	(5,1-9,0)	(5,7-6,4)	(4,2-6,3)	(5,5-8,0)	(5,6-6,5)	(5,3-6,6)	(5,7-7,3)
Albumina	2,27 ^a	2,32 ^a	2,95 ^b	2,47 ^a	2,16 ^b	2,66 ^a	2,67 ^{ab}	2,38 ^a	2,70 ^b	2,84	2,75	2,80
g/Dl	±0,29	±0,31	±0,40	±0,27	±0,28	±0,28	±0,15	±0,29	±0,17	±0,15	±0,27	±0,13
	(1,8-2,7)	(1,7-2,9)	(2,4-3,9)	(2,0-2,9)	(1,5-2,6)	(2,3-3,1)	(2,4-2,9)	(1,9-2,9)	(2,4-3,1)	(2,4-2,8)	(1,9-2,9)	(2,4-3,1)
Lipase	15,4	14,2	14,5	17,4	19,5	17,6	17,2	21,1	21,1	13,9	14,9	12,1
(U/L)	±3,8	±5,6	±3,6	±6,3	±5,2	±6,4	±7,6	±3,8	±7,8	±3,5	±3,2	±4,6
	(10-23)	(2-22)	(10-22)	(7-30)	(10-30)	(9-30)	(4-28)	(14-26)	(13-22)	(8-18)	(10-19)	(7-22)

Letras minúsculas sobrescritas diferentes representam diferença significativa entre os grupos no mesmo momento.

Tabela VI - Variáveis bioquímicas (perfil lipídico) das borregas naturalmente infectadas por nematódeos gastrointestinais nos diferentes momentos. Valores de média, desvio padrão e amplitude (mínimo e máximo).

	Momento 1			Momento 2			Momento 3			Momento 4		
	G1	G2	G3	G1	G2	G3	G1	G2	G3	G1	G2	G3
Colesterol	60,5	64,2	84,2	56,3	48,8	56,5	63,4	56,5	69,7	64,6	63,9	70,8
Total	±10,2	±12,7	±27,2	±12,9	±6,9	±21,7	±9,3	±7,0	±15,5	±10,5	±11,8	±11,9
(mg/dL)	(44-74)	(43-84)	(50-154)	(40-79)	(41-63)	(29-107)	(52-83)	(53-75)	(52-108)	(48-84)	(46-79)	(52-88)
Triglicérides	28,5	26,8	26,0	21,7	22,6	17,33	22,25	22,1	21,8	15,9	16,6	16,1
(mg/dL)	±7,0	±4,5	±7,8	±6,51	±8,23	±5,14	±3,74	±6,04	±4,14	±3,11	±6,3	±2,8
	(18-43)	(20-35)	(16-45)	(12-35)	(8-34)	(9-26)	(16-31)	(15-34)	(16-31)	(11-22)	(9-28)	(12-23)
HDL	43,7	39,8	48,7	38,9	33,9	35,9	44,9	44,3	47,7	44,9	44,5	45,5
(mg/dL)	±7,6	±10,6	±10,1	±10,9	±5,9	±9,9	±7,3	±4,6	±8,4	±5,7	±7,0	±7,0
	(29-58)	(26-62)	(36-66)	(25-60)	(25-45)	(23-55)	(33-57)	(38-53)	(33-66)	(34-53)	(35-54)	(35-54)

Letras minúsculas sobrescritas diferentes representam diferença significativa entre os grupos no mesmo momento.

Tabela VII. Variáveis bioquímicas (cálcio total e magnésio) das borregas naturalmente infectadas por nematódeos gastrointestinais nos diferentes momentos. Valores de média, desvio padrão e amplitude (mínimo e máximo).

	Momento 1			Momento 2			Momento 3			Momento 4		
	G1	G2	G3	G1	G2	G3	G1	G2	G3	G1	G2	G3
Cálcio Total (mg/dL)	10,0	9,2	10,4	8,9	10,0	7,7	9,8	9,1	9,3	10,2	10,3	10,1
	±2,1	±0,92	±1,5	±3,14	±0,77	±4,1	±0,27	±0,55	±0,72	±0,62	±0,77	±0,39
	(7,3-14,3)	(7,9-10,8)	(8,7-13,4)	(0-11,7)	(8,9-11,4)	(0-10,6)	(9,3-10,1)	(8,6-10,3)	(8,1-10,9)	(9,1-11,2)	(9,2-11,5)	(9,7-11,0)
Magnésio (mg/dL)	1,9	1,9	2,3	1,9	2,2	1,7	2,1	2,0	2,0	2,1	2,0	2,1
	±0,3	±0,1	±0,8	±0,6	±0,2	±0,8	±0,2	±0,2	±0,2	±0,2	±0,1	±0,2
	(1,4-2,6)	(1,7-2,1)	(1,8-4,4)	(0,2-2,4)	(1,8-2,5)	(0,2-2,5)	(1,7-2,4)	(1,7-2,4)	(1,8-2,3)	(1,8-2,5)	(1,8-2,2)	(1,8-2,4)

Letras minúsculas sobrescritas diferentes representam diferença significativa entre os grupos no mesmo momento.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A infecção por nematódeos gastrointestinais na espécie ovina é um grande problema enfrentado pelos produtores dos animais não só no Brasil, mas como no mundo. Os efeitos causados pelos parasitas podem trazer prejuízos econômicos na cadeia produtiva, além de interferir negativamente bem-estar do rebanho.

Exames coproparasitológicos podem fazer parte da rotina do manejo sanitário na ovinocultura, desta forma é possível fazer a quantificação da infecção, bem como identificar as espécies parasitas envolvidas. Aliado aos exames parasitológicos, as variáveis hematológicas e bioquímicas séricas podem ser utilizadas como biomarcadores das infecções causadas pelos nematódeos gastrointestinais.

Visto que as infecções parasitárias são comuns na cadeia produtiva ovina, medidas profiláticas devem ser aplicadas e a implementação de um sistema integrado de produção agropecuária pode ser uma importante ferramenta na profilaxia, na qual alterna culturas agrícolas e pastagens, e se mostra eficaz na descontaminação das pastagens em que os animais se alimentam.

Portanto, o experimento realizado demonstra os benefícios da criação de ovinos em um sistema de produção agropecuária frente as infecções parasitárias, assim como a aplicação de variáveis hematológicas e bioquímicas séricas monitorando as infecções. Tal estudo pode contribuir com futuras investigações na área de parasitologia veterinária.

ANEXOS

INTERVALOS DE REFERÊNCIA PARA ESPÉCIE OVINA

Hematologia

Parâmetro	Intervalo de Referência
Contagem total de Eritrócitos ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	4 a 12
Hemoglobina (g/dL)	8 a 16
Hematócrito (%)	24 a 50
VCM (fL)	28 a 40
CHCM (%)	31 a 34
Proteína Plasmática (g/dL)	6,0 a 7,5
Leucócitos Totais ($/\mu\text{L}$)	4.000 a 12.000

Jain, 1986³

Bioquímica Sérica

Parâmetro	Intervalo de Referência
Proteínas totais séricas (g/dL)	6 a 7,9
Albumina (g/dL)	2,4 a 3,0
Colesterol Total (mg/dL)	5,2 a 7,6
Triglicérides	Não disponível
HDL	Não disponível
Lipase (U/L)	0 a 83
Magnésio (mg/dL)	2,2 a 2,8
Cálcio (mg/dL)	11,5 a 12,8

Kaneko, 2008⁴

³ JAIN, N. C. Schalm's Veterinary Hematology. 4th ed. Philadelphia": Lea & Febiger, 1986.

⁴ KANEKO, J. J.; HARVERY, J. W.; BRUSS, M. L. Clinical biochemistry of domestic animals, 6th ed., 2008.

ATESTADO COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



ATESTADO

Atesto que o Projeto "Sistema de integração lavoura pecuária como alternativa para a prevenção de infecções naturais por nematódeos gastrintestinais na produção de ovinos" **Protocolo CEUA 0152/2017**, a ser conduzido por Raphaela Moreira de Oliveira, responsável/orientador Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt, para fins de pesquisa científica/ensino - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA.

Finalidade	PESQUISA CIENTÍFICA
Vigência do projeto	20/07/2017 a 31/10/2017
Nome Comum / Espécie / Linhagem	OVINA / OVIS ARIES / Corte
Raça	Corriedale
Nº de animais machos	0
Nº de animais fêmeas	70
Nº de animais sexo indefinido	0
Peso médio de animais machos	0
Peso médio de animais fêmeas	27,14Kg
Peso médio de animais sexo indefinido	0
Idade	0 ano(s) e 8 mes(es) e 0 dia(s).
Procedência	Fazenda Lageado

Projeto de Pesquisa aprovado em reunião da CEUA em 13/07/2017

JOSÉ NICOLAU PRÓSPERO PUOLI FILHO
Presidente da CEUA da FMVZ, UNESP - Campus de Botucatu

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Seção Técnica Acadêmica
Rua Prof. Dr. Walter Maurício Corrêa, s/n
UNESP - Campus de Botucatu/SP - Cep 18618-681
(14) 3880-2176 - patrizia@fmvz.unesp.br - www.fmvz.unesp.br